

Tabela 4.35 - Parâmetros dos modelos cinéticos estudados em presença de galactose como inibidor

Modelos de inibição I = Galactose		V_m (U _I)	K_m (g/L)	K_i (g/L)	α	β	$\Sigma(V-V_{\text{modelo}})^2$	R^2																																																									
Competitiva*	Parâmetros	633,6	16,7	9,6	-	-	97917,9	82,7%																																																									
	Nível-p	0	0,001	0,07	-	-			Não Competitiva**	Parâmetros	821,0	35	52,3	-	-	80312,8	87,4%	Nível-p	0	0	0,12	-	-	Acompetitiva***	Parâmetros	653	30	3027751	-	-	118000,2	81,2%	Nível-p	0	0,001	0,9	-	-	Mista Linear ****	Parâmetros	589,9	16,2	13,5	3E5	-	155109,3	75,6%	Nível-p	0	0,05	0,42	0,99	-	Parcialmente Não Competitiva *****	Parâmetros	587	23	0,006	-	1E6	166259,58	73,9%	Nível-p	0	0,06
Não Competitiva**	Parâmetros	821,0	35	52,3	-	-	80312,8	87,4%																																																									
	Nível-p	0	0	0,12	-	-			Acompetitiva***	Parâmetros	653	30	3027751	-	-	118000,2	81,2%	Nível-p	0	0,001	0,9	-	-	Mista Linear ****	Parâmetros	589,9	16,2	13,5	3E5	-	155109,3	75,6%	Nível-p	0	0,05	0,42	0,99	-	Parcialmente Não Competitiva *****	Parâmetros	587	23	0,006	-	1E6	166259,58	73,9%	Nível-p	0	0,06	0	-	0,99												
Acompetitiva***	Parâmetros	653	30	3027751	-	-	118000,2	81,2%																																																									
	Nível-p	0	0,001	0,9	-	-			Mista Linear ****	Parâmetros	589,9	16,2	13,5	3E5	-	155109,3	75,6%	Nível-p	0	0,05	0,42	0,99	-	Parcialmente Não Competitiva *****	Parâmetros	587	23	0,006	-	1E6	166259,58	73,9%	Nível-p	0	0,06	0	-	0,99																											
Mista Linear ****	Parâmetros	589,9	16,2	13,5	3E5	-	155109,3	75,6%																																																									
	Nível-p	0	0,05	0,42	0,99	-			Parcialmente Não Competitiva *****	Parâmetros	587	23	0,006	-	1E6	166259,58	73,9%	Nível-p	0	0,06	0	-	0,99																																										
Parcialmente Não Competitiva *****	Parâmetros	587	23	0,006	-	1E6	166259,58	73,9%																																																									
	Nível-p	0	0,06	0	-	0,99																																																											

* Os resultados dos experimentos de números 14,19,23,28, 29,30 33,36, foram eliminados da análise por apresentarem um alto valor de resíduo;

** Os resultados dos experimento de 14,19, 23, 28, 29, 30, 33 e 35 foram eliminados da análise por apresentarem um alto valor de resíduo;

*** Os resultados dos experimentos de números 9, 14, 19, 23, 28, 33 e 35 foram eliminados das análises por apresentarem um alto valor de resíduo;

**** Os resultados dos experimentos de números 14, 19, 23, 28 e 33 foram eliminados da análise por apresentarem um alto valor de resíduo;

***** Os resultados dos experimento de números 14, 19, 23, 28 e 33 foram eliminado da análise por apresentarem um alto valor de resíduo;

Com base nos resultados da Tabela 4.35, os parâmetros com nível de significância menor que 10% na análise *t-Student* foram considerados significativos. Para a escolha do melhor modelo de inibição, levou-se em consideração os significados físicos e estatísticos dos parâmetros, o maior valor do coeficiente de determinação (R^2) e o menor valor de soma de quadrados de resíduos. Para o modelo de inibição mista linear, verifica-se que o parâmetro α apresentou valor extremamente alto (da ordem de 300000) com valor-p maior que 10%, ou seja, não significativo estatisticamente e fisicamente. Substituindo este valor do parâmetro α de na Equação 3.19 o termo $(I / \alpha * K_i)$ tende a zero, transformando-se na Equação 3.16 do modelo de inibição competitiva. Com isto, eliminou-se este tipo de inibição como o ajuste ideal para a modelagem de inibição pela galactose. Para o modelo parcialmente não competitivo, observa-se a não significância física e estatística do parâmetro β . O modelo de inibição incompetitivo, apesar de apresentar alto valor de R^2 , foi eliminado da escolha de

melhor ajuste de inibição por apresentar o parâmetros K_i da ordem de 3000000 e com valor-p maior que 10%. Entre os outros dois modelos, o modelo de inibição não competitivo apresentou o maior valor de R^2 e a menor soma de quadrados de resíduos, porém o parâmetro K_i apresentou valor-p maior que 10%, tornando o modelo fisicamente inválido. Portanto, pela análise dos coeficientes de determinação, pelos valores das somas dos quadrados dos desvios, pela significância dos parâmetros pela análise *t-Student* e pelo significado físico dos mesmos, o modelo que melhor se ajustou foi inibição competitiva pela galactose, confirmando o mesmo resultado obtido para a enzima na forma livre. O ajuste do modelo inibição competitiva (Equação 3.16) pela galactose está apresentado nas Figura 4.86 na forma de superfície de resposta. Na Figura 4.87 observa-se que os valores observados experimentalmente estão próximos aos preditos pelos modelos. A Equação 4.26 ilustra a equação do modelo de inibição competitiva com os valores dos parâmetros obtidos.

