



Avaliação da eficiência de dois métodos de extração das beta-galactosidases do fungo *Penicillium roqueforti*

Marcele Silva Peixoto^{1*}, Fernanda Costa Silva Santos¹, Gabriel Silva Cruz¹, Layla Matos Valasques¹
Baraquizio Braga Nascimento Júnior¹

¹Departamento de Ciências e Tecnologia, Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Jequié, Bahia, Brasil

*peixotosmarcele@gmail.com

Introdução e Objetivo

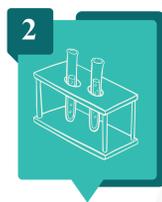
As enzimas, proteínas altamente especializadas, estão no centro de todos os processos bioquímicos, assim podem atuar tanto como eficientes catalisadores das reações nos sistemas biológicos como também na seleção de estruturas químicas devido ao seu caráter específico. A β -galactosidase é uma enzima que acelera a hidrólise da ligação glicosídica β -1,4 da lactose, obtendo como produtos a β -D-galactose e a α -D-glicose. A lactase pode ser obtida a partir de fontes vegetais e de microrganismos como do fungo filamentosso *Penicillium roqueforti* ATCC 10110. Na busca por potenciais de aplicação industriais versáteis, a fim de expandir e otimizar a produção e a aplicabilidade da enzima β -galactosidase na indústria farmacêutica em produtos, excipientes e insumos destinados à intolerantes à lactose, os fungos são ótimos candidatos pois apresentam metabólitos bioativos, entretanto, apesar de vasta gama de estudos, são ainda uma fonte subexplorada. Nesse sentido, esse estudo direcionou-se à análise da eficiência de dois métodos de extração na determinação da atividade enzimática da lactase intracelular do fungo *P. roqueforti*.

Metodologia

A pesquisa realizada possui natureza experimental e quantitativa. A cepa de *P. roqueforti* ATCC 10110 foi cedida pela Coleção de Microrganismos de Referência em Vigilância Sanitária (FIOCRUZ, Rio de Janeiro, Brasil), mantido em Ágar Batata Dextrose (BDA) à temperatura de 4°C.



1 O *P. roqueforti* foi cultivado em meio submerso com lactose e peptona por 5 dias a 27°C;



2 A ruptura celular ocorreu por meio de dois métodos, um mecânico por abrasão com associação de agitador tipo vórtex e pérolas de vidro e outro químico com uso do surfactante não iônico Triton X-100 (5%).



3 O extrato bruto enzimático obtido foi avaliado com uso do substrato ONPG e com leitura em espectrofotômetro (410 nm) e os resultados submetidos a tratamentos estatísticos.

Resultados e Discussão

TABELA 01: Atividade enzimática (UA) em diferentes métodos de extração β -galactosidase intracelular do *P. roqueforti*.

MÉTODO	CONCENTRAÇÃO ($\mu\text{mol/mL}$)	ATIVIDADE ENZIMÁTICA ($\mu\text{mol/min}$)
Vórtex + pérolas de vidro	0,56519469	0,0282597345
Triton X-100 (5%)	1,91917699	0,0959588495

FONTE: Autores (2024).

O uso do surfactante foi mais eficiente na autólise da membrana celular fúngica, uma vez que, apresentou maior valor médio de atividade enzimática. O resultado encontrado está relacionado à composição química anfifílica do Triton X-100, assim apresenta capacidade de interação com as moléculas lipídicas da membrana, perturbando sua estrutura e facilitando a entrada de água, culminando em solubilização da membrana e liberação do conteúdo celular.

Conclusão

A determinação do comportamento analisado permitiu caracterizar o método mais eficaz de extração enzimática para a enzima e para o fungo de interesse. Assim, a partir dos resultados obtidos é possível aplicar planejamento experimental para determinar variáveis ótimas de cultivo e permitir a caracterização química parcial da enzima, a fim de possibilitar futura aplicação na delactosação do leite.

Palavras-chave

Extração enzimática. Fungo filamentosso. Lactase.

Referências

SAHI, T. Hypolactasia and lactase persistence. Historical review and the terminology. *Scand J Gastroenterol*. 1994;29 (Suppl) 202:1-6
VIEIRA GOMES, Débora Cássia et al. Antioxidant, anti-inflammatory and cytotoxic/antitumoral bioactives from the phylum Basidiomycota and their possible mechanisms of action. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, v. 112, n. August 2018, p. 108643, 2019.

Agradecimentos



UESB
Universidade Estadual
do Sudoeste da Bahia



CNPq
Conselho Nacional de Desenvolvimento
Científico e Tecnológico



Labqfar
Laboratório de Biotecnologia
e Farmacologia

Declaramos não haver conflito de interesses.