



XII Seminário Brasileiro de Tecnologia Enzimática ENZITEC 2016

Estudo da Hidrólise Enzimática da Lactose em Soros Lácteos Utilizando β -galactosidasas Microbianas

Adriano Gennari¹, Michele Dutra Rosolen¹, Giandra Volpato² e Cláucia Fernanda Volken de Souza¹

¹ Centro Universitário UNIVATES - Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia
Caixa Postal 155 - 95900-000 Lajeado - RS - E-mail: adriano.gennari@hotmail.com

² Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Sul - IFRS- Curso de Biotecnologia
90030-041 Porto Alegre - RS

RESUMO

*A β -galactosidase é uma enzima responsável pela hidrólise da lactose, sendo principalmente utilizada na obtenção de produtos com baixo teor ou isento deste açúcar. Esse trabalho objetivou avaliar a influência da concentração enzimática, da temperatura e do tempo de reação no processo de hidrólise da lactose presente no soro de queijo e no permeado empregando duas β -galactosidasas comerciais de origem microbiana. Foram utilizadas as β -galactosidasas de *Aspergillus oryzae* (10 e 55 °C) e de *Kluyveromyces lactis* (10 e 37 °C), ambas nas concentrações de 3, 6 e 9 U/mL. Na temperatura de 10 °C a β -galactosidase de *K. lactis* foi mais eficiente que a de *A. oryzae*. Entretanto, a enzima de *A. oryzae* na temperatura ótima (55 °C) ao final de 12 h de reação, resultou na hidrólise total da lactose, independente da concentração enzimática utilizada. Os parâmetros estudados na hidrólise enzimática possibilitam a aplicação das β -galactosidasas nos laticínios.*

Palavras-chave: Laticínios, soro de queijo, permeado de soro.

INTRODUÇÃO

Soros lácteos, tais como o soro de queijo e o permeado de soro, são subprodutos do processamento dos derivados do leite e vêm sendo amplamente utilizados na elaboração de novos produtos, devido as suas composições de lactose, proteínas, vitaminas e sais minerais. Além das propriedades nutricionais, as proteínas do soro de queijo conferem propriedades tecnológicas benéficas quando utilizadas como ingredientes de alimentos (Antunes, 2003). No entanto, a lactose presente nos soros limita o consumo desses produtos por indivíduos que apresentam intolerância a este açúcar, a qual atinge aproximadamente 70% da população mundial adulta (Mattar e Mazo, 2010).

Em função disso, a indústria de alimentos tem buscado o desenvolvimento de produtos com baixo teor ou livre de lactose. Assim, a hidrólise enzimática desse açúcar a partir da enzima β -galactosidase, surge como um importante processo biotecnológico com aplicação na indústria de laticínios. Esta aplicação leva a melhoria das propriedades sensoriais e tecnológicas dos produtos finais, tais como maior doçura, maior solubilidade e redução do período de fermentação (Husain, 2010). Além disso, a hidrólise enzimática da lactose dos soros lácteos viabiliza os processos de biorremediação e de produção de biomoléculas e biomassa empregando esses soros como meios de cultivos, uma vez que seu descarte inadequado constitui um grave problema ambiental (Koutinas et al., 2009).



XII Seminário Brasileiro de Tecnologia Enzimática ENZITEC 2016

As β -galactosidases usadas em escala industrial devem ser provenientes de microrganismos *Generally Recognized as Safe* (GRAS). As características importantes para uso da enzima em processos industriais são a termoestabilidade e a elevada atividade enzimática a baixa temperatura, possibilitando sua aplicação em condições que não alteram as características sensoriais e nutricionais do leite e seus derivados (Husain, 2010; Mlichová e Rosenberg, 2006).

Nesse contexto, o objetivo desse trabalho foi avaliar a influência da concentração enzimática, da temperatura e do tempo de reação no processo de hidrólise da lactose presente no soro de queijo e no permeado de soro empregando duas β -galactosidases comerciais de origem microbiana.

MATERIAL E MÉTODOS

O soro de queijo em pó utilizado foi cedido pela empresa Brasil Foods S.A. O permeado de soro de queijo em pó foi fornecido pela empresa Arla Foods. As enzimas β -galactosidases comerciais utilizadas, Lactomax F30 e Lactomax Pure, obtidas a partir das cepas de *Aspergillus oryzae* (*A. oryzae*) e *Kluyveromyces lactis* (*K. lactis*), respectivamente, foram cedidas pela empresa Prozyn. Os soros lácteos foram reconstituídos a 5% (m/v) de lactose. Os processos de hidrólise enzimática foram realizados empregando concentrações de 3, 6 e 9 U/mL da β -galactosidase de *A. oryzae* ou de *K. lactis* nas temperaturas de 10 e 55 °C para a enzima de *A. oryzae* e de 10 e 37 °C para a β -galactosidase de *K. lactis*. Após 0, 1, 2, 4, 8 e 12 horas de reação de hidrólise coletaram-se amostras que foram submetidas a aquecimento a 100 °C em banho-maria por 10 minutos para inativação da enzima e após determinou-se a concentração de glicose através do kit enzimático Bioliq. Os ensaios foram realizados em condições estéreis, visando evitar a ação de contaminantes microbianos no processo de hidrólise da lactose. Todos os experimentos foram realizados em triplicata.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