$$v = \frac{(633,6 * S)}{(S + 16,7 * (1 + (Gal/9,6)))} \quad (4.26)$$

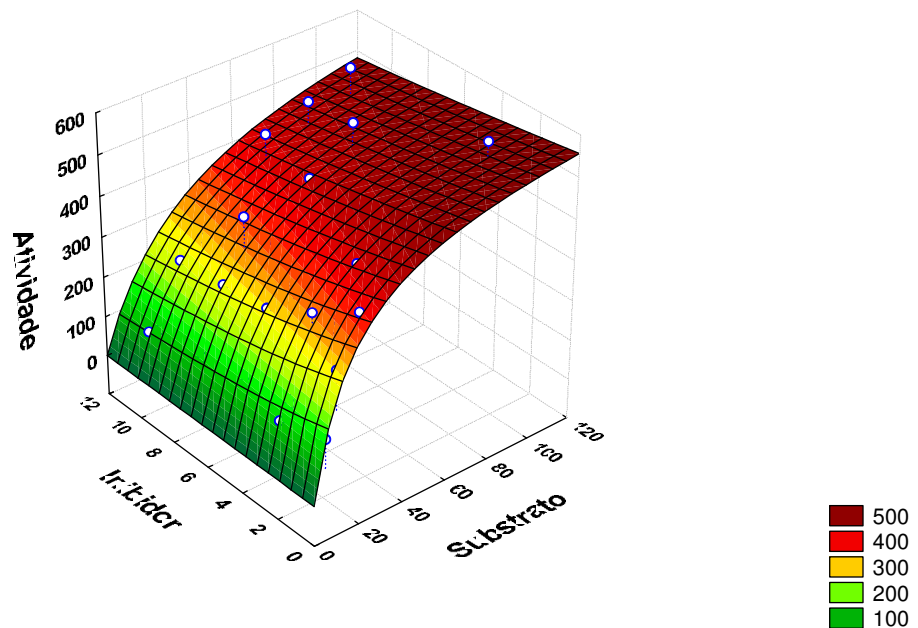


Figura 4.86 – Perfil da influência da concentração de galactose na atividade da enzima livre, pelo modelo de inibição competitiva.

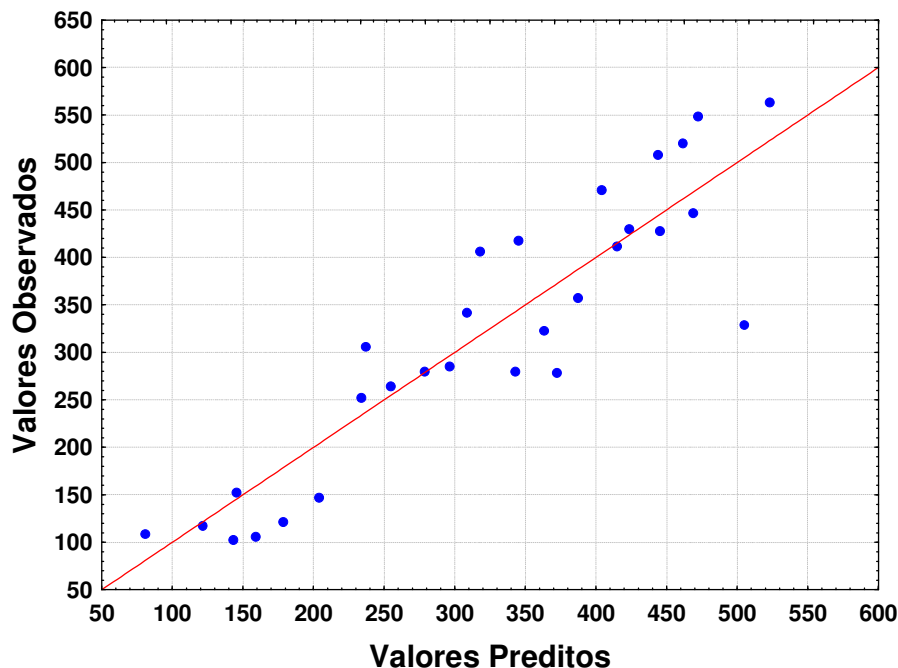


Figura 4.87 - Valores experimentais versus valores previstos pelo modelo de inibição competitiva para a resposta de atividade enzimática.

Os valores de K_m e K_i foram respectivamente 46,78 mM e 53,33 mM para a inibição competitiva. Este mesmo tipo de inibição pela galactose, foi encontrado no trabalho de PORTACCIO *et al.* (1998), onde a enzima β -galactosidase de *Aspergillus oryzae* foi imobilizada em esferas de quitosana e membrana de nylon. No trabalho destes pesquisadores, foi encontrado o valor de K_m de 110 mM e 150 mM e K_i de 5 e 30mM, para a enzima imobilizada em membrana e quitosana respectivamente, utilizando leite como substrato. SHUKLA e CHAPLIN (1993) estudaram uma vasta faixa de concentração de substrato e ao contrário da maioria dos estudos reportados, encontraram o modelo de inibição não competitivo pela galactose. No trabalho de NAKKHARAT e HALTRICH (2006) a enzima β -galactosidase de *Talaromyces thermophilus* foi imobilizada em um suporte insolúvel (Eupergit C) por ligação covalente. Quando o substrato utilizado foi ONPG, observou-se a inibição tanto pela glicose quanto pela galactose. Já quando o substrato utilizado foi a lactose, a inibição ocorreu apenas pela galactose onde os valores de K_m e K_i foram 21 e 355 mM respectivamente. Verifica-se alto valor para K_i fazendo com que a galactose seja um fraco inibidor.

Com o objetivo de confirmar o modelo cinético obtido, fez-se um experimento (em duplicata) nas mesmas condições operacionais citadas nos itens 3.3 e 3.5.2, onde foi determinado o perfil de concentração de lactose em função do tempo. Utilizando o *software*

Scilab, implementou-se um algoritmo que compara os valores experimentais obtidos com os preditos pelo modelo de inibição competitiva. A Tabela 4.36 e a Figura 4.88 ilustram os valores de concentração de substrato, experimentais e os previstos pelo modelo.

