

Avaliação da atividade enzimática de inulinase de *Kluyveromyces marxianus* NRRL Y-7571 em fluido pressurizado

Marceli Fernandes Silva^{1(PG)}, Simone Maria Golunski^{1(PG)}, Vinícius Mossi^{1(IC)}, Diane Rigo^{1(IC)}, Patrícia Brugnerotto^{1*(IC)}, Débora de Oliveira^{1(PQ)}, José Vladimir de Oliveira^{1(PQ)}, Marco Di Luccio^{1(PQ)}, Márcio A. Mazutti^{1(PQ)}, Helen Treichel^{1(PQ)}.
*patricia.004@hotmail.com

¹ Dep. de Biotecnologia de Alimentos – Lab. de Termodinâmica, URI – Campus de Erechim, Av. Sete de Setembro, 1621, 99700-000, Erechim, RS, Brasil.

Palavras Chave: Inulinase, fluido pressurizado, *Kluyveromyces marxianus*, imobilização

Introdução

O uso de fluidos pressurizados em processos bioquímicos teve um aumento nos últimos anos, devido às vantagens como meio reacional: seletividade de reação, conversões elevadas, facilidade de separação de produtos.

Inulinases são 2,1-β-D frutano furohidrolases (EC 3.2.1.7) que convertem inulina em frutose. Esta enzima pode ser aplicada na produção de xaropes com alta concentração de frutose.

Poucos estudos abordam os efeitos na atividade enzimática da inulinase após submetida a alta pressão. O objetivo deste trabalho foi investigar a influência de fluidos pressurizados na atividade enzimática de *Kluyveromyces marxianus* NRRL Y-7571 em CO₂ pressurizado.

Resultados e Discussão



Figura 1. Fluxograma da metodologia utilizada.

Tabela 1. Matriz do planejamento experimental 2³ com a resposta em termos de atividade residual da inulinase de *Kluyveromyces marxianus* NRRL Y-7571 em CO₂ pressurizado.

Experimentos	Pressão (bar)	Tempo (h)	R (bar/min)	Ativ. Total (U/g)	Ativ. Esp. (U/mg)
Ativ. Inicial	-	-	-	103,39	754,32
1	30 (-1)	1 (-1)	20 (-1)	81,60	474,9
2	30 (-1)	1 (-1)	100 (1)	48,14	354,7
3	30 (-1)	6 (1)	20 (-1)	80,97	1993,7
4	30 (-1)	6 (1)	100 (1)	62,65	1470,4
5	270 (1)	1 (-1)	20 (-1)	56,17	1088,0
6	270 (1)	1 (-1)	100 (1)	46,66	347,5
7	270 (1)	6 (1)	20 (-1)	108,09	736,6
8	270 (1)	6 (1)	100 (1)	59,31	407,1
9	150 (0)	3,5 (0)	60 (0)	62,08	674,1
10	150 (0)	3,5 (0)	60 (0)	64,79	825,7
11	150 (0)	3,5 (0)	60 (0)	64,73	726,9

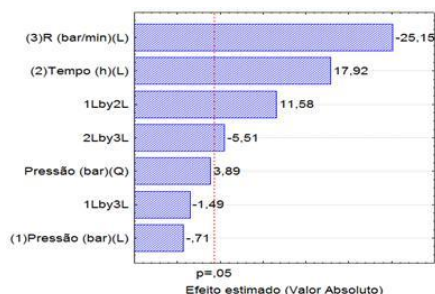


Figura 2. Gráfico de Pareto com o efeito das variáveis na atividade específica da inulinase após tratamento em CO₂ pressurizado.

A Tabela 1 mostra que o maior aumento de atividade específica ocorreu no ensaio 3 onde utilizou-se a menor pressão (270 bar) e taxa de depressurização (20 bar/min).

Segundo Celebi et.al. (2007), ao realizar o tratamento da enzima com CO₂, pode ocorrer uma interação do gás com o centro ativo da enzima promovendo uma alteração em sua conformação.

Essa interação pode formar compostos carbamatos do CO₂ e grupos de aminas livres na superfície da enzima, esses compostos propiciam a desnaturação das proteínas que não participam da reação e podem favorecer a enantioseletividade da enzima.

Portanto, mesmo que a atividade total da enzima diminua a sua atuação nas reações pode se tornar mais específica.

Conclusões

O emprego do CO₂ como tratamento de enzimas promove um aumento na especificidade da reação enzimática. A condição onde ocorreu maior aumento da atividade específica (1993 U/mg) para a enzima não comercial de *Kluyveromyces marxianus* NRRL Y-7571 foi a correspondente à pressão de 30 bar e taxa de depressurização de 20 bar/min

Agradecimentos

À URI-Campus de Erechim pela infra-estrutura e ao CNPq, CAPES e FAPERGS pelo apoio financeiro e concessão de bolsas.

¹ Giebauf, A.; Gamse, T. J. Mol. Catal. B: Enzymatic. **2000**, 9,57.

³ Mazutti, M.A.; Ceni, G.; Di Luccio, M.; Treichel, H. Bioprocess and Biosystems Engineering, **2007**, 30,297.

³ Celebi, N.; Yildiz, N.; Demir, A. S.; Calimli, A. J. of Supercritical Fluids, **2007**, 41,336.