

Imobilização de β -frutofuranosídeo frutohidrolase para a produção de frutooligossacarídeos



Luiza F. Aydos¹, Plinho F. Hertz²

¹ Luiza F. Aydos, Biotecnologia, UFRGS

² Plinho F. Hertz, Grupo de Biotecnologia, Bioprocessos e Biocatálise, ICTA, UFRGS

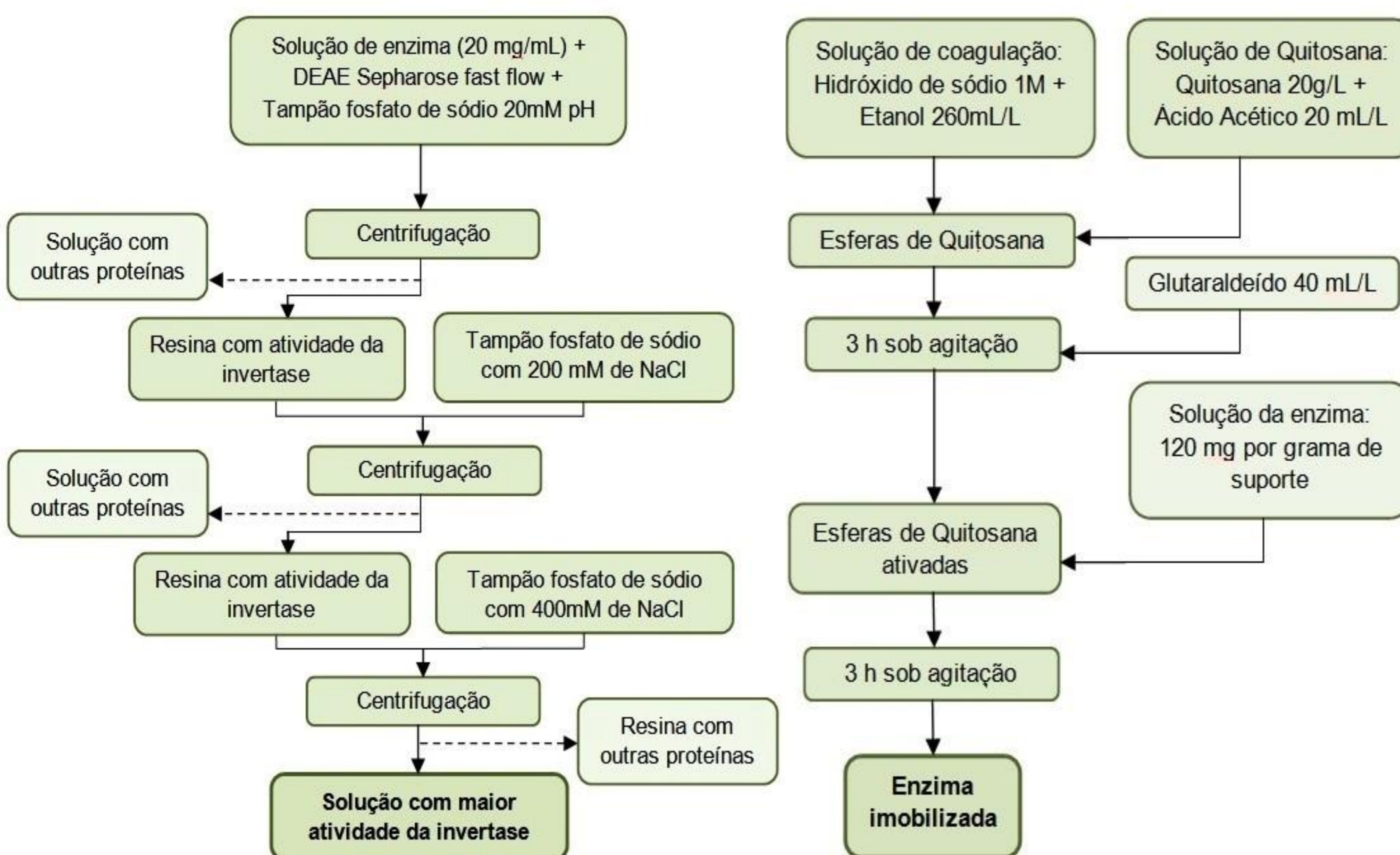


1. INTRODUÇÃO

Frutooligossacarídeos (FOS) são ingredientes prebióticos obtidos por síntese enzimática, utilizando-se β -frutofuranosídeo frutohidrolase (invertase). Contudo, para processos em escala industrial, enzimas são caras e a recuperação destas a partir de uma mistura de substrato e produto para a reutilização é inviável. A imobilização de enzimas permite a reutilização e outras vantagens como melhor estabilidade e possibilidade de operação contínua, reduzindo custos gerais. Quitosana tem sido usada como suporte para imobilização de enzimas desde a década de 70 (1). Estudos recentes desenvolveram protocolos de imobilização de enzimas em quitosana, resultando em biocatalisadores estáveis (2, 3). No presente estudo, a atividade específica de invertase de um preparado comercial de *Aspergillus aculeatus* (Viscozyme L) foi parcialmente purificada e imobilizada em partículas de quitosana, resultando em um biocatalisador com alta estabilidade operacional para a produção de FOS.

