



## OTIMIZAÇÃO DA PRODUÇÃO DE CICLODEXTRINAS UTILIZANDO ENZIMA COMERCIAL

Virgínia Maria Feitosa Santos (PIBIC/CNPq/FA/Uem), Graciette Matioli (Coorientadora), Cristiane Moriwaki (Orientador), e-mail: cmoriwaki@uem.br

Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências da Saúde / Departamento de Farmácia / Maringá, PR.

### Ciência e Tecnologia de Alimentos – Ciência de Alimentos

**Palavras-chave:** CGTase, Toruzyme<sup>®</sup>, ciclodextrinas.

#### Resumo:

A ciclodextrina glicosiltransferase (CGTase) comercializada com o nome de Toruzyme<sup>®</sup> é uma enzima produzida por uma linhagem de *Bacillus* geneticamente modificada. CGTases produzem ciclodextrinas (CDs) a partir de uma reação de transglicosilação intramolecular (ciclização) do amido. O uso das CDs tem aumentado consideravelmente, incluindo aplicações na indústria farmacêutica, alimentícia, cosmética, têxtil, química entre outras. No Brasil há uma grande motivação para o estudo de métodos de produção de CDs, já que há grande disponibilidade do substrato amido a baixo custo, o que torna atraente a perspectiva de produção de CDs. Este projeto teve por objetivo produzir CDs com a enzima comercial Toruzyme<sup>®</sup> e otimizar o meio de produção em relação a temperatura e pH utilizados. No intervalo de temperatura de 40 a 90°C, a temperatura de 70°C alcançou a maior produção de  $\beta$ -CD, chegando a 23,56 mg/mL. Já no intervalo de pH de 4 a 10, o pH 6 apresentou o melhor resultado, chegando a 20,43 mg/mL de  $\beta$ -CD. Considerando as diversas aplicações das CDs e a necessidade de sua disponibilização para o emprego industrial, o uso de uma enzima comercial de fácil aquisição facilita a produção de CDs no Brasil, bem como atender a demanda do mercado mundial.





## Introdução

As ciclodextrinas (CDs) são oligossacarídeos cíclicos, nos quais as unidades de glucose estão unidas por ligações  $\alpha$ -1,4, sendo constituídas por 6, 7 ou 8 unidades, denominadas de  $\alpha$ ,  $\beta$  ou  $\gamma$ -CD, respectivamente. Elas são produzidas a partir da reação de ciclização do amido catalisada pela enzima ciclodextrina glicosiltransferase (CGTase). A CGTase comercializada pela empresa Novozymes, com o nome de Toruzyme<sup>®</sup>, é uma enzima produzida por uma linhagem de *Bacillus* (hospedeiro) geneticamente modificada que recebeu o gene para CGTase de uma linhagem de *Thermoanaerobacter* (doador). No Brasil há uma grande motivação para o estudo de métodos de produção de CDs, já que há uma disponibilidade do substrato amido a baixo custo, o que torna atraente a perspectiva de produção de CDs, que são produtos de alto valor agregado (BERTOLINI et al., 1998). Considerando a necessidade de disponibilização de CDs para aplicação industrial e a vantagem do substrato de custo reduzido no Brasil, o presente projeto teve por objetivo utilizar a enzima comercial Toruzyme<sup>®</sup> para produção de CDs e otimizar as condições de produção em relação a temperatura e pH.

## Materiais e métodos

*Avaliação da produção de CDs pela enzima comercial Toruzyme<sup>®</sup> utilizando diferentes temperaturas e pHs:*

A influência da temperatura sob a produção de CDs foi testada a 40, 50, 60, 70, 80 e 90°C, utilizando como substrato maltodextrina 10% (p/V) em pH 6, aproximadamente 0,65 mg/L de CGTase Toruzyme<sup>®</sup> durante 24 h. Amostras foram coletadas nos tempos de 0, 15, 30, 45, 60, 120, 180, 360, 720 e 1440 min, imediatamente inativadas, utilizando 2 mL de HCl 0,02 N e banho fervente durante 10 min, para posterior dosagem espectrofotométrica da  $\beta$ -CD produzida.

A influência do pH sob a produção de CDs foi testada em pH 4, 5, 6, 7, 8, 9 e 10, utilizando substrato maltodextrina 10% (p/V), aproximadamente 0,65 mg/L de enzima, dissolvidos em tampão McIlvaine para os pHs descritos, a 65°C durante 24 h. A coleta das amostras, inativação e dosagem foram os mesmos acima citados.





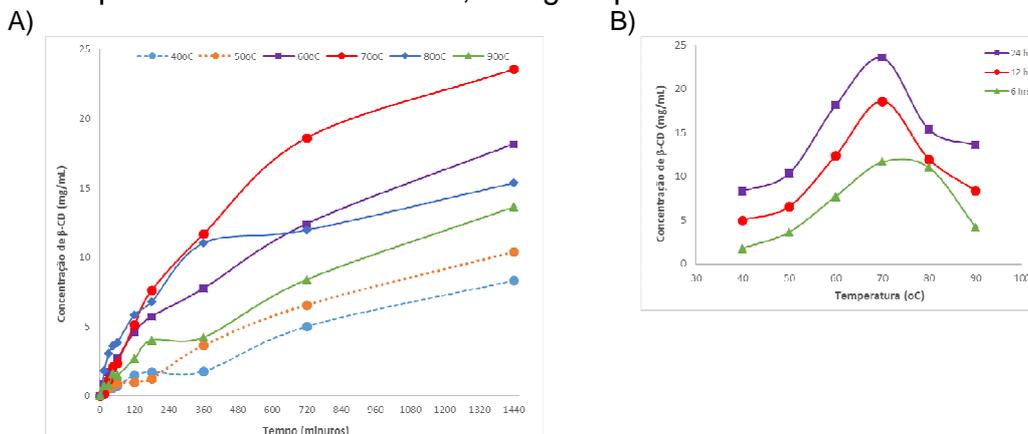
### Determinação espectrofotométrica de $\beta$ -CD:

