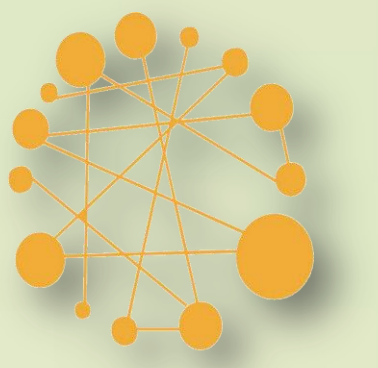


Imobilização de Ciclodextrina Glicosiltransferase em Sílica Porosa



ICTA

KOLOGESKI, Samuel; HERTZ, Plinho Francisco.

1. Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos; Laboratório de Enzimologia, UFRGS.

INTRODUÇÃO

A enzima ciclodextrina glicosiltransferase (CGTase, EC 2.4.1.19) tem atraído grande interesse da indústria, visto que o principal produto de sua reação, as ciclodextrinas (CDs), apresentam a capacidade de formar complexos de inclusão com uma variedade de compostos alterando suas características como, por exemplo, solubilidade, volatilidade e estabilidade. Na indústria de alimentos, se destacam por serem potenciais estabilizantes naturais. A imobilização de enzimas busca aliar as vantagens da utilização destes biocatalisadores com a possibilidade de torná-los mais estáveis e permitir sua reutilização, adequando a enzima para uso em processos industriais de produção.

OBJETIVO

Desenvolver estratégias para a imobilização da enzima CGTase através da utilização conjunta de diferentes técnicas, entre elas, a modificação química e imobilização dirigida, proporcionando maior controle na construção do biocatalisador imobilizado.

METODOLOGIA

A sílica porosa, utilizada como suporte, foi obtida através do método sol-gel e funcionalizada com glutaraldeído, para ligação com a porção N-terminal da proteína, ou por silanização com 3-mercaptopropiltriétoxissilano (APTMS), que disponibiliza grupamentos SH para ligação.

Como fonte da enzima, utilizou-se a preparação comercial Toruzyme® de *Thermoanaerobacter* sp. Para imobilização via grupamento tiol, a enzima foi tratada com ditioneitol (DTT), ocorrendo redução das pontes dissulfeto entre cisteínas naturalmente presentes, liberando grupamentos SH em sua superfície.

A atividade enzimática foi determinada pela quantificação do produto da reação, através de método colorimétrico, em que se determina a perda proporcional de cor de uma solução de fenolftaleína como consequência de seu encapsulamento pela β -ciclodextrina (Figura 1). A quantificação de proteína presente nas amostras foi realizada pelo método de Lowry.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foi realizada uma comparação entre a abordagem mais frequentemente utilizada para imobilização covalente de enzimas, em que sua ligação ao suporte ocorre através da porção N-terminal da proteína e uma estratégia de imobilização direcionada, em que cisteínas naturalmente presentes na superfície da enzima, interagem com grupamentos específicos projetados no suporte.

De acordo com os resultados obtidos (Tabela 1), não houve diferença significativa na eficiência de imobilização entre as duas técnicas.

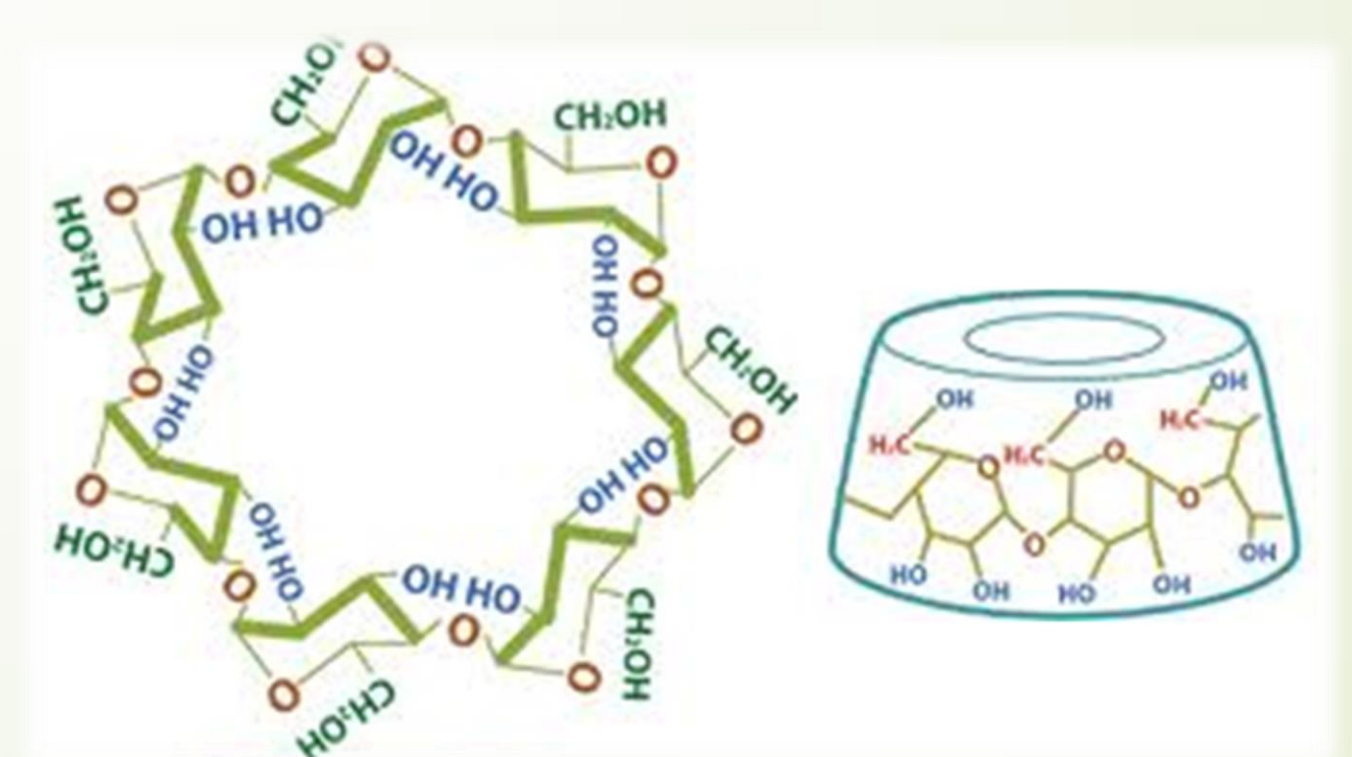


Figura 1. β -ciclodextrina

Tabela 1. Resultados de rendimento e eficiência de imobilização.

mg/gs	Sílica com glutaraldeído		Sílica com APTMS	
	Rendimento (%)	Eficiência (%)	Rendimento (%)	Eficiência (%)
5	84 ± 9	29 ± 6	99 ± 0,07	29 ± 1
25	100 ± 11	3 ± 0,2	99 ± 0,04	5 ± 2
50	48 ± 11	7 ± 2	91 ± 9	2 ± 1

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.
- HANEFELD, U.; GARDOSSI, 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 Cyclomaltodextrin Glucanotransferase. *J. Jpn. Soc. Starch Sci.*, v. 34, n. 1, p. 45-48, 1987.

