

SALÃO DE
INICIAÇÃO CIENTÍFICA
XXIX SIC

UFRGS
PROPESQ



múltipla 
UNIVERSIDADE
inovadora  inspiradora

Evento	Salão UFRGS 2017: SIC - XXIX SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
Ano	2017
Local	Campus do Vale
Título	Produção de cross-linked enzymes aggregates (CLEAs) de dextransucrase de <i>L. mesenteroides</i> B-512 F
Autor	LAISA QUADROS BARSE
Orientador	MARCO ANTONIO ZACHIA AYUB

Produção de *cross-linked enzymes aggregates* (CLEAs) de dextransucrase de *L. mesenteroides* B-512 F

Laísa Quadros Barsé, Marco Antônio Záchia Ayub, Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Introdução: A dextransucrase é uma enzima que produz, quando em presença de aceptores, oligossacarídeos através de reações de transglicosilação. Esses podem ser caracterizados como prebióticos, compostos que estimulam a microbiota intestinal do hospedeiro de forma benéfica. Na literatura, alguns trabalhos relatam a síntese de prebióticos *in situ*, isto é, o próprio alimento é utilizado como substrato, como é descrito para o caso de suco de frutas. A dextransucrase pode ser utilizada nessas reações na sua forma livre ou imobilizada, contudo a última apresenta vantagens advindas da imobilização enzimática, como aumento de estabilidade térmica e operacional, além da possibilidade de reuso da enzima. Dentre as técnicas de imobilização, um método alternativo à ligação à suportes sólidos é a produção de agregados enzimáticos, também conhecidos como CLEAs (*Cross-linked enzyme aggregates*). A produção de CLEAs é realizada, primeiramente, a partir da precipitação da enzima, seguida da exposição do precipitado a um agente bifuncional, produzindo, assim, partículas entrecruzadas. Esse tipo de imobilização apresenta algumas vantagens, tais como menores custos de processo, tendo em vista a não necessidade de suportes sólidos, e a obtenção de alta atividade catalítica. Sendo assim, o objetivo desse estudo foi avaliar as condições para a produção de CLEAs de dextransucrase de *Leuconostoc mesenteroides* B-512 F. **Metodologia:** A produção da dextransucrase foi realizada utilizando a linhagem de *L. mesenteroides* B-512 F obtida da Fundação Tropical de Pesquisas e Tecnologia André Tosello (Campinas, SP, Brasil). Previamente à produção dos CLEAs, um tratamento com dextranase foi realizado a fim de remover a camada de dextrana inerente à enzima nativa. A produção dos CLEAs foi realizada na proporção de 1:10, solução enzimática e solvente orgânico, utilizando glutaraldeído como agente ligante. Essa mistura foi deixada sob agitação em um roller mixer por 3 h ou 24 h a 5 °C. O CLEA obtido foi recuperado através de centrifugação (15000 × g por 5 min). A fim de garantir a eliminação de qualquer partícula de enzima livre e de glutaraldeído residual, o CLEA foi lavado com tampão acetato de sódio, 50 mM, pH 5,2. A atividade de dextransucrase foi determinada, a partir da mistura da solução enzimática com o substrato sacarose em tampão acetato de sódio, 20 mM e pH 5,2, e, após a reação, os açúcares redutores liberados foram mensurados pelo método com 3,5-ácido dinitrosalicílico (DNS). O efeito do agente precipitante foi avaliado, uma vez que quatro solventes orgânicos (etanol, isopropanol, butanol e acetona) foram testados para a preparação do CLEA, assim como o tempo de reação, o qual foi avaliado por 1 h, 3 h e 6 h com o melhor solvente obtido. **Resultados:** O melhor agente precipitante para a produção de CLEAs de dextransucrase de *L. mesenteroides* de B-512 F foi o isopropanol, possivelmente por apresentar maior interação com a enzima, facilitando a etapa de precipitação. Já em relação ao tempo de reação, foi observado que não houve diferença estatística entre os diferentes tempos analisados, sendo escolhido então, o tempo de 1 h para a produção dos CLEAs. **Conclusão:** A partir desses resultados, pode-se concluir que é possível a obtenção de CLEAs de dextransucrase de *L. mesenteroides* B-512 F, sendo o isopropanol o melhor solvente encontrado. Além disso, observou-se que o tempo mais adequado para a produção de CLEAs de dextransucrase é de 1 h. Como perspectivas, pretende-se fazer a aplicação desse novo biocatalisador em suco de uva para a produção *in situ* de oligossacarídeos.