A determinação da concentração de  $\beta$ -CD utilizando o método de dosagem espectrofotométrico com fenolftaleína (PHE), baseia-se na formação de um complexo entre o corante e a molécula de  $\beta$ -CD, que causa redução da absorção colorimétrica da solução em 550 nm. Uma curva padrão foi preparada com diluições de uma solução de  $\beta$ -CD e utilizando como branco água destilada. A dosagem foi feita com 0,5 mL da amostra e 2,5 mL da solução trabalho de fenolftaleína. De acordo com a Teoria da Complexação (TARDIOLI et al., 2006) e os dados da curva padrão, a equação para calcular a concentração de  $\beta$ -CD foi a que segue:

$$C_{\beta\text{-CD}} = 0,3 \left( 1 - \frac{\text{ABS}}{\text{ABS}_0} \right) \left( 1 + 1,1465 \frac{\text{ABS}_0}{\text{ABS}} \right) \quad \text{Eq. 1}$$

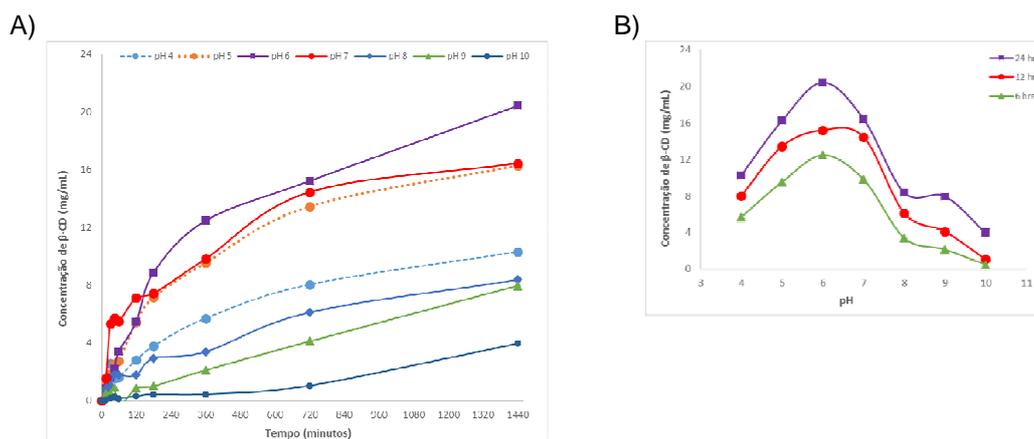
### Resultados e Discussão

O efeito da temperatura e pH no meio de produção de CDs estão mostrados nas Figuras 1 e 2, respectivamente. A produção foi realizada utilizando as condições padrão já citadas, variando a temperatura de 40 a 90°C, e ao final das 24 h de reação, a temperatura de 70°C alcançou a maior produção de  $\beta$ -CD, chegando a 23,56 mg/mL. Quando houve a variação de pH de 4 a 10, o pH 6 mostrou a maior concentração, 20,43 mg/mL de  $\beta$ -CD produzida. O teor de proteínas dosado foi de 3,24 mg de proteínas/mL de enzima.



**Figura 1** – A) Produção de  $\beta$ -CD utilizando 0,02% (V/V) de CGTase comercial, maltodextrina 10% (p/V) e diferentes temperaturas. B) Produção de  $\beta$ -CD ao final de 6, 12 e 24 hrs.





**Figura 2** – A) Produção de  $\beta$ -CD utilizando 0,02% (V/V) de CGTase comercial, maltodextrina 10% (p/V) e diferentes pHs. B) Produção de  $\beta$ -CD ao final de 6, 12 e 24 hrs.

## Conclusões

Dentre as temperaturas testadas, aquela que apresentou resultado mais satisfatório para a produção de CDs foi 70°C. Em relação aos valores de pH testados, verificou-se um melhor resultado utilizando o pH 6. Portanto, a atuação da enzima comercial Toruzyme<sup>®</sup> foi eficiente dentro dos parâmetros utilizados, podendo ser empregada na produção de CDs no Brasil.

## Agradecimentos

À Cristiane Moriwaki pela orientação e ajuda. À profa. Graciette Matioli pela coorientação e disposição. Aos órgãos de fomento CNPq, CAPES e à Fundação Araucária pela concessão da bolsa.

## Referências

BERTOLINI, A.C.; CEREDA, M.P.; CHUZEL, G. **Fécula e farelo de mandioca como substrato na produção de ciclodextrinas**. Ciência e Tecnologia de Alimentos, v.18, p.224 – 229, 1998.

TARDIOLI, P.W.; ZANIN, G.M.; MORAES, F.F. **Characterization of Thermoanaerobacter cyclomaltodextrin glucoamylase immobilized on glyoxilagarose**. Enzyme and Microbial Technology, v.39, p.1270 – 1278, 2006.

