

## **Aproveitamento biotecnológico de subprodutos da indústria de laticínios como indutores alternativos para a expressão da $\beta$ -galactosidase recombinante**

**Matheus Loch Velvites Ferreira, Paolla Pauli, Juliane Carraro Nunes, Bruna Coelho de Andrade, Claucia Fernanda Volken de Souza, Joice Maria Chies, Gaby Renard (coorientadora), Giandra Volpato (orientadora)**

Matheusbfmv95@gmail.com, giandra.volpato@poa.ifrs.edu.br

A  $\beta$ -galactosidase é uma enzima que catalisa a hidrólise da lactose, apresentando grande importância para as indústrias de alimentos e farmacêutica, pois auxilia no desenvolvimento de produtos para indivíduos com intolerância à lactose. Esta enzima pode ser obtida de forma recombinante, com a necessidade da utilização de indutores de expressão específicos, como o isopropil- $\beta$ -D-1-tiogalactosídeo (IPTG) e a lactose. Embora o IPTG seja bastante utilizado, este possui um alto custo, além de ser tóxico para as células. A utilização da lactose é uma alternativa mais benéfica para a indução do cultivo, pois não apresenta toxicidade, possui um baixo custo e além disso, possibilita a utilização de resíduos da indústria de laticínios ricos em lactose, como o soro de queijo e o permeado do soro de queijo. O descarte inadequado destes subprodutos pode representar um alto impacto ambiental devido à elevada carga orgânica presente. Com isso, o objetivo deste trabalho foi verificar a eficiência de subprodutos da indústria de laticínios como indutores da expressão da  $\beta$ -galactosidase de *Kluyveromyces* sp. em *Escherichia coli*. Células de *E. coli* BL21(DE3) foram transformadas com o gene da  $\beta$ -galactosidase de *Kluyveromyces* sp., contendo cauda de histidina, ligado ao vetor de expressão pET 30a(+). Os cultivos foram realizados em frascos Erlenmeyer, contendo 50 mL de meio de cultivo Luria-Bertani (LB), 50  $\mu$ g/mL de canamicina e 10 % de pré-inóculo padronizado com densidade óptica (OD) de 0,1 a 600 nm. Os cultivos foram mantidos em agitação orbital de 180 rpm a 30°C e induzidos com OD entre 0,4 e 0,6. Foram testados como indutores, lactose, soro de queijo e permeado de soro de queijo nas concentrações de 1 g/L, 10 g/L e 20 g/L. Amostras foram coletadas 9 h e 24 h após a indução, centrifugadas e o sobrenadante foi desprezado, as células foram ressuspensas, rompidas por sonicação e centrifugadas para separação das frações solúveis e insolúveis. A expressão da  $\beta$ -galactosidase foi analisada em ambas as frações, por meio de SDS-PAGE. Na fração solúvel foram determinadas a concentração de proteínas pelo método de Bradford e a atividade enzimática por meio de um método espectrofotométrico, utilizando o-nitrofenol- $\beta$ -D-galactopiranosídeo (ONPG) como substrato. Os experimentos foram realizados em triplicata, os resultados foram avaliados utilizando análise de variância (ANOVA) e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey com nível de significância de 5%, usando o programa BioEstat 5.0. As maiores atividades enzimáticas foram de 16,5, 36,0 e 44,0 U/mg<sub>proteína</sub>, para soro de queijo, lactose e permeado de soro, respectivamente, quando utilizada a concentração de 10 g/L. Os resultados obtidos, além de demonstrarem uma

alternativa de aproveitamento de subprodutos da indústria de laticínios em processos biotecnológicos, também indicam a possibilidade de diminuição no custo envolvido nestes processos.

***Palavras-chave:***  $\beta$ -galactosidase; soro de queijo; permeado de soro de queijo.

Financiamento/Apoio: IFRS, Fapergs, CNPq, Quatro G Pesquisa & Desenvolvimento Ltda.