



FEIRA DE INOVAÇÃO TECNOLÓGICA VI FINOVA

paz no plural



Evento	Salão UFRGS 2016: FEIRA DE INOVAÇÃO TECNOLÓGICA DA UFRGS - FINOVA
Ano	2016
Local	Campus do Vale - UFRGS
Título	Produção de Isomalto-oligossacarídeos por Dextranucrase Imobilizada em Esferas de Quitosana
Autores	MARINA CARDOSO BONIN NATALIA GUILHERME GRAEBIN
Orientador	RAFAEL COSTA RODRIGUES

A dextranucrase é uma enzima que atua em reações de transglicosilação, e que em condições adequadas, produz oligossacarídeos. Esses são ingredientes considerados prebióticos, não digeríveis no estômago e que, quando digeridos no intestino, estimulam seletivamente bactérias da microbiota intestinal, beneficiando o organismo hospedeiro. A fim de viabilizar a utilização em escala industrial da dextranucrase, a imobilização da enzima em suportes sólidos apresenta-se como uma técnica vantajosa para que o biocatalisador tenha maior estabilidade e, ainda, para que possa ser facilmente recuperado do meio reacional. A quitosana é o principal derivado da quitina, a qual é subproduto da indústria de alimentos, capaz de ser ativada com glutaraldeído, tornando-se um possível suporte sólido para imobilização de enzimas. Deste modo, o presente trabalho teve como principal objetivo a imobilização da dextranucrase em esferas de quitosana ativadas com glutaraldeído e aplicação para síntese de oligossacarídeos. Como objetivos específicos, as estabilidades térmica e operacional da enzima imobilizada foram avaliadas. A enzima dextranucrase foi produzida pelo microrganismo *Leuconostoc mesenteroides* B-512F em biorreator, visando maior produção. Para a produção do suporte, a quitosana foi dissolvida em solução ácida, e, após, essa solução foi gotejada em uma solução básica de coagulação, obtendo assim as esferas de quitosana. Para ativação, as esferas foram suspensas em glutaraldeído 5 % (v/v) por 3 h sob agitação suave. Após, as esferas já ativas foram lavadas com água destilada e armazenadas a 4 °C. Previamente à imobilização, a camada de dextrana, que dificulta o acesso aos grupos reativos da enzima pelos grupos reativos do suporte, foi removida por meio de hidrólise pela dextranase fúngica – Dextranase Plus L, sob agitação suave a 4 °C por 8 h. A imobilização foi realizada pela incubação das esferas de quitosana com a solução enzimática diluída em tampão acetato de sódio 50 mM, pH 5,2 (400 mg proteína/g suporte) sob agitação suave a 4 °C por 16 h. A estabilidade térmica foi testada a 40 °C e 50 °C pela incubação da enzima imobilizada somente em tampão acetato de sódio 50 mM, pH 5,2, e em tampão contendo 100 mM de glicose ou 100 mM de maltose. A atividade enzimática foi medida a partir da hidrólise da sacarose em açúcares redutores, posteriormente quantificados pelo método com ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS). Já para o teste de estabilidade operacional, reusos foram realizados com uma solução (100 mM de sacarose e 600 mM maltose, dissolvidos em tampão acetato de sódio 20 mM, pH 5,2) a 30 °C por 3 h. Após cada ciclo, a enzima imobilizada foi filtrada e lavada, e reutilizada em nova reação. Os produtos foram quantificados por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). Ao avaliar os resultados, verifica-se que a imobilização aumentou em até 18 e 10 vezes a estabilidade térmica do biocatalisador a 40 °C e 50 °C, respectivamente. Em relação à estabilidade térmica para ambas temperaturas, é possível observar que o tempo de meia-vida, quando utilizado glicose ou maltose, aumenta consideravelmente, o que é explicado pela possível manutenção conformacional da enzima por esses açúcares, o que confere proteção à temperaturas mais elevadas. Já quanto aos resultados da estabilidade operacional, verifica-se que a dextranucrase imobilizada manteve, aproximadamente, 40 % ao final do 10º ciclo. A imobilização da dextranucrase em esferas de quitosana ativadas com glutaraldeído foi obtida com êxito. Além disso, o biocatalisador imobilizado mostrou-se estável termicamente e operacionalmente, sendo uma opção para a produção de isomaltoligossacarídeos. Em relação à minha participação no presente trabalho, essa foi ativa nas etapas de produção da dextranucrase, produção e ativação das esferas de quitosana, imobilização da enzima, bem como na realização dos experimentos para avaliação das estabilidades térmica e operacional da dextranucrase imobilizada.