Tabela 4.36 – Comprovação do modelo cinético de inibição competitiva para a enzima imobilizada

Tempo (minutos)	S Previsto (g/L)	S experimental (g/L)	P Previsto (g/L)	P experimental (g/L)	Erro (%)
0	50	50	0	0	0
30	42,85	46,01	7,15	3,99	6,87
90	35,39	38,13	14,61	11,87	7,18
210	27,01	28,80	22,99	21,20	6,24
330	21,74	20,69	28,26	29,31	5,53
450	17,95	17,52	32,05	32,48	2,44
570	15,05	10,76	34,95	39,24	39,87
690	12,74	9,72	37,26	40,28	31,05
792	11,13	8,68	38,87	41,32	28,17

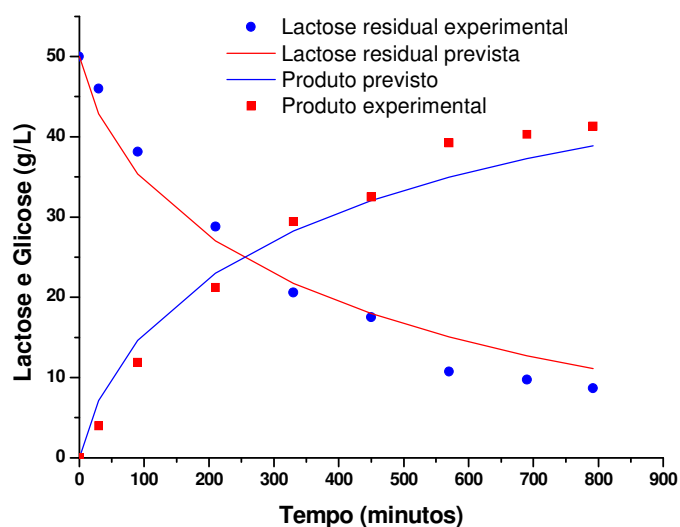


Figura 4.88 - Comprovação do modelo cinético de inibição competitiva para a enzima imobilizada

Observa-se bom ajuste para os dados experimentais podendo-se verificar que o modelo obtido de inibição competitiva pela galactose representa bem a cinética de hidrólise de lactose pela ação da enzima imobilizada. O modelo cinético permite calcular o tempo de reação do processo visando atingir a conversão desejada.

4.3.9 – Influência da concentração de lactose na atividade da β -galactosidase imobilizada

Os resultados experimentais de velocidades iniciais de reação de hidrólise de lactose por β -galactosidase imobilizada, em função da concentração inicial de substrato, na ausência de produtos da reação, obtidos conforme item 3.5.9 são apresentados na Tabela 4.37.

Tabela 4.37 – Velocidades iniciais de reação (v) em função da concentração inicial de substrato (S) para a enzima na forma imobilizada.

Concentração de substrato (g/m^3)	Atividade obtida (U_I)
5000	133,4244
10000	229,4904
15000	324,7932
20000	378,9258
30000	521,4996
40000	561,9078
50000	659,496
60000	673,986
70000	841,716
80000	849,342
90000	863,064
100000	906,522
110000	1000,302
120000	1021,65
140000	969,804

A Figura 4.89 compara os resultados experimentais obtidos no estudo da influência do substrato na atividade enzimática com os ajustados pelo modelo. Por uma regressão não linear, feita pelo o *software Statistica 7.0*, utilizando o método numérico de Levenberg-Marquardt (MORÉ, 1977), estimou-se os valores de V_m e K_m que foram respectivamente 1032,07 U_I e 20624,1 g/m^3 (60,3 mM), ambos parâmetros apresentaram-se significativos ao nível de 5% (valor-p < 0,05), apresentando soma dos quadrados dos desvios ($\Sigma(V-V_{\text{modelo}})^2$) o valor de 129091,97. Observa-se boa aproximação dos pontos experimentais com o ajustado pelo modelo de Michaelis-Menten conforme ilustra a Figura 4.89, onde foi obtido um coeficiente de determinação de 89,28%. Portanto a equação final de Michaelis-Menten está representada na Equação 4.27:

$$v = \frac{1032,07 * S}{20624,1 + S} \quad (4.27)$$

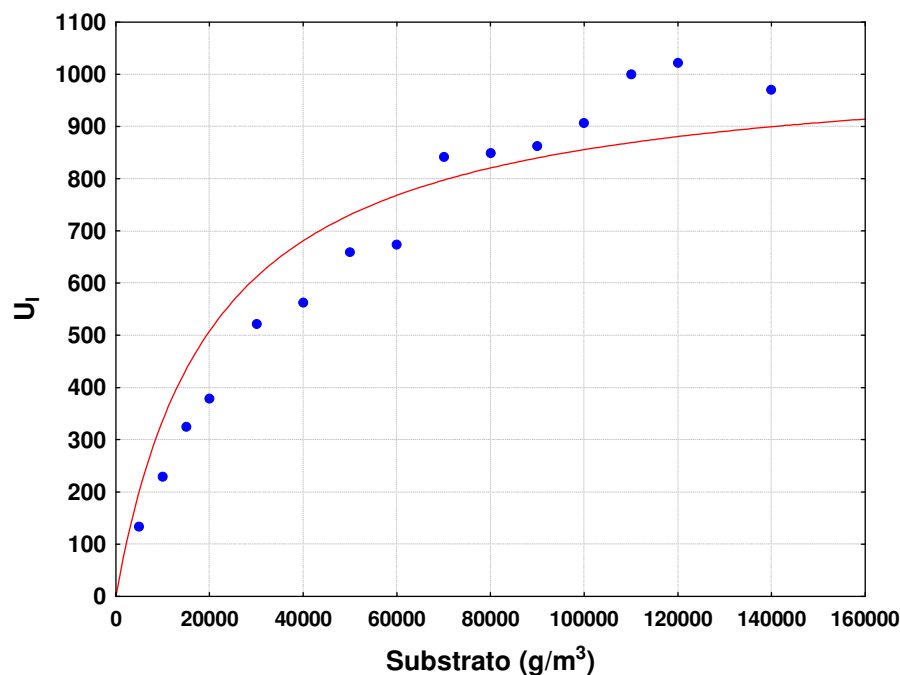


Figura 4.89 - Influência da concentração de substrato na atividade da β -galactosidase imobilizada.

