

126

**AVALIAÇÃO DA ESPECIFICIDADE DE UMA QUERATINASE PRODUZIDA POR CHRYSEOBACTERIUM SP. KR6 E A INFLUÊNCIA DE DIFERENTES FATORES EM SUA ATIVIDADE ENZIMÁTICA.** *Manuela Kraemer Jaeger, Silvana Silveira, Adriano Brandelli (orient.)*

(UFRGS).

Queratinases são enzimas proteolíticas capazes de hidrolisar a queratina. Este potencial a torna uma ferramenta no tratamento de efluentes de indústrias. Inicialmente o trabalho teve como objetivo estabelecer as condições ótimas para a atividade de uma queratinase extracelular de *Chryseobacterium* sp. linhagem kr6. Posteriormente, avaliar a especificidade da mesma, através da hidrólise de diferentes substratos queratinosos. A enzima foi obtida em cultivo submerso com caldo farinha de penas 1%, a 30°C, sob agitação por 48 h. A partir do sobrenadante, obtido após centrifugação, a queratinase foi precipitada a 50 % de saturação com sulfato de amônio. O pellet formado foi dissolvido em tampão Tris-HCl pH 8, 0 e aplicado em uma coluna de permeação em gel contendo a resina Sephadex G-100. As frações coletadas foram monitoradas por leitura a 280 nm, determinação da atividade enzimática tendo azocaseína (10g/L) como substrato, e proteína solúvel pelo método de Lowry. Os picos que apresentaram maior atividade proteolítica foram utilizados para os ensaios hidrolíticos dos diferentes substratos. A atividade ótima da enzima foi avaliada utilizando planejamento experimental e superfície de resposta, tendo como variáveis: pH, temperatura e força iônica. Os ensaios para avaliar a especificidade da queratinase frente a substratos queratinosos foram realizados utilizando 3 mL da enzima purificada e 3 mL de tampão com 2% de cada substrato avaliado (farelo de unha, pêlos e penas), sob agitação a 45°C. Amostras foram coletadas em determinados intervalos de tempos ( 0, 1, 2, 4 e 6 h) para a determinação dos aminoácidos liberados no meio. Os resultados mostraram que a queratinase apresenta sua máxima atividade na faixa de pH de 7, 4 a 9, 2, 35 a 50°C e concentração de NaCl de 50 a 340 mM. Também ficou demonstrado uma maior taxa de hidrólise para unhas de frango, um substrato que dificilmente é degradado por outras enzimas proteolíticas.