



## DESENVOLVIMENTO E AVALIAÇÃO DE SISTEMA PARA A PRODUÇÃO DE LEITE LIVRE DE LACTOSE EMPREGANDO LACTASE RECOMBINANTE IMOBILIZADA

*Valentina Jorge Aimi, André Oliveira de Souza Lima.*

Ciências Biológicas e da Saúde

Genética - Genética Molecular e de Microorganismos

O leite é um alimento de alto valor nutricional, possuindo compostos como proteínas e moléculas biológicas essenciais na dieta de muitos mamíferos. Um dos principais carboidratos presentes no leite é a lactose, a qual é um dissacarídeo que, ao ser hidrolisado pela enzima  $\beta$ -galactosidase gera dois monossacarídeos (glicose e galactose), proporcionando a devida absorção intestinal. Indivíduos intolerantes a lactose possuem deficiência da enzima  $\beta$ -galactosidase e precisam se abster de certos alimentos pela não absorção do composto ou realizar a ingestão de produtos livres de lactose. Desta forma, torna-se relevante o desenvolvimento de técnicas para obtenção de um produto sem lactose com um tratamento adequado, visando estratégias que proporcionem uma melhoria na qualidade e um menor gasto monetário durante este processo. Uma das estratégias é a produção de  $\beta$ -galactosidase através de organismos geneticamente modificados. Para tal, o vetor de expressão contendo o gene da  $\beta$ -galactosidase de *Bacillus stratosphericus* foi introduzido em *Escherichia coli*, a fim de obter células capazes de produzir a enzima de interesse. Posteriormente, ocorreu a produção e extração de proteínas recombinantes, assim como a sua purificação por cromatografia líquida de afinidade. Quanto aos resultados, foram realizados os testes de atividade enzimática de forma livre, tanto com a  $\beta$ -galactosidase produzida pelo organismo geneticamente modificado, quanto com a enzima comercial. No teste com indicador colorimétrico p-nitrofenol (pNP), houve reação positiva, quando a enzima teve contato com o substrato (lactose). Notou-se que quanto maior a concentração da enzima, mais rápido obtém-se a reação, comprovada pelo aumento de glicose, de cerca de 1mg/mL para 20mg/mL, a qual foi medida através de uma fita reagente para glicose. Além disso, também foram feitos os testes no leite integral com a enzima livre, onde 1mL da enzima, com concentração de 10mg/mL, foi adicionado em 3mL de leite. Após 10 minutos, o resultado obtido através da leitura da fita reagente evidenciou que o teor de glicose aumentou significativamente, de cerca de 1mg/mL para 2,5mg/mL. Para analisar a capacidade da enzima de forma imobilizada, foi utilizada a lactase comercial. Notou-se que a lactase imobilizada em alginato de sódio mostrou atividade nos testes realizados no sistema adaptado. Neste sistema, os grânulos contendo a lactase foram colocados em uma seringa (SR®) de 20mL, acoplada a uma curta mangueira. No interior da seringa, foi acrescentado 10mL de leite integral e foi medido o teor de glicose com uma fita reagente após 10 e 15 minutos. O resultado obtido mostrou que o teor de glicose aumentou significativamente, de cerca de 1mg/mL (controle), para 5mg/mL (10 minutos) e finalmente para 20mg/mL (15 minutos). A partir destes testes, foi possível notar que o tempo de exposição do leite nas esferas de alginato está relacionada com a maior concentração da enzima imobilizada, onde quanto maior a concentração de enzima, menor o tempo necessário da exposição do leite. A partir de pesquisas realizadas em bancos de dados para comparar as informações funcionais e moleculares da enzima  $\beta$ -galactosidase produzida por *Bacillus stratosphericus* com as enzimas comerciais. Após analisar as sequências proteicas de 195 genes de organismos distintos, notou-se que o organismo *Kluyveromyces lactis*, citado na patente CN110678478A, foi o que teve a maior semelhança com a enzima produzida por *Bacillus stratosphericus*. O sistema de tratamento proposto foi idealizado como um dispositivo portátil para a produção de leite livre de lactose. Por fim, este sistema foi adaptado para a realização dos testes e avaliado quanto a redução de lactose no leite, mostrando-se eficaz. Conclui-se que o modelo de sistema explorado para a obtenção do leite livre de lactose tem potencial para patenteamento e seu produto poderia ser empregado nas diversas indústrias do setor alimentício.

Palavras-chave:  $\beta$ -galactosidase; Organismos Geneticamente Modificados; Biotecnologia; Indústria alimentícia .

Realização



Vice-Reitoria de Pesquisa,  
Pós-Graduação e Extensão

XXI SEMINÁRIO  
DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA  
X Mostra Científica de Integração  
Pós-Graduação e Graduação

4, 5 e 6 de Outubro de 2022



Apoio



Programa de Bolsas de Pesquisa do Art. 171 /FUMDES / UNIEDU / Governo de Santa Catarina / UNIVALI