2. METODOLOGIA

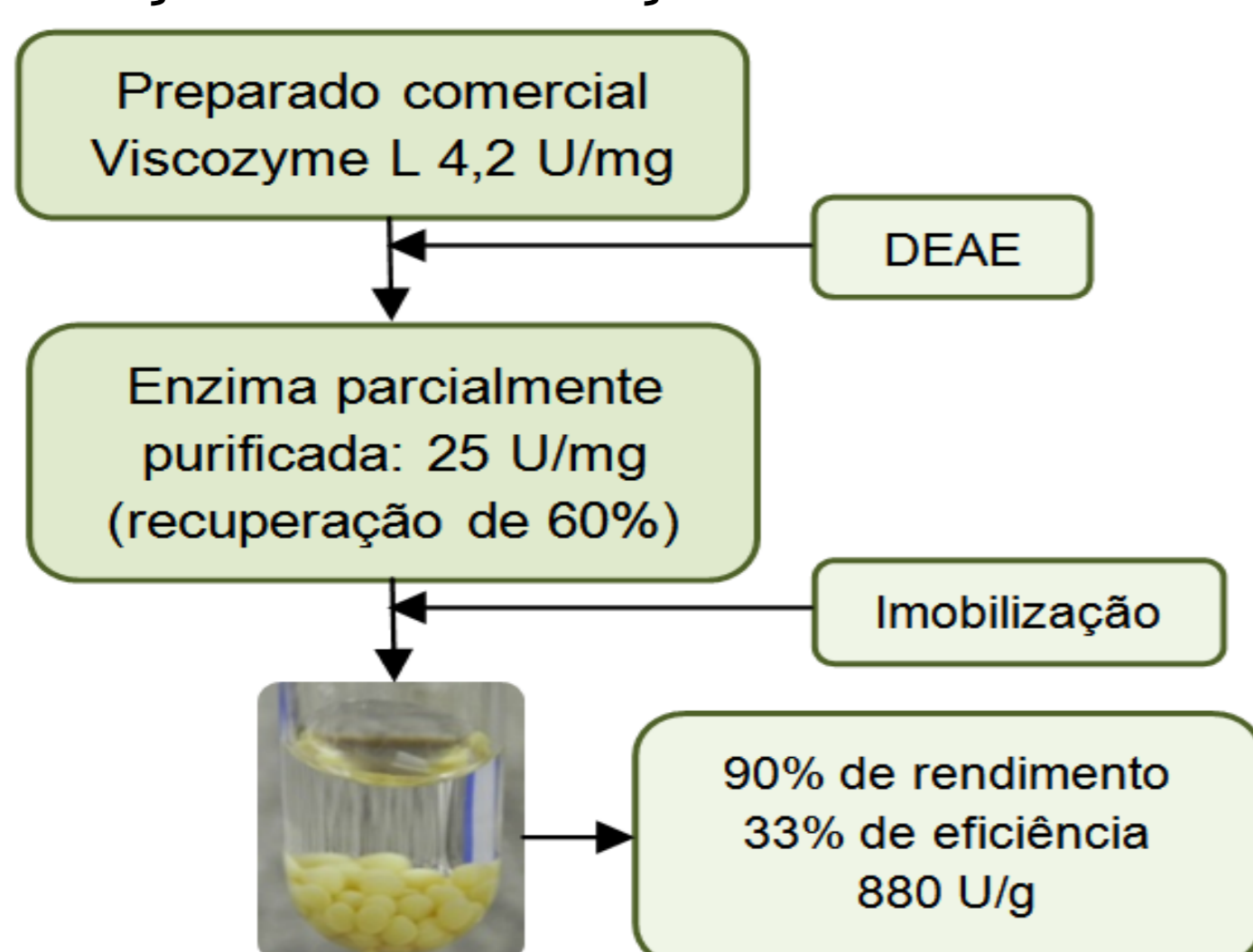
2.1 Purificação parcial da enzima 2.2 Preparação das partículas de Quitosana 2.3 Produção de Frutooligossacarídeos



