

Marque a opção do tipo de trabalho que está inscrevendo:

Resumo

Relato de Experiência

Relato de Caso

AVALIAÇÃO DO PROCESSO DE HIDRÓLISE ENZIMÁTICA DA LACTOSE COM ENZIMA β -GALACTOSIDASE NA FORMA LIVRE E IMOBILIZADA

AUTOR PRINCIPAL: Fernanda Cemin Kovalski

CO-AUTORES: Brenda Damin, Bruna de Costa, Janaína Fischer

ORIENTADOR: Prof^a Dra. Aline Dettmer

UNIVERSIDADE: Universidade de Passo Fundo

INTRODUÇÃO

O soro lácteo, gerado na fabricação de derivados do leite, é um subproduto de alto valor nutricional que tem como componente básico a lactose, dissacarídeo de consumo limitado por apresentar baixa digestibilidade à parte da população e uso cerceado em produtos lácteos por sua baixa solubilidade. Frente a isso, a hidrólise da lactose com a enzima β -galactosidase, na forma livre ou imobilizada, é uma técnica muito promissora que consiste na quebra da lactose em galactose e glicose e possibilita ampliação no uso comercial e consumo destes produtos (PANESAR et al., 2010; FISCHER, 2010).

Um dos métodos mais usados para imobilização enzimática é a adsorção da enzima em suporte sólido, que proporciona alta atividade catalítica e reaproveitamento do suporte após inativação da enzima (GUIDINI et al., 2011). Este estudo objetiva avaliar a forma ideal para o emprego da enzima na hidrólise da lactose considerando a atividade enzimática obtida e sua eficiência com a imobilização da enzima.

DESENVOLVIMENTO:

Foi utilizada a enzima β -galactosidase *Kluyveromyces lactis* na solução enzimática 5 mL L⁻¹ e, como suporte para sua imobilização, a resina de troca iônica Duolite A568. Como substrato utilizou-se solução de lactose 50 g L⁻¹ em solução tampão fosfato de potássio 1M pH 6,8. O reator utilizado possuía um volume de 250 mL e estava mergulhado em um banho com temperatura controlada de 35 °C e submetido à agitação magnética.

A ativação da resina se fez necessária para possibilitar à resina neutra, ativação de seus ânions, para que, na imobilização, ocorra a troca de carga entre os ânions da resina e os cátions da enzima, e ocorreu de acordo com o proposto pelo fabricante. Para a imobilização da enzima, foram adicionados 0,5 g de resina e 10 mL da solução enzimática em um erlenmeyer, encaminhado à incubadora, que operou com agitação de 50 rpm e temperatura de 30 °C, por 1h. Após isso, houve a separação da resina da solução por filtração e o suporte, agora com a enzima imobilizada, foi lavado com solução tampão.

O ensaio com enzima livre foi realizado no reator anteriormente descrito e nele foram adicionados 100 mL do substrato e 10 mL de solução enzimática. A cada 3 minutos, foram retiradas amostras do meio reacional para avaliar a atividade catalítica, até se atingir o tempo de 15 minutos. Cada amostra era inserida em um tubo de ensaio que era introduzido imediatamente em um banho com água em ebulição por 10 minutos, para inibir a atividade da enzima. Já no ensaio com imobilização enzimática, as enzimas imobilizadas foram adicionadas em uma cesta de aço 100 *mesh*, inseridas no reator e submetidas as mesmas condições e procedimento operacionais. A atividade catalítica de cada experimento foi avaliada a partir de espectrofotometria-VIS para quantificação da glicose pelo método de glicose-oxidase. A unidade de atividade (U) foi estabelecida como grama de glicose por litro do meio por minuto por grama de suporte ($\text{g}_{\text{glicose}} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}_{\text{suporte}}^{-1}$).

A atividade a partir do método das taxas iniciais, para cada reação da hidrólise da lactose, era obtida pela inclinação das equações lineares de concentração de glicose em função do tempo de reação. Os ensaios foram realizados em duplicata e a atividade calculada com a curva padrão elaborada. Os ensaios realizados com a enzima livre demonstraram uma atividade média de 0,7 U, enquanto os com a enzima imobilizada obtiveram uma média de 0,5 U.

Com base nesses resultados, é possível afirmar que há uma atividade catalítica muito próxima com as diferentes utilizações da enzima. Isso mostra que o procedimento de imobilização da enzima no suporte foi eficiente, já que boa parte da atividade catalítica da enzima livre foi mantida posterior à sua imobilização. Diante disso, se fazem necessários mais testes a fim otimizar e tornar o processo mais viável.

CONSIDERAÇÕES FINAIS:

A hidrólise da lactose com utilização da enzima *β -galactosidase* na forma imobilizada apresentou eficiência na atividade enzimática, mostrando-se um processo viável, já que apresenta vantagens em relação ao emprego da enzima livre por possibilitar um melhor controle de processo, conferindo maior estabilidade, bem como uma fácil separação dos produtos e a reutilização do biocatalisador heterogêneo.

REFERÊNCIAS

PANESAR, P. S.; KUMARI, S.; PANESAR, R. Potential Applications of Immobilized β - Galactosidase in Food Processing Industries. *Enzyme Res*, 2010.

FISCHER, J. Hidrólise de lactose por β -galactosidase de *Aspergillus oryzae* Imobilizada em Reator de Leito Fixo. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Uberlândia. Uberlândia, MG; 2010.

GUIDINI, C. Z.; FISCHER, J.; RESENDE, M. M.; CARDOSO, V. L.; RIBEIRO, E. J. β -galactosidase of *Aspergillus oryzae* immobilized in an ion exchange resin combining the ionic-binding and crosslinking methods: Kinetics and stability during the hydrolysis of lactose. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 2011.