4.3.10 - Estudo da influência da transferência de massa na cinética com a enzima imobilizada

Os efeitos de transferência de massa foram verificados pela estimativa do fator de efetividade (η). A Tabela 4.38 apresenta as condições de operação para a estimativa do fator de efetividade.

Tabela 4.38 - Condições de operação

D(m)	$2,20 \times 10^{-3}$ m
D_{ef}	$2,40 \times 10^{-8}$ m ² /min
V_m	1032,07 g/(min. m ³ cat.)
K_m	20,62 g/L
ϕ	3,18

A estimativa do fator de efetividade (medida numérica da influência à transferência de massa intrapartícula sobre a velocidade da reação observada) da enzima imobilizada foi realizada pela integração da Equação 3.28. Devido às condições de operação do sistema em meio agitado, a resistência à transferência de massa externa na reação foi desprezada (JEISON *et al.* 2003; TRUBIANO e ERRAZU, 2006), assim a concentração de lactose na superfície da partícula foi considerada igual à do seio da solução (S_0). Para calcular os perfis

de concentração de lactose no interior das partículas de enzima imobilizada, utilizou-se a Equação 3.30, conforme item 3.10. As Figuras 4.90 e 4.91 mostram os perfis de concentração de substrato no interior da partícula de alginato com a enzima imobilizada obtidos para o cálculo do fator de efetividade.

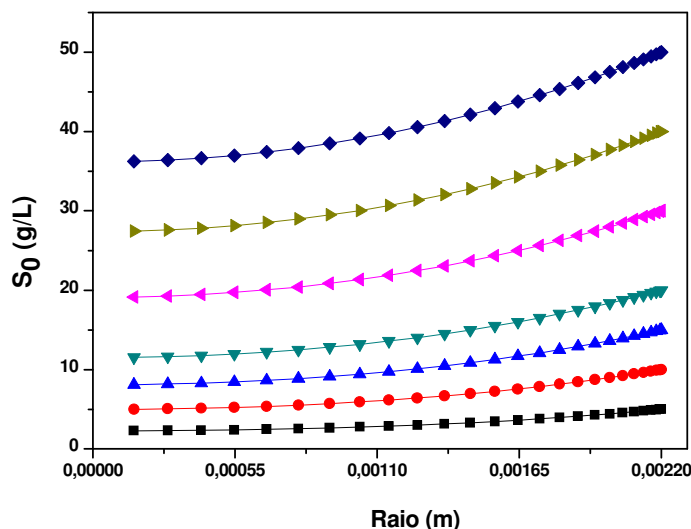


Figura 4.90 – Concentração de substrato para cada valor de S_0 em função da posição radial na partícula para as concentrações de 5 a 60g/L.

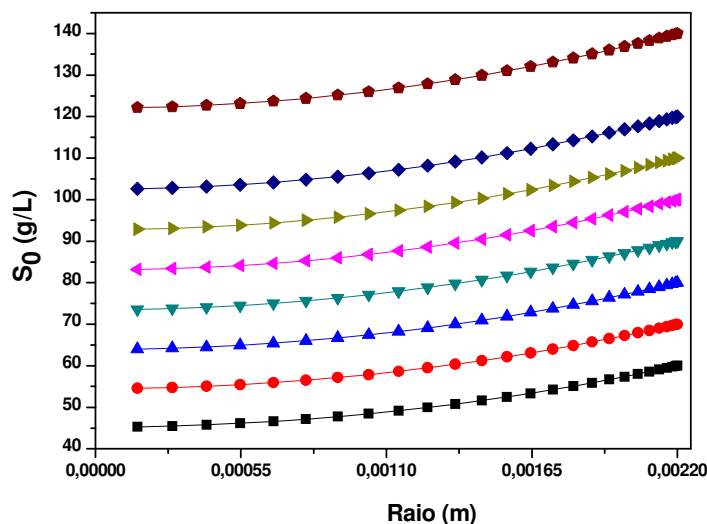


Figura 4.91 – Concentração de substrato para cada S_0 em função da posição radial na partícula para as concentrações de 70 a 140g/L

Os valores do fator de efetividade (η) calculados para as diferentes concentrações iniciais de substrato (S_0) estão apresentados na Figura 4.92. O módulo de Thiele (ϕ) utilizado foi calculado pela Equação 2.25.

A Figura 4.92 apresenta a variação do fator de efetividade médio integrado para a cinética de Michaelis-Menten irreversível em função da concentração do substrato no meio

reacional (S_0). Como previsto, o fator de efetividade tende ao valor máximo, igual a um quando a concentração do substrato aumenta. Os valores do fator de efetividade apresentados na Figura 4.92 indicam baixa resistência à transferência de massa na reação utilizando β -galactosidase de *Aspergillus oryzae* imobilizada em alginato com gelatina e glutaraldeído.

