

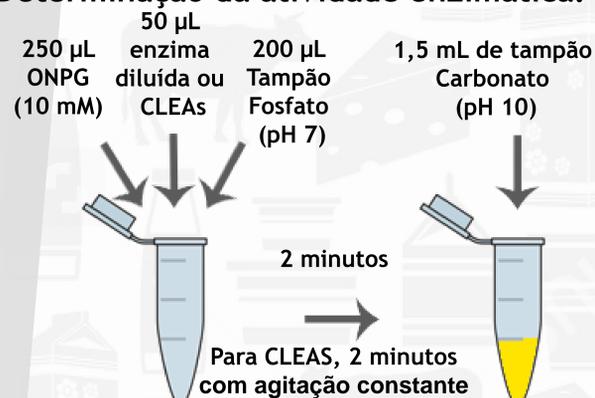
INTRODUÇÃO

Uma das maneiras de hidrolisar a lactose industrialmente, para tornar possível o consumo do leite e produtos lácteos por pessoas intolerantes à lactose, é através da aplicação da enzima β -galactosidase. Uma das formas de permitir que essa enzima seja reutilizável e mais resistente às condições reacionais, é através da sua imobilização. Técnicas de imobilização de enzimas sem uso de suporte, como agregados entrecruzados enzimáticos (CLEAs), estão ganhando atenção como processos econômicos e simples.

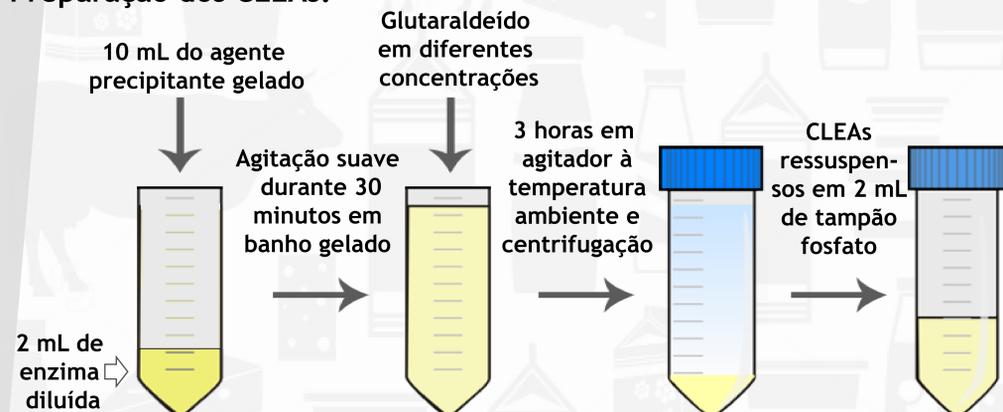
Com o objetivo de encontrar novas maneiras de imobilizar β -galactosidases comerciais para hidrolisar a lactose, o objetivo deste trabalho foi otimizar as preparações de CLEAs de β -galactosidases para a aplicação na hidrólise da lactose do leite e do soro de leite.

MATERIAIS E MÉTODOS

Determinação da atividade enzimática:



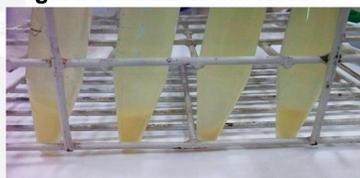
Preparação dos CLEAs:



A atividade recuperada foi calculada da seguinte forma

$$AR (\%) = \frac{\text{Atividade de } \beta\text{-galactosidase nos CLEAs (U)}}{\text{Atividade inicial de } \beta\text{-galactosidase (U)}} \times 100$$

Figura 1 – CLEAs em falcon



Fonte: Autoras (2016)

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Tabela 1 - Análise do efeito da acetona, etanol, isopropanol e sulfato de amônio saturado como agentes precipitantes, testando a atividade recuperada dos CLEAs produzidos.