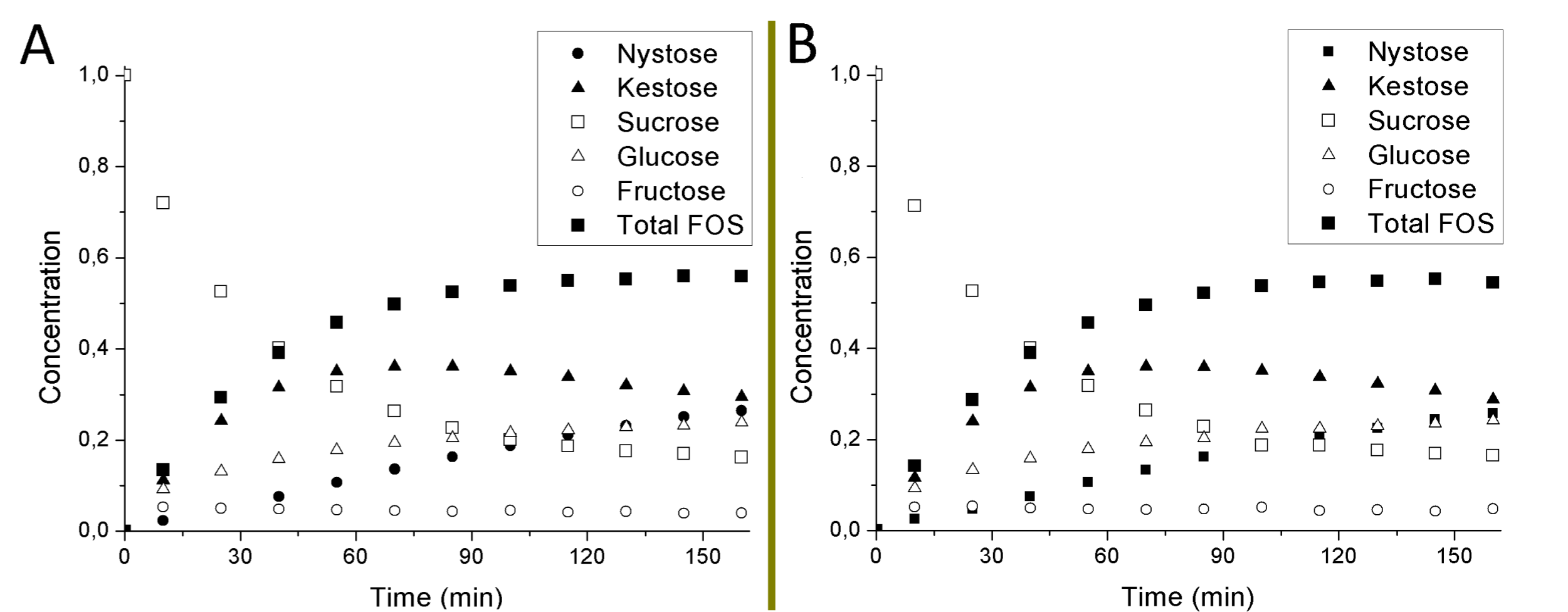
A produção de FOS foi realizada a 50 °C a partir de solução de sacarose 600 g/L diluída em tampão acetato de sódio 50 mM e pH 5,50; 2 mL de solução foram aplicados a 50 partículas de quitosana (22 U) e diversas amostras foram retiradas em intervalos de 15 minutos. O tempo foi, então, fixado para 100 minutos e as mesmas partículas foram usadas 52 vezes para a síntese de FOS. Entre cada síntese, as partículas foram lavadas com tampão acetato de sódio 50 mM e pH 5,50. Na 52ª utilização, as amostras também foram retiradas em intervalos de 15 minutos. As amostras da primeira e última utilização foram analisadas por HPLC a fim de se determinar a concentração de cada açúcar (sacarose, glicose, frutose, cetoose e nistose).

3. RESULTADOS

3.1 Purificação e imobilização



3.2 Produção de Frutooligossacarídeos



Composição de açúcares durante a reação de síntese enzimática de FOS: (a) 1ª utilização (b) 52ª utilização

4. CONCLUSÃO

A β -frutofuranosídeo frutohidrolase foi purificada a partir de um preparado enzimático comercial e imobilizada de forma covalente em quitosana. O derivado imobilizado obtido possui alta eficiência e estabilidade operacional visto que após 52 utilizações não houve perdas significantes de atividade, além de apresentar a mais alta atividade (880 U/g de suporte) até hoje relatada para a produção de FOS.

5. REFERÊNCIAS

- 1) T. Kasumi et al.; **Preparation and Some Properties of Chitosan Bound Enzymes**. Agricultural and Biological Chemistry, 41 (1977) 1865-1872.
- 2) M. P. Klein et al.; **Effect of the Support Size on the Properties of β -Galactosidase Immobilized on Chitosan: Advantages and Disadvantages of Macro and Nanoparticles**. Biomacromolecules, 13 (2012) 2456-2464.
- 3) S. G. Valerio et al.; **High operational stability of invertase from *Saccharomyces cerevisiae* immobilized on chitosan nanoparticles**. Carbohydrate Polymers, 92 (2013) 462-468.