

Imobilização de Ciclodextrina Glicosiltransferase em Nanopartículas de Quitosana



ICTA

FELTRACO, Jackson¹; HERTZ, Plinho Francisco^{1,2}.

1. Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos, UFRGS; 2. Departamento de Enzimologia, UFRGS. jackfeltraco@hotmail.com

INTRODUÇÃO

A enzima ciclodextrina glicosiltransferase (CGTase) (Fig. 2) possui capacidade única de catalisar a reação de transglicosilação intramolecular a partir de amido, formando uma mistura de α -, β - e γ -ciclodextrinas, compostas por 6, 7 e 8 resíduos de glicose, respectivamente. Por apresentarem cavidade interna hidrofóbica e exterior hidrofílico, estas ciclodextrinas (Fig. 3) formam complexos de inclusão, encapsulando uma variedade de substâncias e alterando suas propriedades físico-químicas. Desta forma, podem ser utilizadas como estabilizantes, emulsificantes e antioxidantes em diversas áreas da indústria. As vantagens em se utilizar enzimas imobilizadas surgem da estabilização conferida pelo processo, que possibilita sua reutilização e leva à redução de custos de produção. O processo de imobilização implica na interação entre enzima e suporte, fornecendo diferentes propriedades cinéticas, mecânicas e bioquímicas.

OBJETIVO

O trabalho desenvolvido teve como objetivo estudar a imobilização da CGTase em nanopartículas de quitosana, um polímero que pode ser obtido a partir do resíduo da indústria de processamento de pescados, visando possibilitar o reuso do derivado imobilizado e a redução no custo de produção das ciclodextrinas, viabilizando seu uso na indústria de alimentos.

METODOLOGIA

- Para a realização deste trabalho utilizou-se a enzima ciclodextrina glicosiltransferase de *Thermoanaerobacter* sp. (Toruzyme® 3.0 L).
- As nanopartículas de quitosana foram preparadas pelo método de gelificação ionotrópica, com sulfato de sódio como agente gelificante.
- Glutaraldeído (5 % v/v) foi utilizado para ativação do suporte.
- A atividade enzimática foi determinada pela quantificação de β -ciclodextrina produzida, através do método colorimétrico com fenolftaleína, que é encapsulada pela CD com perda proporcional da cor. (Fig. 1)
- A quantificação de proteína presente nas amostras foi realizada pelo método de Lowry.
- Quatro soluções de diferentes concentrações foram testadas com o objetivo de determinar a melhor carga para imobilização neste suporte.
- O derivado imobilizado foi caracterizado quanto aos valores ótimos de temperatura e pH de reação.

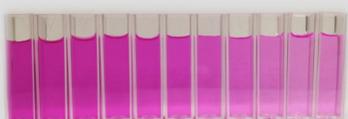


Fig 1. Perda gradativa da cor da fenolftaleína pelo encapsulamento por β -ciclodextrina.

REFERÊNCIAS

- ASTRAY, G. et al. A review on the use of cyclodextrins in foods. *Food Hydrocolloids*, v. 23, n. 7, p. 1631-1640, Oct 2009.
- BERTHOLD, A.; CREMER, K.; KREUTER, J. Preparation and characterization of chitosan microspheres as drug carrier for prednisolone sodium phosphate as model for antiinflammatory drugs. *Journal of Controlled Release*, v. 39, n. 1, p. 17-25, Mar 1996. ISSN 0168-3659.
- HANEFELD, U.; GARDOSI, L.; MAGNER, E. Understanding enzyme immobilisation. *Chemical Society Reviews*, v. 38, n. 2, p. 453-468, 2009. ISSN 0306-0012.
- KANEKO, T. et al. Spectrophotometric Determination of Cyclization Activity of β -Cyclodextrin-Forming Cyclomalto-dextrin Glucanotransferase. *J. Jpn. Soc. Starch Sci.*, v. 34, n. 1, p. 45-48, 1987.

