

008

PROPRIEDADES CINÉTICAS DA INATIVAÇÃO TÉRMICA DE UMA QUERATINASE PRODUZIDA POR CHRYSEOBACTERIUM SP. *Manuela Kraemer Jaeger, Silvana Terra Silveira, Adriano Brandelli (orient.) (UFRGS).*

Queratinases (E.C. 3.4.99.11) são proteases específicas capazes de degradar substratos queratinosos. Apresentam elevado potencial na aplicação nas indústrias de alimentos e têxteis, na medicina e em cosméticos. Este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito dos íons Ca^{+2} sobre a estabilidade térmica de uma queratinase, produzida por *Chryseobacterium* sp. linhagem kr6. A cultura foi incubada em meio contendo farinha de penas por 48h a 30°. A enzima presente no sobrenadante foi precipitada a 50 % de saturação com sulfato de amônio. O precipitado obtido foi dissolvido em tampão Tris-HCl pH 8, 0 e aplicado em uma coluna de permeação em gel contendo a resina Sephadex G-100. As frações coletadas foram monitoradas por leitura a 280 nm, determinação da atividade enzimática tendo azocaseína (10g/L) como substrato, e proteína solúvel pelo método de Lowry, tendo albumina de soro bovino como padrão. A medição da atividade residual como uma função do tempo e das constantes cinéticas foi utilizada no estudo dos efeitos da presença ou ausência de íons de Ca^{+2} na estabilidade térmica. A atividade residual da enzima foi comparada na faixa de temperatura de 50 a 60°C, avaliando a adequação a cinética de inativação térmica em um modelo de primeira ordem. Os dados obtidos estão de acordo com o modelo de primeira ordem, e a partir destes foi possível estimar as constantes de desnaturação (k_d) e o tempo de meia vida para cada temperatura. A análise cinética mostrou que o efeito protetor causado pelos íons promoveu o decréscimo na desnaturação térmica. O tempo de meia vida da enzima na presença de cálcio aumentou 4, 8 vezes a 50° e 3, 5 vezes a 60° quando comparado com a enzima na ausência dos íons (controle). Sendo assim pode-se concluir que os valores das constantes aumentavam juntamente com aumento da temperatura. Entretanto, quando a queratinase encontrava-se na presença de Ca^{+2} o aumento ocorreu de modo mais lento (PIBIC).