VII EAITI 2017 ENCONTRO ANUAL DE INICIAÇÃO TECNOLÓGICA E INOVAÇÃO
UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA | 09 e 10 de novembro de 2017

PURIFICAÇÃO DA ENZIMA CICLODEXTRINA GLICOSILTRANSFERASE DE *BACILLUS FIRMUS* CEPA 37 POR ADSORÇÃO EM AMIDO

Virgínia Maria Feitosa Santos (PIBITI/CNPq-FA-UEM), Graciette Matioli, gracietteuem@gmail.com.

Universidade Estadual de Maringá, Departamento de Farmácia.

Área: 4.03.00.00-5 Farmácia **Subárea: 4.03.01.00-1 Farmacotecnia**

Palavras Chave: *Ciclodextrina glicosiltransferase, purificação, amido de milho, Bacillus firmus.*

Resumo

A enzima ciclodextrina glicosiltransferase (CGTase) é capaz de produzir oligossacarídeos cíclicos chamados de ciclodextrinas (CDs). Este trabalho visou melhorar o processo tecnológico de purificação da CGTase produzida pelo *Bacillus firmus* cepa 37, utilizando amido de milho como adsorvente. Dois métodos de recuperação da CGTase foram testados: com água e com solução de β-CD. Os valores de atividade enzimática encontrados foram de 3,54 e 4,46 µmol β-CD/minxmL, para as recuperações com água e com solução de β-CD, respectivamente. Conclui-se que o processo de purificação da CGTase avaliado nesta pesquisa mostrou-se eficiente, de baixo custo e favorece a produção das CDs.

Introdução

A CGTase, por meio de reação de transglicosilação intramolecular (ciclização), é capaz de produzir as CDs que encapsulam grande faixa de moléculas orgânicas e inorgânicas. Contudo, a utilização das CDs é limitada, já que sua produção tem alto custo. O amido tem sido utilizado como substrato para produção de CDs por ser uma matéria-prima barata e com alta disponibilidade. O amido também pode, de forma inovadora, ser utilizado na purificação da CGTase, por meio da adsorção da enzima e posterior recuperação[1, 2]. O presente trabalho teve por objetivo utilizar o amido de milho, comumente utilizado como substrato da enzima, para o processo de purificação da CGTase do *B. firmus* cepa 37.

Material e Métodos

A produção e obtenção do extrato bruto da CGTase, a partir do *B. firmus* cepa 37, foram realizadas de acordo com Fenelon e col. (2015). Para a purificação, ao extrato bruto foram adicionados 11% de amido e 1,6% de $(NH_4)_2SO_4$, mantendo sob agitação a 0 °C durante 40 min. O amido com a enzima adsorvida foi centrifugado durante 10 min a 3000 g e lavado duas vezes com solução 1,6% (p/V) de $(NH_4)_2SO_4$ a 0 °C. A recuperação da CGTase foi testada com 10 mL de água ou com 10 mL de solução de β-CD 10 mM, para cada 100 mL de extrato bruto inicial, e agitou-se por 1 h a 40°C [2, 3]. A produção de CDs pelas CGTases recuperadas foi realizada em batelada de 12 h, com substrato amido de milho 5% (p/V) na presença de etanol 10% (p/V), conforme Fenelon e col. (2015). Determinou-se a β-CD por espectrofotometria[1].

Resultados Obtidos

A atividade enzimática foi de 3,54 µmol de β-CD/minxmL, para a CGTase recuperada utilizando água, e de 4,46 µmol de β-CD/minxmL para a CGTase recuperada com solução de β-CD. O teor de proteína de cada uma das amostras, pelo método de Bradford, foi de 0,065 mg/mL e 0,075 mg/mL, respectivamente. Assim, a atividade enzimática específica correspondeu a 54,5 U/mg e 59,5 U/ml, respectivamente. A produção de β-CD em reator, utilizando a CGTase recuperada com água, resultou no rendimento de 13,13 mmol/L, enquanto que para CGTase recuperada com solução de β-CD o rendimento foi de 17,18 mmol/L, conforme demonstrado na Figura 1.

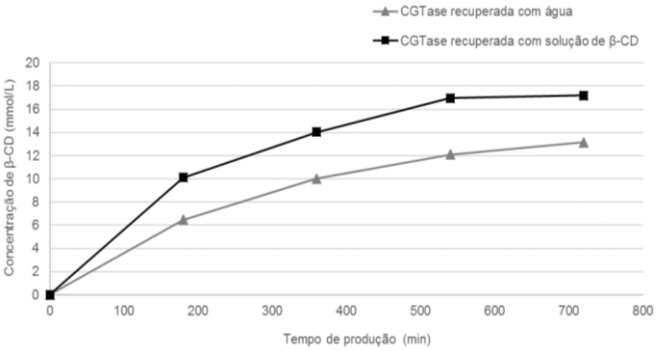


Figura 1. Produção de β-CD ao longo de 12 horas pela CGTase recuperada com água e pela CGTase recuperada com solução de β-CD.

Conclusão

A purificação da CGTase utilizando amido de milho como adsorvente apresentou rendimentos satisfatórios e foi considerado viável, já que é fácil, rápido e de baixo custo. A recuperação da CGTase utilizando solução de β-CD mostrou-se mais eficaz que a recuperação com água. Os resultados alcançados nesta pesquisa podem contribuir para a obtenção de CDs a custo reduzido.

Agradecimentos

À Prof.ª Graciette Matioli pela orientação. Aos órgãos de fomento CNPq, CAPES, Finep e Fundação Araucária.

[1] Fenelon, V. C.; Aguiar, M. F. A.; Miyoshi, J. H.; Martinez, C. O.; Matioli, G. Bioprocess Biosyst. Eng. **2015**, 38, 1291-1301.
[2] Rosso, A.; Ferrarotti, S.; Miranda, M.V.; Krymkiewicz, N.; Nudel, B.C.; Cascone, O. Biotechnol. Lett. **2005**, 27,1171-1175.
[3] Szerman, N.; Schroh, I.; Rossi, A. L.; Rosso, A. M.; Krymkiewicz, N.; Ferrarotti, S. A. Bioresour. Technol. **2007**, 98, 2886-2891.