



PRODUÇÃO, PURIFICAÇÃO DA ENZIMA β - GALACTOSIDASE DE *SCOPULARIOPSIS SP* POR FRACIONAMENTO DE ESPUMA E SUA APLICAÇÃO NA PRODUÇÃO DE PREBIÓTICOS.

Renata A. I. Rodrigues; Rosângela Santos; Gláucia M. Pastore
renatafea05@gmail.com



LABORATÓRIO BIOAROMAS – FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS – UNICAMP
Agência Financiadora: PIBIC/CNPq



Palavras- Chave: B-galactosidase ; Purificação; Galactoligossacarídeo.

1. INTRODUÇÃO: LACTASES E SUAS APLICAÇÕES

O interesse pela produção industrial de b-galactosidase, comumente chamada de lactase, aumentou muito nos últimos anos devido ao amplo potencial de aplicação destas, dado que esta enzima é responsável pela hidrólise da lactose, o que confere uma melhora na solubilidade e digestibilidade do leite e derivados lácteos, ideal para consumidores intolerantes à lactose. Além disso, produzem galactooligossacarídeos (GOS), carboidratos não digeríveis, resistentes às enzimas digestivas, e fermentados por bifidobactérias, que conferem grandes benefícios à saúde.

A purificação da lactase obtida de *Scopulariopsis sp* por fracionamento em coluna de espuma é uma técnica que visa diminuir o uso de métodos de concentração que geram uma grande quantidade de resíduos para precipitar o extrato bruto, como os solventes orgânicos, no entanto a literatura sobre o uso dessa técnica é bastante restrita.

O objetivo deste trabalho foi estudar o efeito de diferentes valores de pH e surfactantes na recuperação da atividade enzimática da b-galactosidase, por fracionamento em coluna de espuma.

2. METODOLOGIA

2.1. MICRORGANISMO UTILIZADO

Como fonte da enzima β -galactosidase, foi utilizado o fungo *Scopulariopsis sp*.

2.2. PREPARO DO EXTRATO ENZIMÁTICO

O fungo foi cultivado em fermentação semi-sólida em meio contendo farelo de trigo e água na proporção de 1:1 (p/v).

2.3. PURIFICAÇÃO DA B-GALACTOSIDASE

2.3.1. FRACIONAMENTO EM COLUNA DE ESPUMA

A recuperação da atividade enzimática da b-galactosidase da solução enzimática bruta foi estudada variando os valores de pH (5,0 a 7,0). Todos os outros parâmetros foram mantidos constantes: 60 mL/min N_2 , 18 ± 2 °C, 70 mL de solução enzimática bruta e 20 mg de surfactante. Os surfactantes utilizados nos experimentos foram o Triton X-114 e o Tween 80.



Figura 1. Coluna de espuma

2.3.2. DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ENZIMÁTICA

A atividade da β -galactosidase foi determinada usando o substrato sintético o-nitrofenil β -D-galactopiranosídeo (ONPG) como substrato.

2.3.3. EFICIÊNCIA DO FRACIONAMENTO

A eficiência do fracionamento por espuma foi avaliada pelo cálculo da taxa de recuperação da atividade enzimática na espuma (R_E em %) e no retido (R_R em %) em relação a atividade inicial, pelas seguintes equações:

$$R_E = \frac{\text{atividade total [U]}_{\text{espuma}}}{\text{atividade total [U]}_{\text{inicial}}} \times 100\%$$

$$R_R = \frac{\text{atividade total [U]}_{\text{retido}}}{\text{atividade total [U]}_{\text{inicial}}} \times 100\%$$

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

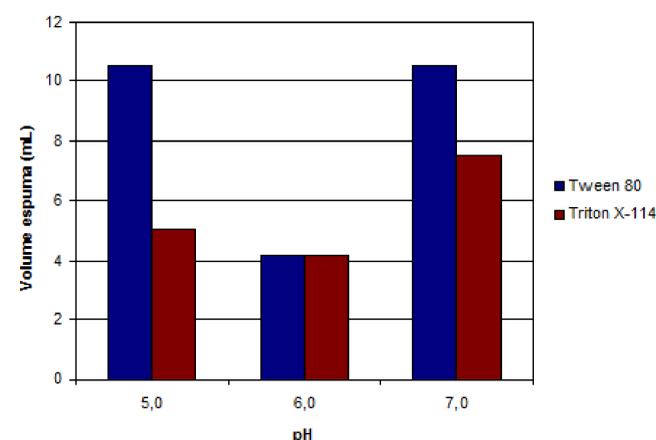


Figura 2. Volume de espuma obtido por Tween 80 e Triton X-114.

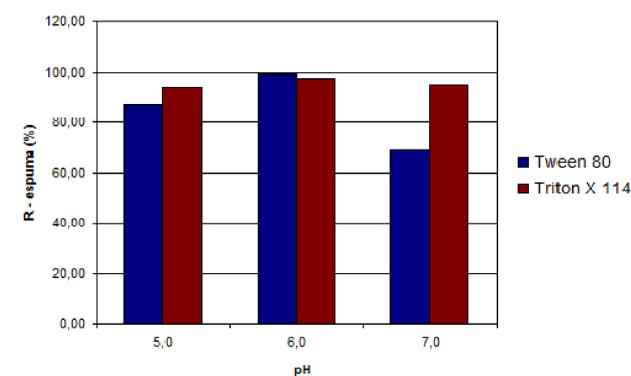


Figura 3. Recuperação da atividade enzimática por Tween 80 e Triton X-114.

5. CONCLUSÃO

Fracionamento por espuma é método simples e de baixo custo, no entanto apresenta baixo rendimento. Neste estudo foi possível verificar que o pH é um parâmetro importante no processo, bem como o tipo de surfactante utilizado. O Triton X-114 foi o surfactante que conseguiu concentrar mais proteína da solução inicial em um volume menor e obter uma boa taxa de recuperação da atividade enzimática na maioria dos valores de pH testados (5,0 e 7,0).