



## PRODUÇÃO DE CICLOMALTODEXTRINA-GLUCANO-TRANSFERASE (CGTASE) POR *BACILLUS FIRMUS* EM DIFERENTES CONDIÇÕES DE CULTIVO

Renato Santili Depes (PIBIC/CNPq/UEM), Daniel Tait Vareschini (Coorientador), José Eduardo Olivo (Orientador), e-mail: renatodepes@gmail.com

Universidade Estadual de Maringá / Centro de Tecnologia / Maringá, PR.

**Engenharias, Engenharia Química.**

**Palavras-chave:** Produção, CGTase, *Bacillus firmus*.

### Resumo:

A enzima Ciclomaltodextrina-Glucano-Transferase (CGTase) é industrialmente muito importante pelo fato de ser única na produção de ciclodextrinas, as quais possuem inúmeras aplicações industriais. Utilizou-se o microrganismo *Bacillus firmus* para a sua produção em um ensaio descontínuo. A concentração máxima de  $\beta$ -Ciclodextrina foi de 7,83 g/L no tempo 24h em uma batelada de 91h para 1,0% de amido solúvel, 1,0% de polipetona e 2,0% de extrato de levedura, indicando forte presença de CGTase nesse período.

### Introdução

As utilizações de compostos de inclusão com ciclodextrinas, devido à sua estrutura cônica com seu exterior hidrofílico e sua cavidade central hidrofóbica, apresentam potencial aplicação nas indústrias alimentícia, farmacêutica, de fermentações e química fina, na preparação, separação e purificação, bem como encapsulação de produtos como fragrâncias, fármacos (esteróis) e liberação controlada de compostos biologicamente ativos (medicamentos e pesticidas). Para a produção da enzima CGTase, utilizou-se o microrganismo *Bacillus firmus* Cepa 37, bactéria esporulada e alcalofílica. Assim, este trabalho teve por objetivo a verificação do comportamento cinético das variáveis representativas do sistema (biomassa,





substratos e produtos) ao longo do tempo para ensaios descontínuos e ensaios descontínuos alimentados.

## Materiais e métodos

### Condições de Cultivo

O microrganismo *Bacillus firmus* foi semeado em placas de Petri contendo meio semi-sólido, cuja composição massa por volume (%: m/v) foi de: 1,0% de amido solúvel, 1,0% de polipeptona, 2,0% de extrato de levedura, 0,1% de  $K_2HPO_4$ , 0,02% de  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ , 1,0% de  $Na_2CO_3$  e 1,5% de ágar. As placas foram mantidas em estufa incubadora a 37°C por 24 horas para multiplicação celular. Após esse período, a massa celular presente nas placas foi transferida para um frasco para o desenvolvimento do pré-inóculo líquido de 250 mL, cuja composição é semelhante à do meio semi-sólido, exceto pela não adição de ágar. O pré-inóculo foi, então, mantido em shaker a 37°C, 150 rpm por 48 horas e, após esse tempo, uma alíquota de 10% v/v do meio de cultivo foi retirada do pré-inóculo e inoculado nos meios de cultivo, previamente preparados em erlenmeyers e esterilizados e que foram mantidos sob agitação de 150 rpm a 37°C durante 48 horas, junto com o pré-inóculo.

### Procedimento de Análise

As análises realizadas para a verificação do comportamento cinético das variáveis representativas do sistema foram: Determinação da Atividade Enzimática (HAMON; MORAES, 1990); Determinação da Concentração de  $\beta$ -CD (HAMON; MORAES, 1990); Determinação do Teor de Proteínas (BRADFORD, 1976); Determinação de Açúcares Redutores (ZANIN; MORAES, 1987); e Determinação da Concentração Celular (OLIVO, 1985).

