

Seleção e Melhoramento de Leveduras Inulinolíticas do Gênero *Kluyveromyces*: atividade inulinolítica extracelular

Fredi Fontana (PIBIC-CNPq), Sergio Echeverrigaray (co-orientador), Ana Paula Longaray Delamare (orientadora) - ffontana@ucs.br

A inulina é um polifruktosídeo encontrado como carboidrato de reserva em várias plantas superiores. Ela pode ser utilizada como fonte alternativa na produção de xarope de frutose, através de sua hidrólise por enzimas específicas (inulinases). Estas enzimas são secretadas por fungos, leveduras ou bactérias. *Kluyveromyces marxianus* destaca-se entre as leveduras inulinolíticas devido a sua alta atividade enzimática e capacidade fermentativa. O objetivo deste trabalho é a seleção de acessos, híbridos e segregantes de *Kluyveromyces marxianus* com alta atividade inulinolítica. Neste trabalho foram avaliados 11 acessos, um híbrido e 45 segregantes de *Kluyveromyces*. O crescimento das leveduras para testes de atividade foram realizados em meio completo com inulina 2%, sob agitação a 30°C. As amostras foram centrifugadas e os sobrenadantes utilizados como extratos enzimáticos brutos. A atividade enzimática foi determinada através da quantificação de açúcares redutores (AR) liberados a partir da hidrólise de inulina, utilizando um micrométodo de DNS desenvolvido com este propósito. Uma unidade de inulinase corresponde a 1U = $\mu\text{molAR} \cdot \text{ml}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$. Dentre os acessos testados sobressaíram IZ1339, IZ619, FTI20015, NRRL Y 1190, NRRL Y 6373 e NRRL Y 7521. Mutantes auxotróficos de IZ1339 e IZ619 foram cruzados gerando o híbrido 9x21, o qual apresentou atividade semelhante aos parentais. Dos 45 segregantes deste híbrido sobressaíram 17D (630,75 U/ml), 9D (484,02 U/ml), 45E (435,88 U/ml), 7D (371,68 U/ml) e 24E (364,81 U/ml). Curvas de crescimento, AR e atividade inulinolítica dos segregantes 17D, 45E e 9D, do híbrido 9x21, e os parentais KM9 e KM21 mostraram aumento de atividade proporcional ao crescimento celular e efeito de repressão catabólica. As maiores atividades inulinolíticas foram detectadas com 36h, confirmando a maior atividade nos segregantes: 9D (1990 U/ml), 45E (1850 U/ml) e 17D (1780 U/ml), contra uma média de 1400 U/ml dos parentais. Os resultados obtidos até o presente momento provam a eficiência do método utilizado para seleção de materiais genéticos superiores quanto à atividade inulinolítica. Novos híbridos entre segregantes superiores e entre outros materiais selecionados deverão ser obtidos na continuação deste trabalho.

Palavras-chave: leveduras, inulina, inulinase.

Apoio: UCS, CNPq, FAPERGS.