

# CARACTERIZAÇÃO PARCIAL DA $\beta$ -GALACTOSIDASE DA ESPÉCIE *Ganoderma lucidum*<sup>1</sup>

Vanessa Ribeiro dos Santos<sup>2</sup>; Gildomar Lima Valasques Júnior<sup>3</sup>

## RESUMO

A intolerância à lactose é um problema de saúde que afeta uma parcela significativa da população mundial. Esta condição é consequência da ausência da enzima  $\beta$ -galactosidase (lactase), que desempenha um papel importante na digestão da lactose. Desse modo, indivíduos com intolerância quando ingerem produtos lácteos, por não possuírem a lactase, não conseguem digerir com eficiência a lactose. O setor industrial, especialmente o de alimentos, ampliou o interesse em pesquisas voltadas à obtenção de novas  $\beta$ -galactosidase. Nesse sentido, o uso de fungos é promissor, pois apresentam como vantagens o cultivo em larga escala e a um custo acessível. Quando na presença de um indutor, muitos fungos possuem a capacidade de liberar a lactase de forma eficaz no meio, além de produzirem metabólitos biologicamente ativos. Dentre as espécies de fungos, a *Ganoderma lucidum* se destaca por apresentar atividade específica e apresentarem baixo custo em processos de produção. Este estudo avaliou os parâmetros cinéticos, a influência de sais e a termoestabilidade de uma  $\beta$ -galactosidase obtida de *G. lucidum*. Os resultados visam a aplicação dessa enzima no campo industrial, em especial no setor médico farmacêutico, como alternativa promissora para intolerantes à lactose.

**PALAVRAS-CHAVE:** atividade enzimática,  $\beta$ -galactosidase, influência de sais, parâmetros cinéticos, termoestabilidade.

## PARTIAL CHARACTERIZATION OF $\beta$ -GALACTOSIDASE FROM THE SPECIES *Ganoderma Lucidum*

## ABSTRACT

Lactose intolerance is a health problem that affects a significant portion of the world's population. This condition is a consequence of the absence of the enzyme  $\beta$ -galactosidase (lactase), which plays an important role in the digestion of lactose. Thus, individuals with intolerance are unable to digest lactose efficiently when they eat dairy products because they lack lactase. The industrial sector, especially the food industry, has increased its interest in research aimed at obtaining new  $\beta$ -galactosidase. In this sense, the use of fungi is promising, as they have the advantages of being cultivated on a large scale and at an affordable cost. When in the presence of an inducer, many fungi have the ability to efficiently release lactase into the medium, in addition to producing biologically active metabolites. Among the fungal species, *Ganoderma lucidum* stands out for its specific activity and low-cost production processes. This study evaluated the kinetic parameters, the influence of salts and the thermostability of a  $\beta$ -galactosidase obtained from *G. lucidum*. The results aim to apply this enzyme in the industrial field, especially in the medical pharmaceutical sector, as a promising alternative for lactose intolerants.

---

<sup>1</sup> Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo

<sup>2</sup> Graduanda de Farmácia, Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, 201920329@uesb.edu.br

<sup>3</sup> Doutor em Biotecnologia, Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, gildomar.valasques@uesb.edu.br

KEYWORDS: enzymatic activity;  $\beta$ -galactosidase; enzymes; influence of salts; kinetic parameters; thermostability.

## INTRODUÇÃO

Os microrganismos desempenham um papel fundamental em uma ampla gama de processos biológicos vitais na terra, nesse sentido os fungos filamentosos se destacam. Posto isso, os fungos filamentosos têm virado alvo do setor industrial, principalmente no alimentício, devido ao seu potencial produtor enzimático. Diversos fungos filamentosos, podem produzir a enzima  $\beta$ -galactosidase, que desempenha um papel fundamental na hidrólise da lactose. Esta produção pode ocorrer no meio intracelular ou extracelular. No primeiro caso, é necessária a ruptura da sua parede celular, através de métodos de extração eficientes e que mantenha sua performance catalítica.

As enzimas são proteínas complexas que atuam como catalisadores das reações dos sistemas biológicos, acelerando a velocidade da reação e diminuindo a energia de ativação da mesma. A  $\beta$ -galactosidase pode ser encontrada em espécies do gênero *Ganoderma*, incluindo *G. Lucidum*, conhecido como cogumelo lingzhi. A presença dessa enzima potencializa processos metabólicos de hidrólise, tornando-a relevante no setor industrial, com ênfase na produção de laticínios. Neste contexto, estudos de otimização da produção e da extração de enzimas, com a  $\beta$ -galactosidase a partir de fungos filamentosos, corroboram com a indústria e principalmente com a saúde de indivíduos intolerantes.

## MATERIAIS E MÉTODOS

As propriedades cinéticas da enzima  $\beta$ -galactosidase, foram avaliadas variando a concentração do substrato ONPG (o-nitrofenil- $\beta$ -D-galactopiranosídeo) de 1 mM a 10 mM. Para a determinação da atividade, 750  $\mu$ L do ONPG foi adicionado à 150  $\mu$ L de extrato bruto enzimático (E.B.E). A reação foi conduzida a 50°C por 20 minutos. Posteriormente, a reação foi interrompida adicionando 500  $\mu$ L de carbonato de sódio, seguida de leitura em absorbância a 410 nm, sendo realizada em triplicata e correlacionada com uma curva de p-nitrofenol.

Para o teste de influência de sais, a atividade da  $\beta$ -galactosidase foi avaliada em diferentes concentrações de NaCl, KCl, CaCl<sub>2</sub>, FeCl<sub>3</sub> e NH<sub>4</sub>Cl, variando entre 0,01 M e 0,05 M. Neste teste o ONPG foi utilizado a 5 mM em tampão citrato-fosfato pH 4.

No ensaio de termoestabilidade a enzima foi previamente submetida à temperaturas de 60 e 70°C por 10 min.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A curva de Michaelis-Menten criada a partir de dados experimentais, determinou os parâmetros cinéticos, como  $K_m$  e  $V_{max}$  da  $\beta$ -galactosidase, essencial na digestão da lactose, produzida por *G. lucidum*. A  $\beta$ -galactosidase foi analisada obtendo um  $K_m$  de 1,63 mM e um valor de  $V_{max}$  de 0,17 U.mL<sup>-1</sup>. Esses valores indicam que a  $\beta$ -galactosidase de *G. lucidum* apresenta melhor afinidade ao substrato quando comparado a  $\beta$ -galactosidase produzida por *Aspergillus niger* que apresentou  $K_m$  de 1,84 mM e  $V_{max}$  de 256,65 U.mL<sup>-1</sup>, conforme estudos conduzidos por (Martarello *et al.*, 2019).

Apesar da  $\beta$ -galactosidase de *G. lucidum*, apresentar ampla faixa de pH e de temperatura estáveis. A avaliação da importância dos metais na atividade da  $\beta$ -galactosidase de *G. lucidum* é importante para compreender seu papel no aumento da atividade catalítica. A avaliação do impacto de sais, especialmente, o cloreto de amônio (NH<sub>4</sub>Cl) na enzima em questão, mostrou um aumento significativo da atividade enzimática, especificamente em 0,05 M. Posto isso, sugere-se uma melhora na afinidade da enzima pelo substrato, devido propriedades físico-químicas que induz uma conformação mais ajustada ao substrato.

O estudo da termoestabilidade indicou que a lactase produzida por *G. lucidum* mantém um potencial catalítico à 60°C, no entanto, há um declínio em função do aumento da temperatura e do tempo de exposição, em comparação com o controle (50°C). Quando submetida à 70°C a enzima se desnaturou completamente e perdeu sua atividade catalítica, durante a pré-exposição nos períodos estudados.

## CONCLUSÕES/CONSIDERAÇÕES

Os microrganismos desempenham um papel importante nos processos biológicos, os fungos filamentosos, em especial, como o fungo *Ganoderma lucidum*, desempenham um papel fundamental nos setores industriais, especialmente no ramo alimentício. Os resultados observados neste estudo, demonstraram parâmetros cinéticos da  $\beta$ -galactosidase indicando a afinidade de uma enzima por seu substrato e a velocidade máxima que a enzima atinge. Além disso, os estudos realizados demonstraram o impacto que alguns metais acarretam na atividade da enzima, destacando a importância desses ensaios para melhorar a atividade catalítica da enzima. A termoestabilidade, caracteriza a capacidade de uma enzima manter sua atividade catalítica em diferentes temperaturas, a  $\beta$ -galactosidase nesse estudo, teve sua atividade diminuída em função do aumento da temperatura. Estes resultados reforçam a importância da investigação que otimiza a produção e utilização da  $\beta$ -