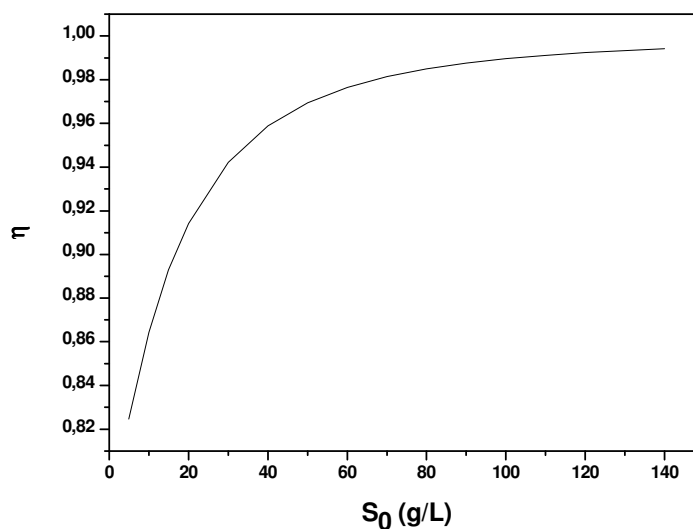


Figura 4.92- Fator de efetividade em função da concentração do substrato no meio reacional

Mesmo com altos valores para o fator de efetividade, nota-se que quanto menor a concentração de substrato, mais importante foi o efeito difusional, pois a velocidade de reação tornou-se mais sensível. Este fato pode ser explicado devido aos problemas difusionais que ocorrerem em consequência de atrasos no transporte de substrato para o interior da partícula, fazendo com que a concentração no interior das mesmas seja menor que a concentração de substrato na superfície. As condições de operação são perfeitamente válidas principalmente para as maiores concentrações de substrato. A maior resistência à transferência de massa no processo relativo à Figura 4.92 (17,5%) ocorreu na condição de menor concentração de substrato. Para determinados valores de V_m , torna-se de interesse operar com tamanho de partícula tão pequeno quanto possível, para reduzir as limitações de transferência de massa. Os baixos limites de tamanho das partículas serão ditados pelas considerações hidrodinâmicas dentro do reator. Testes de sensibilidade paramétrica permitem avaliar a influência relativa do valor da difusividade efetiva sobre o resultado da simulação.

4.4– Comparação entre resultados da enzima na forma livre e Imobilizada

4.4.1 - Influência do pH na atividade da β -galactosidase livre e imobilizada

A atividade enzimática é marcadamente afetada pelas condições ambientais, especialmente pelo pH da fase aquosa devido a natureza da proteína. Quando a enzima é imobilizada, alterações no pH ótimo comparado com a forma livre pode ocorrer ou não (KENNEDY, 1987). As mudanças no pH ótimo e na curva de pH-atividade dependem da carga da molécula de proteína da enzima e/ou do suporte.

Para a forma solúvel, o pH ótimo obtido foi de 4,5 conforme descrito no item 4.2.1. Para a forma imobilizada o pH ótimo foi obtido por um planejamento estatístico e o valor foi de 5. Observa-se um deslocamento do pH ótimo da enzima imobilizada em relação a livre. Este deslocamento é aparente, visto que, se o suporte contendo a enzima está carregado de cátions ou ânions, o pH no seu interior difere da solução exterior, isto podendo ser caracterizado por um fenômeno de partição de prótons. Se o suporte for carregado positivamente, o pH ótimo para a enzima imobilizada será menor que o pH da livre, e vice versa (CABRAL, 1989).

ATES e MEHMETOGLU (1996) observaram uma faixa ótima de pH de 4 a 4,9 para as formas livre e imobilizada da enzima β -galactosidase de *Aspergillus oryzae*. Verificaram ainda comprometimento da atividade enzimática em valores de pH alcalinos, indicando que a enzima imobilizada em alginato de cobalto foi mais estável em valores de pH ácidos. GUPTA e ROY (2003) verificaram alteração no pH de 6,5 para 7,0 devido a imobilização covalente da enzima β -galactosidase de *Kluyveromyces fragilis* em esferas de celulose. Estas mudanças são normalmente atribuídas à carga da matriz. Já no trabalho de TANRISEVEN e DOGAN (2002), não observou-se diferenças nos valores de pH entre as formas livre e imobilizada de β -galactosidase de *Aspergillus oryzae*.

4.4.2 - Influência da temperatura na atividade da β -galactosidase livre e imobilizada

Alterações na temperatura de máxima atividade quando se realiza o processo de imobilização, pode ocorrer ou não. Para as enzimas imobilizadas por entrelaçamento em gel e em alguns casos por ligação covalente ou iônica, esta temperatura pode ser aumentada com relação à forma nativa. Isto se deve a efeitos difusionais nos casos de imobilização por entrelaçamento ou ligações a suportes porosos, o qual protege a enzima contra a desnaturação por calor (KENNEDY, 1987).

Neste trabalho observa-se um perfil muito similar entre as duas formas de enzima, podendo observar que o processo de imobilização não implicou em alterações significativas da temperatura na atividade da enzima. Para a enzima livre, na faixa de temperatura estudada

de 10 a 70°C, a etapa de ativação térmica se dá no intervalo de 10 a 55°C, onde a temperatura que forneceu a maior atividade foi de 55°C. Já para a enzima imobilizada, a temperatura de maior atividade enzimática foi 60°C. Verifica-se aqui a concordância no valor desta temperatura encontrada neste experimento com aquele obtido no planejamento experimental, conforme item 4.3.4. A diferença nos valores das temperaturas ótimas para a enzima livre e imobilizada pode ser devido a efeitos difusionais, em que o aumento da temperatura no seio da solução aumenta a transferência de substrato até a enzima imobilizada (ZHOU e CHEN, 2001). A Figura 4.93 ilustra aumento da atividade com o aumento da temperatura até 55°C e 60°C, respectivamente, para as formas livre e imobilizadas. Após estas temperaturas, observa-se queda na atividade enzimática ocorrendo a desnaturação da enzima.