## Resultados e Discussão

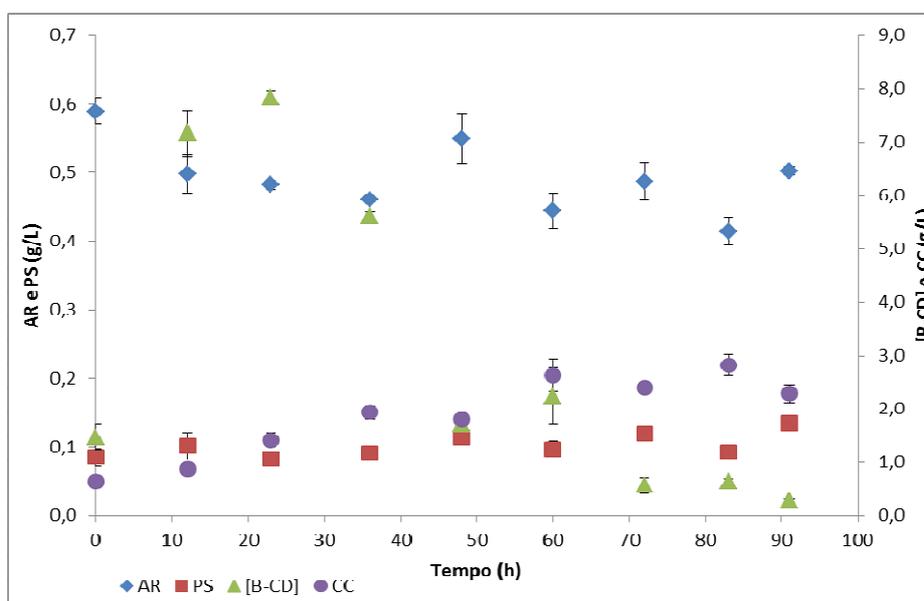
A figura 1 contém o gráfico de Açúcares Redutores, Proteínas Solúveis e Concentração Celular (g/L) pelo tempo (h) de batelada. Nota-se que com o decorrer do ensaio, a concentração celular no inóculo aumentou, variando de 0,64 g/L em 0h (mínimo) à 2,82 g/L (máximo) em 83h. O valor máximo é levemente maior do encontrado por MARQUES (2004) que é de 2,77g/L em 72h, a qual utilizou 2,5% de amido de milho e 1,0% de polipeptona. Nota-se, também, que as concentrações de Proteínas Solúveis e Açúcares Redutores mantiveram-se aproximadamente constantes ao longo da batelada,





indicando que esses substratos foram sendo gerados e consumidos simultaneamente.

Além disso, o gráfico mostra a concentração de  $\beta$ -Ciclodextrina produzida ao longo da batelada. Observa-se que a concentração máxima de 7,83 g/L é atingida em 24h, tempo de máximo também registrado por MARQUES (2004) que alcançou 11,56 g/L utilizando 2,5% de amido de milho e 1,0% de polipetona. Nesse tempo, indica-se presença marcante de CGTase no meio de cultivo.



**Figura 1** – Gráfico da Concentração Celular (CC), Açúcares Redutores (AR), Proteínas Solúveis (PS) e Concentração de  $\beta$ -Ciclodextrina ( $\beta$ -CD) em g/L por tempo de batelada contínua em horas

## Conclusões

A concentração do produto  $\beta$ -Ciclodextrina é máxima por volta de 24h depois do início da batelada, mostrando que o microrganismo *Bacillus firmus* é um excelente produtor de  $\beta$ -CGTase. Além disso, conclui-se que a concentração de  $\beta$ -CD no meio de cultivo está diretamente relacionada com a concentração de amido presente.





## Agradecimentos

A CNPq, Fundação Araucária, ao Professor Doutor José Eduardo Olivo e ao Professor Doutor Daniel Tait Vareschini.

## Referências

MARQUES, M. B. A. **Síntese da Enzima Ciclodextrina-Glicosiltransferase em Diferentes Meios de Cultivo Utilizando *Bacillus firmus* Alcalofílico-Cepa 37**. 2004. Tese (Mestrado)-Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2004.

BUENO, M. R. **Cultivo Descontínuo Alimentado de *Bacillus firmus* na Produção da Enzima Ciclomaltodextrina Glucano-Transferase (CGTase)**. 2014. Tese (Mestrado)-Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2014.

MATIOLLI, G. **Seleção de Microrganismo e Caracterização de sua Enzima Ciclodextrina-Glicosiltransferase**. 1997. Tese (Doutorado)-Programa de Pós-Graduação em Ciências Bioquímica, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 1997.

BRADFORD, M. M. A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding. 1976. **Analytical Biochemistry**, v. 72, p. 248-254, 1976.

HAMON, V.; MORAES, F. F. **Etude Preliminare a L'Immobilisation de L'Enzime CGTase WACKER**. 1990. Relatório de Pesquisa, Université de Technologie de Compiègne, Compiègne, France, p. 234, 1990.

ZANIN, G M.; MORAES, F. F. **Tecnologia de imobilização de células e enzimas aplicada à produção de álcool e biomassas**. 1987. Relatório de pesquisa nº2, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, p. 315-321, 1987.

OLIVO, J. E. **Efeito da Concentração Inicial de Microrganismos (*S. cerevisiae*) e da Recirculação de Células em Parâmetros Cinéticos de Processos Simultâneos de Sacarificação e Fermentação de Meios Preparados a Partir de Farinha de Raspa de Mandioca**. Tese (Mestrado)-Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Escola Politécnica, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1985.

