

INFLUÊNCIA DO pH DA TEMPERATURA E DA CONCENTRAÇÃO DE SUBSTRATOS SOBRE A ATIVIDADE DE GLICOSE-FRUTOSE OXIDORREDUTASE E GLUCONO-DELTA-LACTONASE EM CÉLULAS IMOBILIZADAS DE *Zymomonas mobilis*

Sabrina Carra (PIBIC/CNPq), Mauricio Moura da Silveira (orientador), Flavia Cristina Pasquali, Eloane Malvessi - Instituto de Biotecnologia/UCS - scarra@ucs.br

A bioconversão de glicose e frutose em ácido glucônico e sorbitol, respectivamente, é catalisada pelas endoenzimas glicose-frutose oxidorredutase (GFOR) e glucono-delta-lactonase (GL) de *Zymomonas mobilis*. Sorbitol e ácido glucônico têm aplicações nas indústrias farmacêutica e de alimentos. A imobilização de *Z. mobilis* é fundamental para o reaproveitamento das enzimas em processos sucessivos e na separação do catalisador e dos produtos da reação. Neste trabalho, a ação enzimática de GFOR/GL de *Z. mobilis* imobilizada em alginato de cálcio foi caracterizada com relação à temperatura (34 a 59°C), ao pH (5,2 a 9,7) e à concentração de substratos (0,1 a 2,0M), para determinar os parâmetros V_m e K_m da reação. *Z. mobilis* foi cultivada em biorreator, em meio com glicose, e, a seguir, as células foram concentradas, permeabilizadas com CTAB e ressuspensas à concentração de 50g/L, sendo esta suspensão tratada com glutaraldeído (0,5% p/v), sob agitação, por 10min. A mistura contendo iguais volumes da suspensão celular e de alginato de sódio 4% (p/v) foi gotejada em $CaCl_2$ 0,3M e as esferas produzidas foram também reticuladas com glutaraldeído. Os testes foram realizados em reator com 100mL de solução 0,7M de frutose/glicose e 10g/L de células imobilizadas, sob agitação magnética. A atividade enzimática foi estimada por titulação automática com NaOH 1M usado para o controle do pH da reação. Em sistema imobilizado, atividades enzimáticas mais altas foram alcançadas com pH em torno de 8,0, cerca de 60% superior à obtida em pH 6,2, valor ideal para células livres. Possivelmente, o pH interno nas esferas de alginato estava em nível mais baixo que o externo e, assim, o controle em valores mais altos proporcionaria uma condição favorável à reação enzimática. Com relação à temperatura, um incremento de 30% foi observado entre 44-52°C, enquanto temperaturas mais altas provocaram queda acentuada na atividade. A avaliação da estabilidade enzimática nestas temperaturas mais altas é necessária. Valores semelhantes de atividade foram alcançados em concentrações equimolares de glicose e frutose entre 0,7-1,1M, com valores calculados de V_m e K_m de 8,3U/g e 0,39M, respectivamente. Os resultados servirão como base para a definição de condições de operação do bioprocessamento de obtenção de sorbitol e ácido glucônico.

Palavras-chave: *Zymomonas mobilis* imobilizada, glicose-frutose oxidorredutase, caracterização enzimática

Apoio: UCS, CNPq