

CARACTERIZAÇÃO DE ENDO- β -1,4-XILANASES PARA PRODUÇÃO DE XILO-OLIGOSSACARÍDEOS

SILVEIRA, Jéssica Teixeira; GUIDO, Elida Simone
KALIL, Susana Juliano
jessicatsilveira@hotmail.com

Evento: Congresso de Iniciação Científica
Área do conhecimento: Ciências Agrárias

Palavras-chave: endo- β -1,4-xilanase; propriedades cinéticas; xilo-oligossacarídeos.

1 INTRODUÇÃO

Para a produção de xilo-oligossacarídeos (XOs) por hidrólise enzimática são desejados complexos xilanolíticos com elevada atividade de endo- β -1,4-xilanases e baixa atividade de β -xilosidases (Chen et al., 2009). Assim, o objetivo deste trabalho foi caracterizar os sistemas xilanolíticos secretados por fungos filamentosos para posterior utilização no processo de produção de XOs.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

Dentre as enzimas microbianas que apresentam um mercado em expansão se destacam as endo-xilanases, devido ao seu elevado potencial para as aplicações biotecnológicas, dentre elas, a produção industrial de XOs (Beg et al., 2001).

Os XOs podem ser empregados como adoçantes de baixa caloria e fibras alimentares solúveis já que não são metabolizados pelo sistema digestivo. Além disso, apresentam excelentes propriedades fisiológicas incluindo o efeito prebiótico (Moure et al., 2006; Grootaert et al., 2007).

3 MATERIAIS E MÉTODOS (ou PROCEDIMENTO METODOLÓGICO)

Os complexos xilanolíticos foram provenientes de *Aspergillus oryzae* (extrato 1), *Thermomyces lanuginosus* (extrato 2) e *Aspergillus niger* (extrato 3).

O efeito do pH sobre a atividade da endo- β -1,4-xilanase à 50°C foi determinado na faixa de pH variando de 3,5 a 7,0 (pH 3,5-5,5, tampão citrato de sódio 50 mM e pH 6,0-7,0, tampão fosfato de sódio 50 mM), utilizando xilana de madeira de faia como substrato. A temperatura ótima para atividade da enzima foi verificada em 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85 e 90°C, mantendo o pH fixo em 5,3 e o mesmo substrato. A estabilidade térmica foi estudada pela incubação da enzima endo- β -1,4-xilanase na temperatura de 50 °C, e avaliada em termos de K_d (constante cinética de desnaturação térmica) e meia-vida ($t_{1/2}$). Além disso, foram calculados através do método gráfico de *Lineweaver-Burk* os parâmetros cinéticos K_m (constante de *Michaelis-Menten*) e $V_{m\acute{a}x}$ (velocidade máxima de reação) para a xilana de madeira de faia na faixa de 1,0 a 20 mg/mL.

4 RESULTADOS e DISCUSSÃO

A caracterização dos extratos enzimáticos é apresentada na Tabela 1. Os resultados de pH ótimo da endo- β -1,4-xilanase determinados nos três extratos enzimáticos estão coerentes com os dados encontrados na literatura. Além disso, os resultados de pH ótimo obtidos no presente trabalho equivalem a faixa ideal de pH relatada em estudos (pH 5,0-5,5) para produção de XOs por hidrólise enzimática.

Tabela 1. Propriedades da enzima endo-xilanase de diferentes extratos enzimáticos

Propriedades	Extrato 1	Extrato 2	Extrato 3
pH ótimo	5,0-5,5	5,5	5,0-5,5
Temperatura ótima	85°C	75°C	50-55°C
K_d	-	0,0033 h ⁻¹	0,0374 min ⁻¹
Meia-vida	-	210 h	0,3 h
K_m	8 mg.mL ⁻¹	15 mg.mL ⁻¹	20 mg.mL ⁻¹
$V_{máx}$	10000 U.mL ⁻¹	50000 U.g ⁻¹	100000 U.g ⁻¹

As altas temperaturas ótimas obtidas para os extratos 1 e 2 sugerem que as enzimas são termoestáveis e, portanto, também podem ser aplicadas em processos biotecnológicos onde são empregadas temperaturas mais elevadas. O extrato 3 apresentou temperatura ótima equivalente a temperatura da reação de produção de XOs, o que mostra que o extrato pode ter potencial para essa aplicação.

Em termos de estabilidade térmica, os resultados mostram que a enzima do extrato 2 tem uma elevada estabilidade à 50°C, enquanto a enzima do extrato 3 apresentou baixa estabilidade, o que pode diminuir sua aplicabilidade em reações longas. O extrato 1, perdeu somente 20% da atividade inicial durante 15 dias de incubação, o que pode ser explicado pelo fato do extrato ser comercial e porventura ter algum estabilizante em sua composição.

Através dos parâmetros cinéticos se pode constatar que a endo-xilanase do extrato 1 tem uma maior afinidade pela xilana de madeira de faia, seguido da enzima dos extratos 2 e 3. O valor de K_m reflete a afinidade da enzima pelo substrato, e quanto menor este valor maior será a afinidade da enzima pelo substrato.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados obtidos nesse estudo demonstram que os extratos enzimáticos avaliados têm potencial para serem aplicados na produção de XOs, no entanto, são necessários estudos adicionais relacionados a estabilidade térmica da enzima endo- β -1,4-xilanase em outras temperaturas.

AGRADECIMENTOS – Os autores agradecem ao CNPq PIBIC-FURG, a FAPERGS e a CAPES pelo apoio financeiro.

REFERÊNCIAS

- BEG, Q. K.; KAPOOR, M.; MAHAJAN, L.; HOONDAL, G. S. Microbial xylanases and their industrial applications: a review. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 56, n. 3-4, p. 326-338, Aug 2001.
- CHEN, L. L.; ZHANG, M.; ZHANG, D. H.; CHEN, X. L.; SUN, C. Y.; ZHOU, B. C.; ZHANG, Y. Z. Purification and enzymatic characterization of two β -endoxylanases from *Trichoderma* sp. K9301 and their actions in xylooligosaccharide production. **Bioresource Technology**, v. 100, n. 21, p. 5230-5236, Nov 2009.
- GROOTAERT, C.; DELCOUR, J. A.; COURTIN, C. M.; BROEKAERT, W. F.; VERSTRAETE, W.; VAN DE WIELE, T. Microbial metabolism and prebiotic potency of arabinoxylan oligosaccharides in the human intestine. **Trends in Food Science & Technology**, v. 18, n. 2, p. 64-71, 2007.
- MOURE, A.; GULLON, P.; DOMINGUEZ, H.; PARAJO, J. C. Advances in the manufacture, purification and applications of xylo-oligosaccharides as food additives and nutraceuticals. **Process Biochemistry**, v. 41, n. 9, p. 1913-1923, Sep 2006.