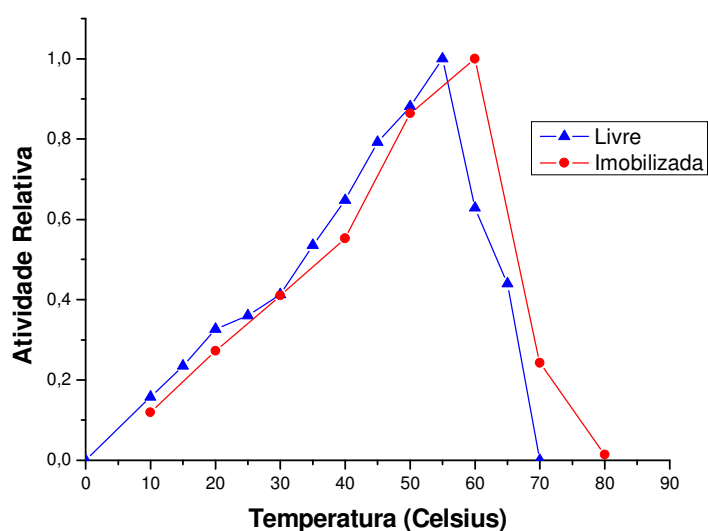


Figura 4.93 – Influência da temperatura na atividade enzimática para as formas livre e imobilizada

Estes resultados obtidos mostram que a enzima imobilizada apresenta uma maior tolerância em relação a temperatura, quando comparada a forma solúvel (ZHOU e CHEN, 2001). HUSAIN e HAIDER (2007) imobilizaram a mesma enzima utilizada neste trabalho em concanavalin A insolúvel com ligação cruzada com glutaraldeído e não observaram alteração nos valores de temperatura de máxima atividade entre as formas livre e imobilizadas, o mesmo acontecendo com o trabalho de TANRISEVEN e DOGAN (2002) utilizando a mesma enzima. No trabalho de GUPTA e ROY (2003), não ocorreu alteração da temperatura de máxima atividade, mas a partir deste valor, observou-se que a queda de atividade foi maior para a forma livre.

Baseado nos resultados de atividade enzimática em função da temperatura, para faixa de ativação da enzima, para as formas livre e imobilizada, foram determinadas as energias de ativação da reação de hidrólise utilizando a equação de Arrhenius. Os efeitos difusionais, os quais protegem a enzima imobilizada contra a desnaturação pelo calor, leva a enzima imobilizada a ter menores valores das energias de ativação e desativação térmicas. Com isto, enzimas imobilizadas por métodos de ligação ao suporte por matrizes porosas ou por entrelaçamento em gel, devem teoricamente, apresentar menor energia de ativação. Porém em alguns casos, a energia de ativação da forma imobilizada foi a mesma ou maior que a da forma nativa da enzima (KENNEDY, 1987).

Neste trabalho, as energias de ativação foram 6,9 kcal/mol e 7,7 kcal/mol para a enzima livre e imobilizada respectivamente. Estes valores próximos sugerem uma pequena resistência à transferência de substrato através das partículas de enzima imobilizada. Em casos de matrizes não porosas, onde a enzima é imobilizada na superfície externa das partículas, a energia de ativação para ambas as formas apresentam valores próximos (DAVID *et al.* 2006).

4.4.3 - Estudo da estabilidade da enzima livre e imobilizada em relação ao pH

Na Figura 4.94 são representadas as atividades relativas, A_i/A_0 , para as duas formas de enzima utilizadas neste trabalho, definida pela relação entre a atividade após 18 horas de incubação e a inicial.

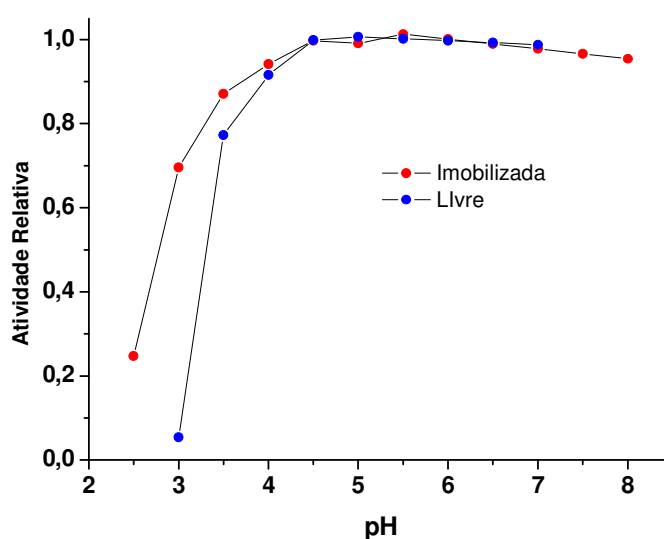


Figura 4.94 – Estabilidade enzimática em relação ao pH para as formas livre e imobilizada

A estabilidade da enzima em relação ao pH, tanto da forma livre quanto da imobilizada apresentaram faixas comuns de estabilidade, de 4,5 a 7,0, com relação a atividade inicial (Ao), determinada a pH 4,5. Ambas as formas da enzima apresentaram-se estáveis nos valores de pH de máxima atividade.

4.4.4 - Estudo da estabilidade térmica da enzima livre e imobilizada

Estudos da estabilidade térmica de várias enzimas mostraram que pode acontecer casos de aumento, diminuição ou não alteração na estabilidade térmica ao imobilizar enzimas. Contudo, não foi estabelecido uma correlação entre estabilidade térmica e método de imobilização, porém, observou-se que o método de entrelaçamento leva a uma melhoria da estabilidade KENNEDY (1987). Nas Figuras 4.95 a 4.101 observa-se o perfil de estabilidade térmica para as temperaturas de 65, 63, 61, 59, 57, 55 e 53°C para as formas livre e imobilizada de β -galactosidase.

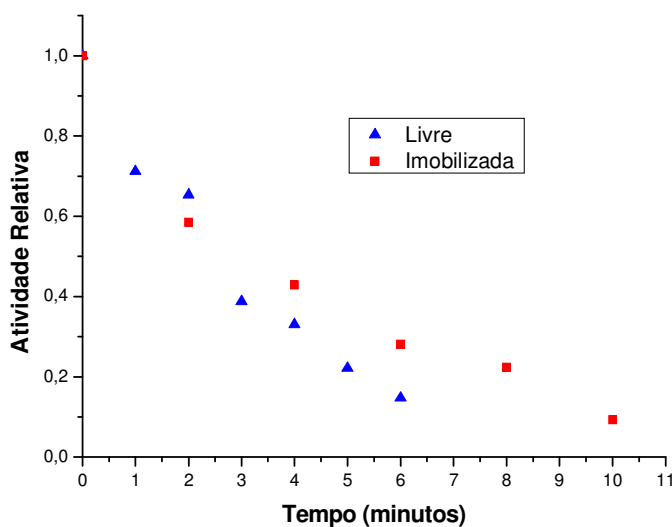


Figura 4.95 – Dados Experimentais de estabilidade térmica para a enzima em ambas as formas à 65°C.

