



Isolamento de microrganismos produtores de β -galactosidase e aproveitamento para a produção de prebióticos

SUPORTE FINANCEIRO



ISABELA THOMAZELLI¹, ANA ELIZABETH C. FAI¹, GLÁUCIA MARIA PASTORE¹

¹ Laboratório de Bioaromas, Departamento de Ciência de Alimentos, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Caixa Postal 6121, Cep 13083-862, Campinas, SP, Brasil. PIBIC/CNPq
Palavras – chave: prebióticos, galacto-oligosacarídeos, β -galactosidase

INTRODUÇÃO

O apelo por produtos com características de qualidade que aportem ganhos fisiológicos aos consumidores, além das exigidas vantagens nutricionais, é a nova fronteira de expansão no mercado de alimentos. Nesse contexto, os ingredientes prebióticos, tais como os galactooligosacarídeos, são conceitos novos e estimulantes (GOS). Estes açúcares não convencionais são produzidos a partir de soluções com altas concentrações de lactose, por atividade de transgalactosilação, pela β -galactosidase (EC3.2.1.23), a qual pode ser extraída de diversas fontes, sendo a microbiana a mais usual. Para a síntese de GOS pode-se utilizar células vivas, a partir da fermentação do meio, bem como fazer-se uso da β -galactosidase extraída previamente. Este projeto teve por objetivo a síntese do prebiótico GOS a partir de *Scopulariopsis* sp, proveniente da coleção do Laboratório de Bioaromas/FEA/UNICAMP. O estudo visou, ainda, a síntese de oligossacarídeos a partir de novas linhagens, bem como estudar alguns parâmetros que afetam o processo de obtenção de GOS.

MATERIAIS E MÉTODOS

Para obtenção da enzima β -galactosidase, utilizou-se o extrato bruto de *Scopulariopsis* sp, isolado por Pastore e Park (1979) segundo a metodologia de Santos, Simiqueli e Pastore (2009). Os estudos de atividade enzimática, pH e temperatura ótima foram realizados utilizando o substrato sintético o-nitrofenil β -D-galactopiranosídeo (ONPG), segundo o FOOD CHEMICAL CODEX (1981). A velocidade máxima e a constante de Michaelis-Menten foram obtidas a partir do método Lineweaver-Burk. A produção GOS foi realizada sob agitação constante, utilizando 40U de extrato bruto enzimático por mL de solução de lactose a 40% (p/v).

Foi realizado um *screening* de microrganismos produtores de GOS e frutooligosacarídeos (FOS) em frutas diversas devidamente higienizadas, segundo Pereira, Azevedo & Petrini (1993), selecionando-se uma linhagem de levedura produtora de GOS isolada de pêssigo (*Prunus persica*). Para a síntese de GOS utilizou-se uma solução de lactose 30% (p/v) suplementada de extrato de levedura e uréia (pH 8,0/ 30°C/24h/150 rpm). Para otimizar a produção foi realizado um delineamento composto central rotacional (DCCR) sendo que os resultados foram analisados no programa Statistica™

Os GOS obtidos foram analisados através da técnica de cromatografia de alta eficiência por troca iônica acoplada.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

As características verificadas no extrato bruto enzimático produzido por *Scopulariopsis* sp estão descritas na tabela 1.

Parâmetros	
Atividade enzimática (U/mg)	1,45
Temperatura ótima (°C)	50,0
pH ótimo	5,00
Km (μ M)	4,12
V máx (μ mol ONP/min)	5,18

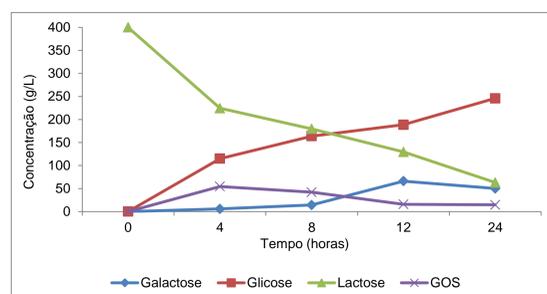


Tabela 1: Caracterização de β -galactosidase de *Scopulariopsis* sp

Figura 1: Concentração dos carboidratos durante 24 horas de síntese de galactooligosacarídeos em batelada.

Os produtos formados durante a reação foram analisados através de cromatografia de troca iônica nas proporções indicadas na Figura 1. A produção máxima de GOS deu-se após 4h de reação, com rendimento e produtividade de 13,66 g/L.h e 13,66%, respectivamente. Observa-se, neste caso, que ao prolongar o tempo de reação, houve diminuição na concentração de GOS. Esse resultado se deve, principalmente, à formação de GOS como produto intermediário da hidrólise conduzida pela β -galactosidase, que é dominante no início da reação (MATELLA, DOLAN & LEE, 2006).

Para a síntese de GOS a partir de um processo fermentativo com a levedura isolada a melhor combinação, na faixa de estudo avaliada (Tabela 2), foi observada nas condições de 20% de lactose e 2% de extrato de levedura (Tabela 3).

CONCLUSÕES

O rendimento de ambos os microrganismos é semelhante e isto se explica porque as concentrações de lactose utilizadas foram diferentes. Por outro lado o processo de síntese de GOS pela levedura é mais simples e apresenta um menor custo econômico. Mais estudos são necessários para otimizar a síntese de GOS pelos microrganismos estudados neste projeto, explorando ao máximo os efeitos dos parâmetros intrínsecos ao substrato para a síntese deste produto e as condições de cultivo.

Ensaio	Lactose (%)	Extrato de levedura (%)	Rendimento GOS (%)
1	-1 (13%)	-1 (2,8%)	11,99
2	+1 (27%)	-1 (2,8%)	11,30
3	-1 (13%)	+1 (5,2%)	11,00
4	+1 (27%)	+1 (5,2%)	8,91
5	-1,41 (10%)	0 (4%)	10,20
6	+1,41 (30%)	0 (4%)	8,30
7	0 (20%)	-1,41 (2%)	16,58
8	0 (20%)	+1,41 (6%)	10,91
9	0 (20%)	0 (4%)	10,20
10	0 (20%)	0 (4%)	10,69
11	0 (20%)	0 (4%)	9,93

Tabela 2: Matriz dos experimentos completa e rendimentos GOS (%)

Fonte de variação	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Quadrado médio	Fcal	F tab	Fcal/F tab
Regressão	39,11	1	39,11	48,95	5,12	9,56
Resíduo	7,19	9	0,79			
Total	46,30	10	10			

Tabela 3: Tabela de ANOVA para rendimento de GOS (%)

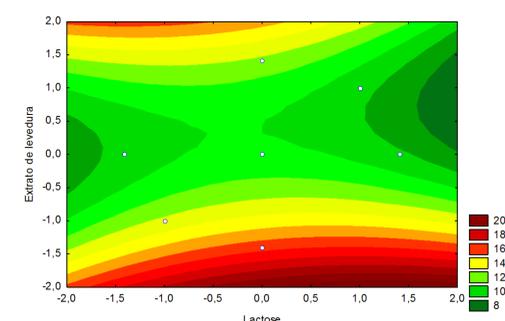


Figura 3: Contorno das variáveis dependentes codificadas