

Imobilização da inulinase de *Kluyveromyces marxianus* NRRL Y-7571 em alginato de sódio e carvão ativado

Aline Richetti¹ (PG), Cristiane B. Munaretto¹ (PG), Lindomar A. Lerin¹ (PG), José V. Oliveira¹ (PQ), Débora de Oliveira^{1*} (PQ), Helen Treichel¹ (PQ), Rogério M. Dallago¹ (PQ), Marco Di Luccio¹ (PQ), Marcio A. Mazutti¹ (PQ).

¹ Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões – URI Campus de Erechim. Av. Sete de Setembro, 1621, 99700-000, Erechim, RS, Brasil. *e-mail: odebora@uricer.edu.br

Palavras Chave: Imobilização, inulinase, *Kluyveromyces marxianus*, carvão ativado.

Introdução

Inulinasas são frutofuranosil hidrolases e são obtidas de leveduras, fungos, bactérias e plantas¹. Possuem a capacidade de hidrolisar a inulina, um polímero de frutose, liberando moléculas de frutose e FOS, os quais são ingredientes funcionais e podem substituir o açúcar e gordura nos alimentos^{2,3}. Em função da alta demanda de frutose e FOS a utilização da inulinase apresenta-se como uma alternativa para sua obtenção⁴. Porém, a inulinase na forma livre apresenta algumas desvantagens e sua imobilização apresenta-se como uma alternativa para superar as deficiências do processo. O objetivo geral deste trabalho consiste em investigar a imobilização de inulinase de *Kluyveromyces marxianus* NRRL Y-7571.

Resultados e Discussão

O procedimento para imobilização do extrato enzimático de *Kluyveromyces marxianus* NRRL Y-7571 foi realizado conforme metodologia de Risso (2004). Na determinação das condições para otimização da imobilização do extrato enzimático foi realizado um planejamento fatorial completo 2³ com triplicata do ponto central, e mais uma triplicata do ponto central sem a adição de sacarose. No processo de imobilização a quantidade de água foi fixada em 10 mL para 3 mL de solução enzimática e sacarose a 50% em relação ao total de água e solução enzimática, para todos os experimentos. A atividade enzimática foi medida pelo método DNS, e o teor de proteína pelo método de Bradford, resultando na atividade específica (U/mg proteína). Verifica-se através da Tabela 1 que o maior valor de atividade específica foi obtido nos menores níveis de concentração de alginato de sódio, glutaraldeído e carvão ativado, correspondente ao ensaio 1 do planejamento de experimentos, conduzindo a valores de atividade específica de 2063,52 U/mg proteína. Pode-se verificar também que menores atividades específicas foram observadas nos ensaios 12, 13 e 14, realizados sem a adição de sacarose, assim como nos ensaios 2, 4, 6 e 8, com maiores concentrações do suporte alginato de sódio.

34^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química

Tabela 1. Matriz do planejamento experimental 2³ com as respostas em termos de atividade de inulinase, teor de proteína e atividade específica.

Ensaio	Alginato de sódio (%m/v)	Glutaraldeído (%v/v)	Carvão ativado (%m/v)	Atividade de inulinase (U/mL)	Teor de proteína (mg/mL)	Atividade específica (U/mg proteína)
1	-1 (2)	-1 (5)	-1 (3)	145,61	0,0706	2063,52
2	+1 (8)	-1 (5)	-1 (3)	36,64	0,0657	557,96
3	-1 (2)	+1 (15)	-1 (3)	150,99	0,0825	1829,61
4	+1 (8)	+1 (15)	-1 (3)	49,33	0,0620	796,08
5	-1 (2)	-1 (5)	+1 (7)	123,36	0,0872	1414,44
6	+1 (8)	-1 (5)	+1 (7)	65,30	0,0870	750,85
7	-1 (2)	+1 (15)	+1 (7)	142,12	0,0866	1640,54
8	+1 (8)	+1 (15)	+1 (7)	66,76	0,0827	807,43
9	0 (5)	0 (10)	0 (5)	109,09	0,0760	1436,02
10	0 (5)	0 (10)	0 (5)	101,05	0,0813	1242,26
11	0 (5)	0 (10)	0 (5)	131,31	0,0791	1660,93
12	0 (5)	0 (10)	0 (5)	28,93	0,0835	346,57
13	0 (5)	0 (10)	0 (5)	24,86	0,0884	281,36
14	0 (5)	0 (10)	0 (5)	27,10	0,0881	307,48
Extrato bruto				34,50	0,4361	79,10

Conclusões

O presente trabalho permitiu avaliar a influência da concentração de alginato de sódio, glutaraldeído e carvão ativado no processo de imobilização da inulinase de *Kluyveromyces marxianus* NRRL Y-7571. A condição otimizada para imobilização da inulinase com atividade específica de 2063,52 U/mg proteína foi obtida no ensaio 1 do planejamento, na concentração de alginato de sódio de 2% (m/m), 5% (v/v) de glutaraldeído e 3% (m/m) de carvão ativado.

Agradecimentos

URI-Campus de Erechim pela infra-estrutura e CNPq, Capes e Fapergs pelo apoio financeiro e concessão de bolsas.

¹ Manzoni, M.; Cavazzoni, V. J. *Chem. Tech. Biotechnology*, **1992**, 54, p. 311-315.

² Ettalibi, M.; Baratti, J. C. *Enzyme and Microbial Technology*, **2001**, 28, p. 596-601.

³ Barranco-Florido, E.; Garcia-Garibay, M.; Gomez-Ruiz, L.; Azaola, A. *Proc. Biochemistry*, **2001**, p. 513-519.

⁴ Contiero, J. Inulinases. In: Said, S.; Pietro, R.C.L.R. In: *Legis Summa*, **2004**, p. 381-398.0