

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 poli(acrilamida) foram sintetizados a $-12\text{ }^{\circ}\text{C}$ e funcionalizados via método epóxi usando a L-arginina em tampão de sulfato de amônio (2 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 10^7 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 2², 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 ($60,84\text{ mg/g}$) foi alcançada em $\text{pH } 3,88$ e concentração salina ($[S]$) de $88,29\text{ mmol/L}$. O modelo matemático obtido foi significativo, sendo $q\text{ (mg/g)} = 63,88 - 23,04 \cdot \text{pH} + 2,43 \cdot \text{pH} \cdot \text{pH} + 1,06 [S] - 0,15 \cdot \text{pH} \cdot [S]$, 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 $31,72\text{ mmol/L}$ para $88,29\text{ mmol/L}$ em pH ácido melhorou a solubilidade da enzima. Em $\text{pH } 6$, 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