Solventes	Análise
	Retenção de Atividade (%)
1 - Etanol (30 minutos)	1,76%
2 - Etanol (90 minutos)	2,46%
3 - Etanol (180 minutos)	1,70%
4 - Sulfato de amônio saturado	4,2%
5 - Acetona	0,59%
6 - Isopropanol	0,78%

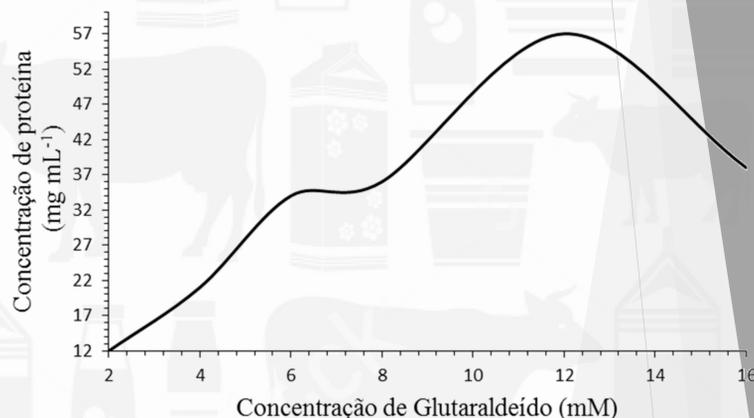
Fonte: Autoras (2016)

Gráfico 1 - Avaliação de seis concentrações de glutaraldeído (10, 25, 50, 75, 100 e 125 mM), usando sulfato de amônio saturado como agente precipitante.



Fonte: Autoras (2016)

Gráfico 2 - Efeito de cinco concentrações de enzima (2, 4, 8, 12 e 16 mg/mL) testadas para a preparação dos CLEAs.



Fonte: Autoras (2016)

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Até o presente momento, foi possível obter as melhores condições em relação ao agente precipitante utilizado e à concentração de enzima e glutaraldeído, gerando CLEAs com atividade de 57 U.g⁻¹. Como perspectiva, pretende-se avaliar a adição de gelatina como aditivo para promover o aumento da atividade recuperada dos CLEAs, além de avaliar sua estabilidade térmica e aplicá-los na hidrólise da lactose do leite e soro de leite.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGYEI, D. LIZHONG, G. 2015. Evaluation of cross-linked enzyme aggregates of Lactobacillus cell-envelope proteinases, for protein degradation. *Food and Bioproducts Processing*. 94: 59-69.
- KHANAHMADI, S., YUSOF, F., AMID, A., MAHMUD, S.S., MAHAT, M.K. 2015. Optimized preparation and characterization of CLEA-lipase from cocoa pod husk. *Journal of Biotechnology* 202: 153-161.
- ORTIZ-SOTO, M.E. RUDINO-PINERA, E. RODRIGUEZ-ALEGRIA M.E. MUNGUÍA, A.L. 2009. Evaluation of cross-linked aggregates from purified *Bacillus subtilis* levan sucrose mutants for fructosylation reactions. *BMC Biotechnol.* 9: 68.
- SCHOEVAART, R. WOLBERS, M. W. GOLUBOVIC, M. OTTENS, M. 2004. Preparation, optimization and structures of cross-linked enzyme aggregates (CLEAs). *Biotechnol. Bioeng.* 87: 754-762.
- WU, J.C. SELVAM, V. TEO, H.H. CHOW, Y. TALUKDER, M.M.R. CHOI, W.J. 2006. Immobilization of *Candida rugosa* lipase by cross-linking with glutaraldehyde followed by entrapment in alginate beads. *Biocatal. Biotransform.* 24: 352-357.

AGRADECIMENTOS

FAPERGS, UFRGS (Laboratório de Enzimologia), UERGS E UFCSPA (Departamento de Nutrição).

Avaliação de precipitantes, avaliação das concentrações de glutaraldeído e efeito da concentração de enzima:

Três solventes orgânicos e um sal inorgânico foram avaliados como agentes precipitantes. Também foram avaliadas concentrações de glutaraldeído variando de 10 a 125 mM e o efeito de cinco concentrações de enzima (2, 4, 8, 12 e 16 mg/mL) na retenção de atividade dos CLEAs.