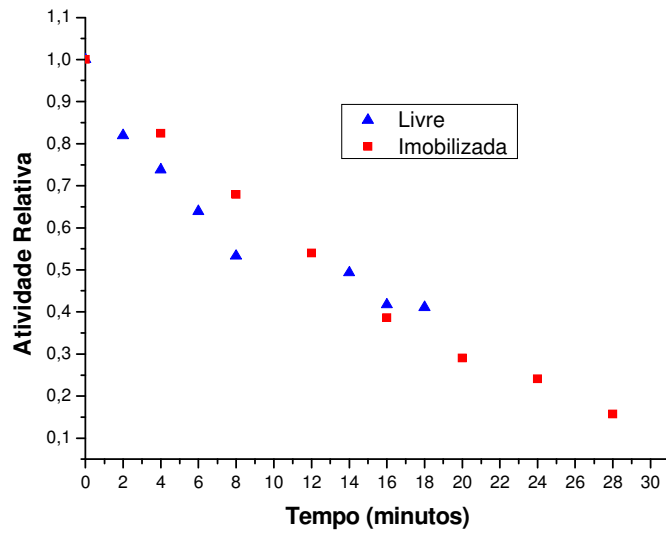


Figura 4.96 – Dados Experimentais de estabilidade térmica para a enzima em ambas as formas à 63°C.

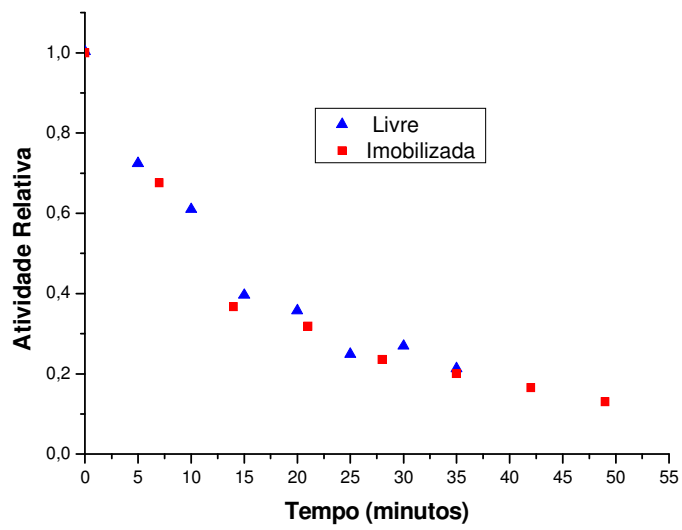


Figura 4.97 – Dados Experimentais de estabilidade térmica para a enzima em ambas as formas à 61°C.

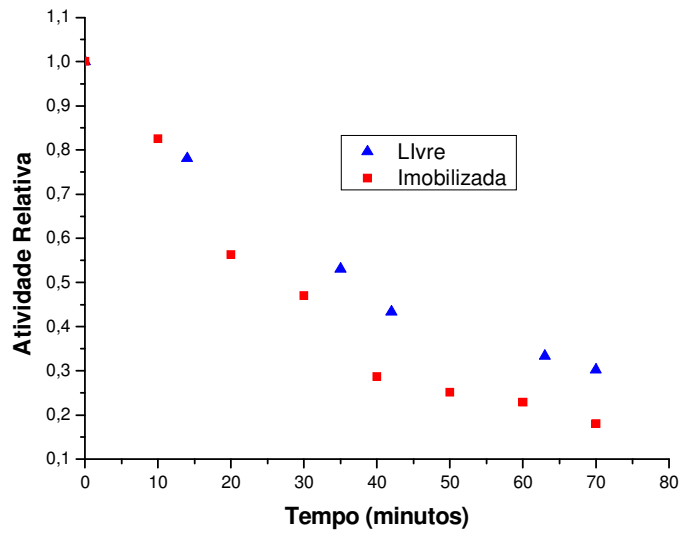


Figura 4.98 – Dados Experimentais de estabilidade térmica para a enzima em ambas as formas à 59°C.

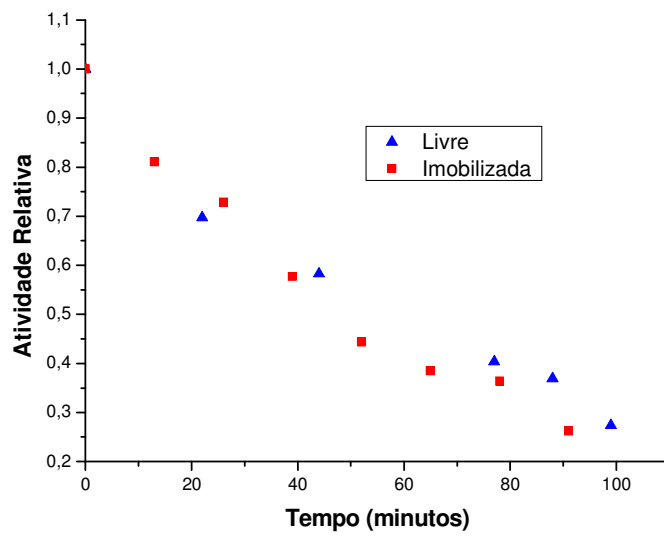


Figura 4.99 – Dados Experimentais de estabilidade térmica para a enzima em ambas as formas à 57°C.