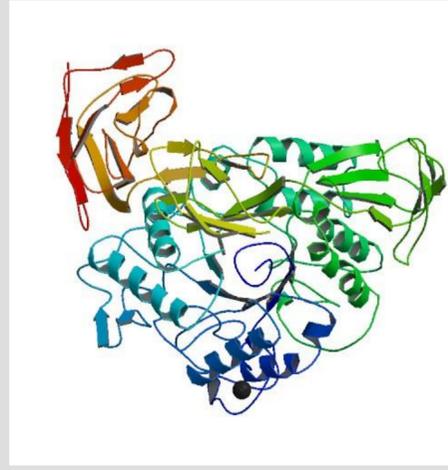


Fig 2. Ciclodextrina glicosiltransferase (CGTase)

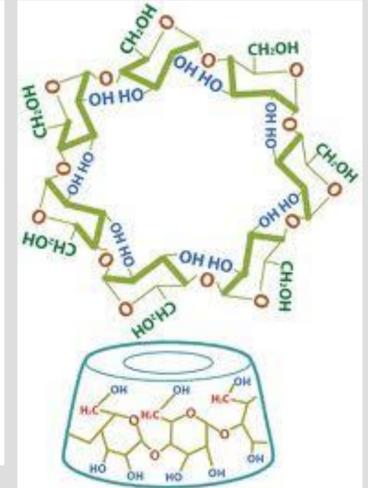


Fig 3. β -ciclodextrina

RESULTADOS E CONCLUSÃO

Durante os testes de capacidade de carga do suporte, os melhores valores de rendimento e eficiência de imobilização (Tabela 1), foram observados em 135 mg/g de suporte seco, ou seja, na maior quantidade de proteína imobilizada.

Tabela 1. Teste de capacidade de carga do suporte.

mg/g suporte	Rendimento (%)	Eficiência (%)
44	69,30	0,50
88	73,91	0,74
131	77,26	0,95
135	77,34	1,16

Por se tratar de uma enzima termoestável, maior atividade enzimática foi observada aos 85 °C (Fig. 4). Vários pH foram utilizados para comparação de atividade, observou-se que o pH ótimo para atividade desta enzima foi pH 6,0 devido a não alteração conformacional que os outros tampões causaram sobre a enzima. (Fig. 5)

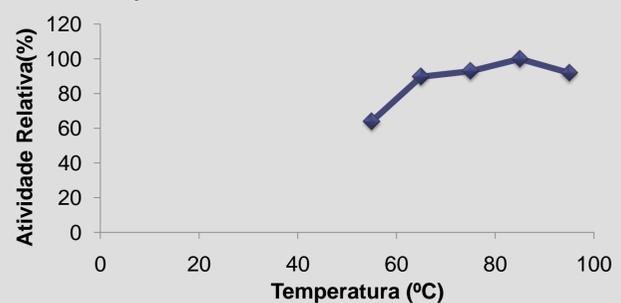


Fig 4. Efeito da temperatura sobre a atividade da CGTase

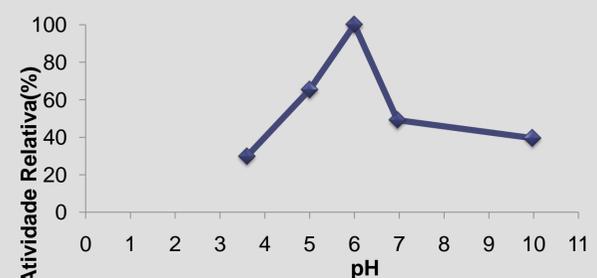


Fig 5. Efeito do pH sobre a atividade da CGTase

A estabilidade operacional da enzima imobilizada foi avaliada através da realização de sucessivas bateladas. A temperatura escolhida foi a de 60 °C.

Na avaliação da atividade operacional da enzima imobilizada, realizada através de sucessivas bateladas com os derivados, a atividade permaneceu alta após quatro ciclos de uso, mantendo-se em aproximadamente 99 % da atividade inicial.

APOIO:

pro-pesq
Pró-Reitoria de Pesquisa - UFRGS

CNPq
Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico