

## Purificação, caracterização e aplicação de B-galactosidases produzidas por fungos isolados do semiárido nordestino.

Danilo Nascimento Costa<sup>1</sup>, Alana Caise dos Anjos Miranda<sup>2</sup>, Pâmala Évelin Pires Cedro<sup>3</sup>, Tátilla Putumujú Santana Mendes<sup>3</sup>, Gildomar Lima Valasques Junior<sup>4</sup>.

### RESUMO

A amilase é uma hidrolase que cliva as ligações glicosídicas de polissacarídeos como o amido e o glicogênio para produzir glicose, maltose e dextrina. Já as  $\beta$ -galactosidases, são enzimas que degradam a lactose em glicose e galactose. Os fungos são as fontes preferidas para produção de enzimas em escala industrial devido a várias vantagens, como fácil produção, baixo custo e produção em curto espaço de tempo. Este estudo buscou realizar uma triagem de fungos para produção de  $\beta$ -galactosidase e produção e caracterização da enzima amilase do fungo *Ganoderma lucidum*, através da metodologia de superfície de resposta, utilizando o planejamento experimental de Doehlert, avaliando o comportamento da enzima frente às variações de pH e temperatura. A produção da  $\beta$ -galactosidase ocorreu com a utilização de lactose como indutor, enquanto para a produção de amilase utilizou-se o amido como fonte de carbono. A avaliação da termoestabilidade da  $\alpha$ -amilase ocorreu à 60, 70 e 80°C nos períodos de 10, 30 e 50 minutos. Apenas a  $\beta$ -galactosidase extracelular de *Aspergillus niger* apresentou alta atividade enzimática. A amilase obtida de *Ganoderma lucidum* apresentou atividade expressiva, com melhor desempenho enzimático em pH mais básico e em temperatura acima de 55°C. O estudo da termoestabilidade indicou que a amilase se manteve estável em temperaturas elevadas, com baixa diminuição do potencial catalítico. O modelo experimental conduziu à compreensão do pH e temperaturas favoráveis à atividade catalítica da amilase secretada por *Ganoderma lucidum*, bem como a sua termoestabilidade. Não houve falta de ajuste no modelo aplicado, desse modo, os resultados encontrados condizem com a realidade experimental.

**Palavras-chave:** Amilase;  $\beta$ -galactosidase; Fungos filamentosos.

### ABSTRACT

Amylase is a hydrolase that cleaves the glycosidic bonds of polysaccharides such as starch and glycogen to produce glucose, maltose and dextrin.  $\beta$ -galactosidases are enzymes that break down lactose into glucose and galactose. Fungi are the preferred sources for enzyme production on an industrial scale due to several advantages, such as easy production, low cost and short time production. This study aimed to perform a screening of fungi for the production of  $\beta$ -galactosidase and production and characterization of the enzyme amylase from the fungus *Ganoderma lucidum*, through the response surface methodology, using Doehlert's experimental design, evaluating the behavior of the enzyme in the face of variations in pH and temperature. The production of  $\beta$ -galactosidase occurred with the use of lactose as an inducer, while for the production of amylase, starch was used as a carbon source. The evaluation of the thermostability of  $\alpha$ -amylase took place at 60, 70 and 80°C in the periods of 10, 30 and 50 minutes. Only the extracellular  $\beta$ -galactosidase from *Aspergillus niger* showed high enzymatic activity. The amylase obtained from *Ganoderma lucidum* showed expressive activity, with better enzymatic performance at more basic pH and at temperatures above 55°C. The thermostability study indicated that amylase remained stable at high temperatures, with a low decrease in catalytic potential. The experimental model led to

---

\* Financiamento Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia – FAPESB;

<sup>1</sup> Graduando em Farmácia, Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia;

<sup>2</sup> Mestre Ciências Farmacêuticas pela Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS);

<sup>3</sup> Pós-Graduação Multicêntrica na área de Bioquímica e Biologia Molecular, Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia;

<sup>4</sup> Pesquisador, Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia;

the understanding of pH and temperatures favorable to the catalytic activity of amylase secreted by *Ganoderma lucidum*, as well as its thermostability. There was no lack of fit in the model applied, thus, the results found are consistent with the experimental reality. **Keywords:** Amylase;  $\beta$ -galactosidase; Filamentous fungi.