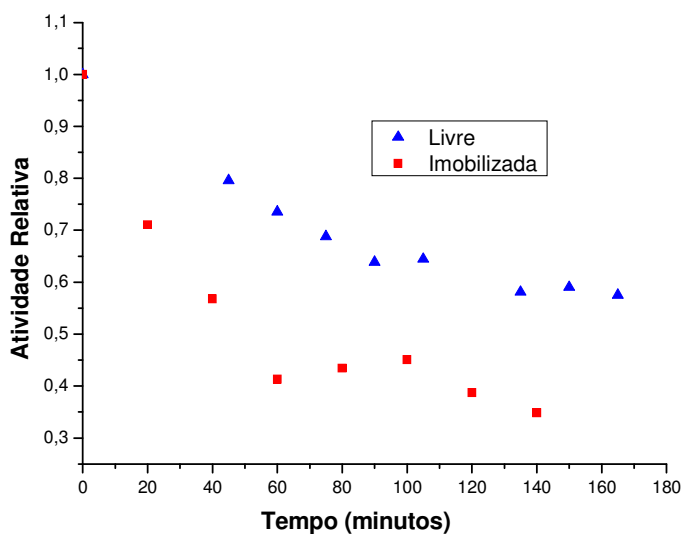


Figura 4.100 – Dados Experimentais de estabilidade térmica para a enzima em ambas as formas à 55°C.

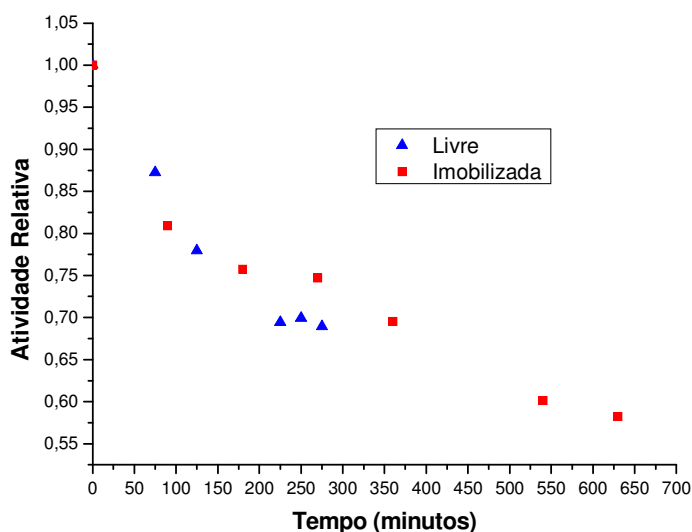


Figura 4.101 – Dados Experimentais de estabilidade térmica para a enzima em ambas as formas à 53°C.

Observando as Figuras 4.95 a 4.101, para as temperaturas estudadas de 65, 63 e 61°C, a enzima na forma imobilizada apresentou-se levemente mais estável.

A Tabela 4.39 ilustra uma comparação entre os valores de k_d e tempo de meia vida para cada uma das temperaturas estudadas entre as enzimas nas formas livre e imobilizada. Observa-se que para as temperaturas de 65 e 63°C, os tempos de meia vida para a enzima livre foram levemente inferiores comparados com o da enzima imobilizada. Para a temperatura de 53°C o tempo de meia vida para a forma imobilizada foi bastante superior,

quando comparado com a enzima na forma solúvel. Este fato implica em boa estabilidade térmica do biocatalisador imobilizado.

Tabela 4.39 – Comparação entre os valores de k_d e tempo de meia vida para cada uma das temperaturas estudadas entre as enzimas na forma livre e imobilizada

Temperatura	LIVRE		IMOBILIZADA	
	k_d (min^{-1})	$t_{1/2}$ (min)	k_d (min^{-1})	$t_{1/2}$ (min)
65°C	0,2881	2,4	0,2178	3,18
63°C	0,0593	11,68	0,0574	12,07
61°C	0,0519	13,59	0,0535	12,95
59°C	0,018	38,5	0,026	26,66
57°C	0,0124	57,7	0,014	49,51
55°C	0,004	177,7	0,0086	80,59
53°C	0,0015	463	0,0009	770,16

4.4.5 – Estudo comparativo da cinética de hidrólise de lactose por Michaelis-Menten pela enzima livre e imobilizada

O estudo da influência da concentração de substrato na hidrólise de β -galactosidase para ambas formas de enzima se ajustaram bem ao Modelo de Michaelis-Menten. Os valores de K_m para a forma livre e imobilizada respectivamente foram de 52,13 e 60,30 mM. De acordo com PRASHANTH e MULIMANI (2005) e RESHMI *et al.* (2007), este aumento no valor de K_m pode ser parcialmente atribuído a resistência a transferência de massa do substrato para o meio de imobilização e ainda uma diminuição da afinidade da enzima pelo substrato, no qual pode ser devido aos efeitos difusionais de transferência de massa intrapartícula. Estes autores reportam ainda que a baixa difusão é característica de sistemas que utilizam alginato como meio de imobilização devido a presença de altas ligações cruzadas as quais limitam a velocidade de permeação de substrato e produto.

4.4.6 - Estudo comparativo da cinética de hidrólise de lactose pela enzima livre e imobilizada

O modelo de inibição competitiva pela galactose foi o que melhor se ajustou aos resultados experimentais de hidrólise de lactose em presença dos produtos da reação. A Tabela 4.40 ilustra os valores dos parâmetros cinéticos K_m e K_i obtidos para ambas as formas.

Tabela 4.40 – Parâmetros cinéticos da inibição competitiva

Forma	K_m (g/L)	K_i
LIVRE	17,61	1,015
IMOBILIZADA	16,7	9,6

Observa-se valor muito próximo para o parâmetro K_m entre as duas formas de enzima, mostrando que ambas possuem praticamente a mesma afinidade pelo substrato. Para o parâmetro K_i , observou-se aumento de 9 vezes para a forma imobilizada, implicando dizer que a inibição pela galactose foi menor para a forma imobilizada.