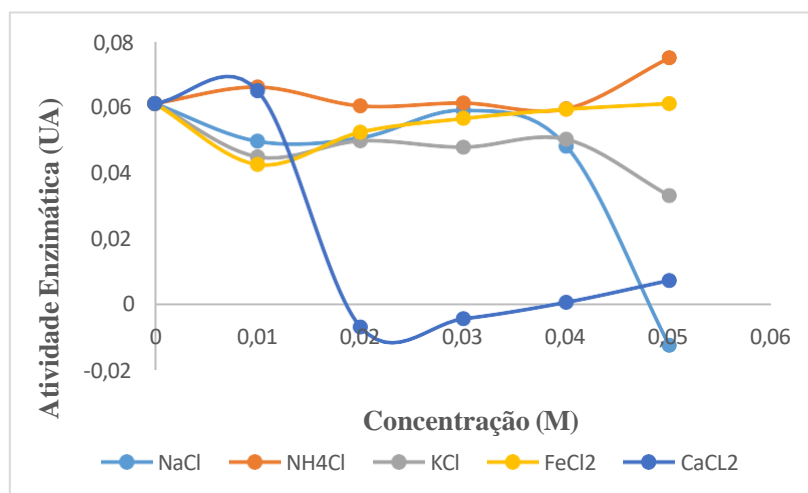
galactosidase, abrindo caminho para avanços significativos nas indústrias de alimentos e medicamentos.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ADALBERTO, Paulo Roberto. Produção, isolamento e caracterização de beta'-galactosidases de *Trichoderma reesei*: interação de íons metálicos na atividade enzimática. 2005.
2. GUROVIC, María Soledad Vela et al. Potencial de dano ao DNA dos extratos de *Ganoderma lucidum*. **Revista de etnofarmacologia**, v. 217, p. 83-88, 2018.
3. JESUS, Luiz Felipe de Moraes Costa de. Produção de  $\beta$ -galactosidase por fungos filamentosos: screening, purificação e caracterização bioquímica. 2020.
4. MALIK, Talia F.; PANUGANTI, Kiran K. Lactose intolerance. In: StatPearls [Internet]. **StatPearls Publishing**, 2022.
5. MARTARELLO, Raquel Dall'Agnol et al. Optimization and partial purification of beta-galactosidase production by *Aspergillus niger* isolated from Brazilian soils using soybean residue. **Amb Express**, v. 9, p. 1-13, 2019. [10.1186/s13568-019-0805-6](https://doi.org/10.1186/s13568-019-0805-6)
6. PEIXOTO, Albert Souza et al. Extração e caracterização de  $\beta$ -frutofuranosidases produzidas por *Kluyveromyces marxianus* CCMB 322. **Pesquisa, Sociedade e Desenvolvimento**, v. 9, n. 8, pág. e570985828-e570985828, 2020.
7. VASCONCELLOS, Vanessa Molina de. Influência dos íons metálicos na atividade e estabilidade de (hemi) celulases e no processo de sacarificação da biomassa. 2015.

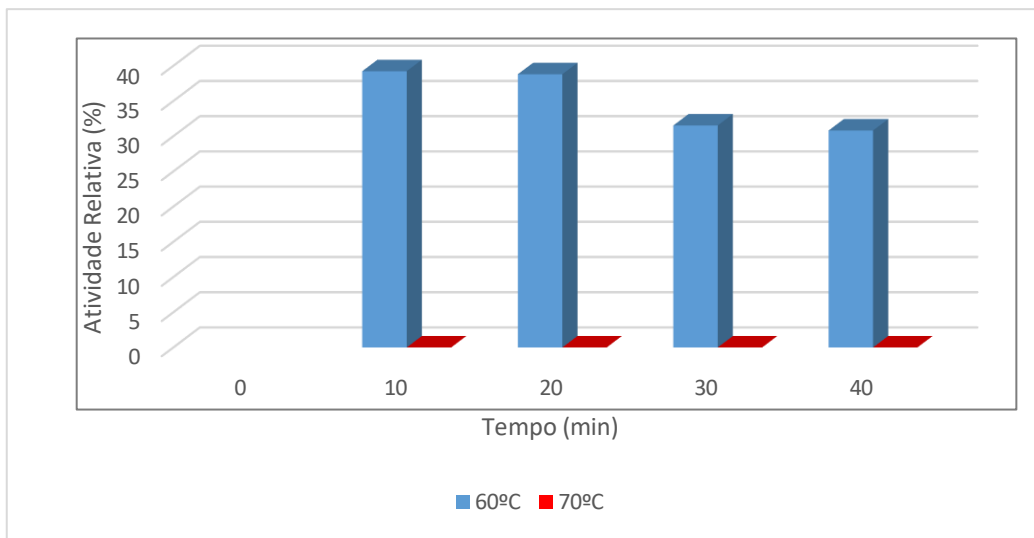
Tabelas e Figuras:

**FIGURA 1:** Influência de sais da lactase produzida por *Ganoderma Lucidum*



Fonte: Autoria própria.

**FIGURA 2:** Avaliação da termoestabilidade da lactase produzida por *Ganoderma Lucidum*



Fonte: A autoria própria.

#### AGRADECIMENTOS

Agradeço profundamente às instituições que tornaram possível a realização deste trabalho com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) através da concessão de bolsa de iniciação científica concedida pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (UESB), Campus Jequié e à pessoa cujo a colaboração foi fundamental para sua concretização, Pâmala Évelin Pires Cedro.