## INTRODUÇÃO

As enzimas biologicamente ativas podem ser obtidas de plantas, animais e microrganismos. A produção de enzimas microbianas se pela maior facilidade de isolamento, menores custos de produção e passível de manipulações genéticas. Diante dessas vantagens, a produção de enzimas a partir de microrganismos possui extensa aplicação nos processos industriais (EL-GENDI et al., 2022).

Dentre as fontes microbianas, os fungos representam uma fonte interessante de enzimas industriais diante sua capacidade de secretar uma grande diversidade de enzimas, intracelulares e extracelulares, para a bioconversão de uma variedade de substratos complexos (NAEEM et al., 2022). As enzimas fúngicas comercialmente importantes pertencem às hidrolases, como as amilases e  $\beta$ -galactosidases (CERIMI et al., 2019). As  $\beta$ -Galactosidases (lactase) hidrolisa a lactose em glicose e galactose, que na indústria alimentícia e farmacêutica, é essencial na fabricação de produtos lácteos sem lactose, destinados a consumidores intolerantes à lactose. Já as amilases são hidrolases glicosídicas que atuam nas ligações glicosídicas  $\alpha$ -1-4 do amido, com diversas aplicações industriais (MARTARELLO et al., 2019).

As enzimas fúngicas são responsáveis por mais de 50% do mercado total de enzimas (PECIULYTE et al., 2017). Essa enorme participação de mercado é atribuída em grande parte a algumas espécies dos gêneros *Aspergillus*, *Trichoderma*, *Rhizopus* e *Penicillium* (EL-GENDI et al., 2022). O *Ganoderma lucidum* é um cogumelo de podridão branca degradante de lignocelulose de imensa importância médica, por produzir vários compostos bioativos, como polissacarídeos, triterpenos, enzimas, esteróides e glicoproteínas (AHMAD et al., 2021).

Neste estudo, foi feita uma triagem quantitativa de fungos filamentosos para produção de  $\beta$ -galactosidase, a fim de identificação de potenciais fungos produtores de lactase. Além disso, este estudo buscou obter a enzima amilase do fungo *G. lucidum*, caracterizá-la, avaliando o comportamento da enzima frente às variações de pH e temperatura.

## MATERIAL E MÉTODOS

**Obtenção dos microrganismos:** Os fungos foram obtidos da Coleção de Microrganismos de Referência em Vigilância Sanitária (FIOCRUZ, Rio de Janeiro, Brasil) e da Coleção de Cultura de Microrganismo da Bahia, da Universidade Estadual de Feira de Santana.

**Condições de cultivo do microrganismo:** O *L. tigrinus* foi incubado em meio de cultura BDA ao longo de 5 dias sob uma temperatura de 30°C para ativação do microrganismo. Realizou-se o inóculo adicionando três discos de 2 cm de diâmetro contendo células fúngicas em meio líquido em balões de 250 mL contendo 10 g/L de glicose, 3 g/L de extrato de levedura em pó, 3 g/L de extrato de malte e 5 g/L de peptona em de água destilada. A fermentação ocorreu a 150 rpm por 120 horas em uma Incubadora shaker. Após a fermentação, o meio de cultura líquido foi filtrado a vácuo, para obtenção da biomassa e subsequente extração do polissacarídeo fúngico.

**Avaliação da atividade antioxidante:** A avaliação da capacidade antioxidantes das amostras de polissacarídeos de *L. tigrinus* foram realizadas pela metodologia de sequestro de radical livre DPPH (2,2-difenil1-picrilidrazilo) e do radical ABTS+ (2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico), de acordo com o método relatado por Rufino et al., com algumas modificações. Nos ensaios antioxidantes (DPPH e ABTS+), foi utilizado como controle positivo o Ácido Ascórbico.

**RESULTADOS E DISCUSSÃO**

**CONCLUSÃO**

**REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**