

**Atividade: ESTUDO DA ESTABILIDADE DA LINAMARASE DE MANIHOT ESCULENTA CRANTZ SOB ARMAZENAMENTO**

**Trabalho: ESTUDO DA ESTABILIDADE DA LINAMARASE DE MANIHOT ESCULENTA CRANTZ SOB ARMAZENAMENTO**

**Autor(es): JÉSSICA COSTA FROIS, LUCIANA ALVES DE OLIVEIRA, GIVANILDO BEZERRA DE OLIVEIRA**

**Resumo:** A linamarase é uma  $\alpha$ -glicosidase que pode ser obtida, dentre outras fontes, da mandioca. Ela é responsável pela hidrólise dos glicosídeos cianogênicos linamarina e lotaustralina, que se supõe estão envolvidos em processos de defesa da planta. Assim, esta enzima é importante na detoxificação de derivados da mandioca, pois sua ação possibilita a decomposição dos compostos cianogênicos e liberação do ácido cianídrico. Além disso, a linamarase é utilizada nas metodologias de determinação destes glicosídeos e sua obtenção envolve um processo laborioso, que consome tempo e reagentes. Portanto, compreender a estabilidade da enzima ao armazenamento é importante, pois orienta a logística desde a produção até o uso. Dessa forma, o presente trabalho teve por objetivo determinar a estabilidade da linamarase ao armazenamento em diferentes temperaturas, bem como suas propriedades físico-químicas e cinéticas. Inicialmente obteve-se um extrato enzimático da entrecasca e da folha da mandioca em tampão acetato pH 5,5 e depois realizou-se o fracionamento utilizando-se sulfato de amônio com 60% de saturação. O extrato enzimático assim obtido foi diluído 200 vezes e armazenado em tubos tipo eppendorf, sendo esses divididos em três grupos conforme a condição de armazenamento: temperatura ambiente; geladeira e congelador. A atividade da linamarase foi determinada utilizando-se p-nitrofenil- $\alpha$ -D-glicopiranosídeo (p-NPG) 5mM em tampão fosfato pH 6,0: foram incubados 0,1ml do extrato enzimático com 0,9mL da solução de substrato e, após o tempo de reação, a mesma foi finalizada pela adição de 2mL de carbonato de sódio 1 M. As absorvâncias foram medidas a 400nm e as atividades enzimáticas foram calculadas utilizando-se o coeficiente de absorvidade  $\epsilon_{400} = 19,12 \text{ mM}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ . A temperatura ótima foi determinada ensaiando-se a enzima na faixa de 30 a 70°C, com intervalos de 10°C. Já a estabilidade térmica foi realizada incubando-se o extrato enzimático nas temperaturas de 50, 60, 70 e 80°C por 1 hora, medindo-se, em seguida, a atividade residual a 30°C. Para determinação do  $K_m$  e  $V_{m\acute{a}x}$  a enzima foi ensaiada nas concentrações de substrato de 0,05mM a 4,5 mM. Os resultados obtidos dos experimentos acima descritos permitem concluir que o  $K_m$  para a linamarase, utilizando-se p-nitrofenil- $\alpha$ -D-glicopiranosídeo como substrato, foi de 0,207mM; que a temperatura ótima para a reação enzimática está em torno de 50°C; que a linamarase mostrou-se termoestável a 40°C, apresentando atividade insignificante a 60°C e sendo inativada quando incubada a 70 e 80°C. Além disso, a linamarase mostrou-se estável durante três meses nas condições testadas, independente da condição de armazenamento.

**Palavras-chave:**  $\alpha$ -glicosidase, mandioca, propriedades físico-químicas