

Engenharia de Alimentos

## **DESENVOLVIMENTO DE CRIOGEL FUNCIONALIZADO COM L-ARGININA PARA PURIFICAÇÃO DE L-ASPARAGINASE DE *Aspergillus caespitosus***

MARIELY DE LIMA SILVA - 9º módulo de Química Bacharelado, UFLA, bolsista PIBIC/FAPEMIG.

Eduarda Alvarenga Naves - 5º módulo de Química Bacharelado, UFLA, bolsista PIBIC/CNPq.

Grazielle de Paiva Gonçalves - 8º módulo de Engenharia de Alimentos, UFLA, bolsista PIBIC/UFLA.

Dayana Teixeira Botelho - Mestranda em Engenharia de Alimentos, UFLA.

Giovanni Aleixo Batista - Mestrando em Ciência dos Alimentos, UFLA. Coorientador.

Lizzy Ayra Alcântara Veríssimo - Orientador DCA, UFLA. - Orientador(a)

### **Resumo**

A L-asparaginase catalisa a hidrólise da L-asparagina em ácido aspártico e amônia, sendo utilizada na indústria de alimentos para reduzir a acrilamida, uma substância cancerígena. Enzimas purificadas têm alta atividade específica e estabilidade, essenciais para a eficiência em aplicações industriais. O objetivo deste trabalho foi desenvolver um criogel funcionalizado com L-arginina (crio-Arg) visando a captura da L-asparaginase de *Aspergillus caespitosus*. Os criogéis de poliacrilamida foram sintetizados a  $-12\text{ }^{\circ}\text{C}$  e funcionalizados via método epóxi usando a L-arginina em tampão de sulfato de amônio ( $2\text{ mol/L}$ ;  $\text{pH } 9,5$ ) por 28 h a  $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ , seguido de imersão em solução de borohidreto de sódio. O extrato fermentado contendo a L-asparaginase foi obtido por fermentação em estado sólido de *A. caespitosus*, utilizando 10 g de fibra de ora-pro-nobis, 10 mL de sais de Khanna, 3 g de L-asparagina e 10 mL da suspensão contendo 107 de esporos do fungo. A incubação ocorreu a  $25\text{ }^{\circ}\text{C}$  por 120 h e posteriormente, a cultura foi rompida, diluída em água destilada estéril a  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$  e agitada ( $120\text{ rpm}/60\text{ min}$ ). Após, realizou-se a lise celular por sonicação e o filtração a vácuo. A adsorção foi conduzida em batelada a  $25\text{ }^{\circ}\text{C}$  por 24 h, utilizando-se 0,05 g de crio-Arg e 5 mL do extrato fermentado em tampão fosfato de sódio (1:1 v/v). O processo foi otimizado empregando um DCCR 2<sup>2</sup>, variando a concentração salina (20 a 100 mmol/L) e o pH (3,0 a 9,0) do tampão. Após a adsorção, os sobrenadantes foram analisados para quantificação de proteína total e atividade enzimática pelo método de Bradford e reagente de Nessler. A maior capacidade de adsorção (60,84 mg/g) foi alcançada em pH 3,88 e concentração salina ([S]) de 88,29 mmol/L. O modelo matemático obtido foi significativo, sendo  $q\text{ (mg/g)} = 63,88 - 23,04 \cdot \text{pH} + 2,43 \cdot \text{pH} \cdot \text{pH} + 1,06 \cdot [\text{S}] - 0,15 \cdot \text{pH} \cdot [\text{S}]$ , apresentando um  $R^2$  de 0,91. Em condições ácidas, a enzima apresentou carga líquida positiva e foi adsorvida no grupo ácido carboxílico da L-arginina carregado negativamente. O aumento da [S] de 31,72 mmol/L para 88,29 mmol/L em pH ácido melhorou a solubilidade da enzima. Em pH 6, a capacidade de adsorção dos criogéis foi baixa, devido à interação proteína-proteína e à exposição de grupos hidrofóbicos próximos ao ponto isoelétrico da enzima. O crio-Arg desenvolvido apresentou potencial como uma matriz de troca iônica eficaz para capturar L-asparaginase de meios fermentados.

Palavras-Chave: Adsorção, Enzima, Troca iônica..

Instituição de Fomento: UFLA, FAPEMIG e CNPq.

Link do pitch: [https://youtu.be/xTDMzG3\\_HMk?si=UPfG9qGqXAUQ\\_SB0](https://youtu.be/xTDMzG3_HMk?si=UPfG9qGqXAUQ_SB0)