

## **PRODUÇÃO DA ENZIMA BETA-GALACTOSIDASE COM ALTA CAPACIDADE DE HIDRÓLISE DA LACTOSE UTILIZANDO LEVEDURA**

Alessandra Bosso (UNIVERSIDADE ESTADUAL DE LONDRINA), Adriana Aparecida Bosso Tomal (UNIVERSIDADE ESTADUAL DE LONDRINA), Lucas Caldeirão (UNIVERSIDADE ESTADUAL DE LONDRINA), Raúl Jorge Hernan Castro Gomez (UNIVERSIDADE ESTADUAL DE LONDRINA); E-mail: alessandrabosso@yahoo.com.br

A  $\beta$ -galactosidase, também denominada de lactase é uma importante enzima utilizada por indivíduos intolerantes à lactose. Sua importância está na capacidade em hidrolisar a lactose presente no leite e em derivados lácteos. Diante do crescente aumento de portadores de intolerância à lactose o objetivo desse trabalho foi produzir a enzima Beta-galactosidase a partir da levedura *Saccharomyces fragilis* IZ 275 e obter um produto com alta capacidade de hidrólise da lactose. A enzima Beta-galactosidase foi produzida pelo cultivo submerso utilizando meio de fermentação composto por sacarose (14 g/L), soro de queijo (17,7 g/L), lactose e glicose (10 g/L), peptona (8,85 g/L), extrato de levedura (5,14 g/L), K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (7 g/L) e MgSO<sub>4</sub> (5 g/L). A fermentação foi conduzida em agitador orbital 180 rpm, 33 °C, pH 6,2 durante 72 horas. Após o período de fermentação o meio foi centrifugado a 4000 g, 10 minutos, 4 °C, o sobrenadante foi descartado e a biomassa resultante foi ressuspensa em tampão fosfato de potássio 0,1 M, pH 6,6 e novamente centrifugada nas mesmas condições acima citadas. Após esse processo a biomassa foi permeabilizada com etanol na concentração de 30 %, temperatura de 35 °C, durante 40 minutos. Em seguida a biomassa permeabilizada foi centrifugada (6000 g, 10 minutos, 5 °C) para a remoção do excesso de solvente. O produto obtido foi liofilizado e armazenado para a realização da análise de hidrólise da lactose. Para determinar a hidrólise da lactose, 10 g/L de células permeabilizadas e liofilizadas foram adicionadas em leite integral. Em seguida a solução de leite integral /células foi levada em geladeira durante 12 horas. A cada 1 hora alíquotas foram retiradas para determinar a porcentagem de hidrólise. Concentração de glicose foi determinada pelo método da glicose oxidase utilizando Kit glicose conforme especificação do fabricante. A absorbância foi medida em espectrofotômetro a 505 nm. A concentração inicial de lactose e a concentração de glicose liberadas foram utilizadas para calcular a porcentagem de hidrólise. Os resultados demonstram que na primeira hora

de reação houve hidrólise da lactose de 46,98 %, tendo um aumento gradativo até atingir 7 horas de reação com 90 % de hidrólise. A partir desse período não foi verificado aumento expressivo, atingindo sua hidrólise máxima (91,37 %) em 12 horas de reação. A partir dos resultados obtidos comprova-se que a enzima Beta-galactosidase produzida a partir da levedura *Saccharomyces fragilis* possui alta capacidade hidrolítica, e que seu uso poderia beneficiar indivíduos intolerantes à lactose no alívio dos sintomas dessa patologia.

**Palavras-chave:** hidrólise, intolerância, lactose, levedura