As Figuras 1 e 2 apresentam os resultados de hidrólise da lactose do soro e do permeado, respectivamente, pelas enzimas de *A. oryzae* (10 e 55 °C) e de *K. lactis* (10 e 37 °C) ao longo das 12 h de reação. Os processos de hidrólise da lactose do soro e do permeado foram realizados em baixa temperatura (10 °C) para ambas as enzimas, visando não alterar as características sensoriais e nutricionais dos soros lácteos. Também foi avaliado o efeito da temperatura ótima de atividade enzimática de cada uma das β -galactosidases comerciais, *A. oryzae* (55 °C) e *K. lactis* (37 °C), no processo de hidrólise. As Figuras 1 e 2 mostram que a hidrólise da lactose do soro e do permeado pela enzima de *A. oryzae* foi superior na temperatura ótima em relação à de 10 °C, já para a enzima de *K. lactis* as concentrações de glicose geradas a partir da hidrólise da lactose são semelhantes em ambas as temperaturas (10 e 37 °C), independente da matéria-prima.

Em relação à concentração da enzima empregada no processo de hidrólise, verificou-se que a variação desse parâmetro teve uma maior influência quando utilizada a β -galactosidase de *A. oryzae*, independente da matéria-prima estudada. Para a enzima de *K. lactis*, os resultados de hidrólise da lactose apresentaram o mesmo comportamento da β -galactosidase de *A. oryzae* apenas quando utilizado o permeado como substrato. Para o soro os resultados de hidrólise foram semelhantes, independente da concentração da enzima de *K. lactis* testada.



XII Seminário Brasileiro de Tecnologia Enzimática ENZITEC 2016

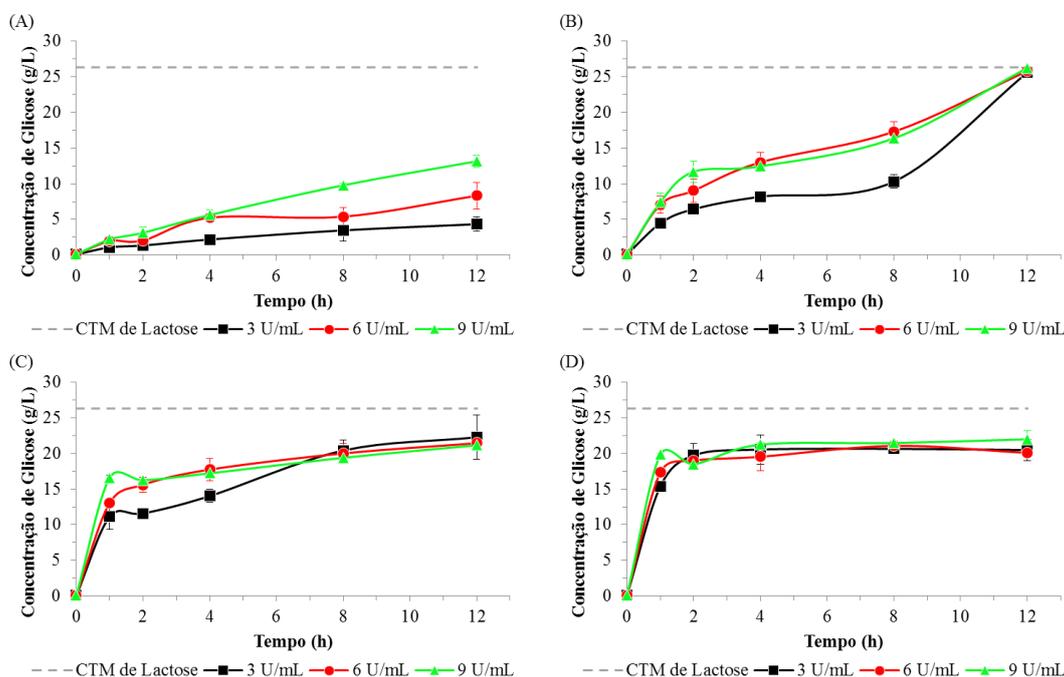


Figura 1. Concentrações de glicose resultantes da hidrólise enzimática da lactose do soro de queijo pelas enzimas β -galactosidasas de *A. oryzae*: (a) 10 °C, (b) 55 °C e de *K. lactis*: (c) 10 °C, (d) 37 °C. A linha pontilhada em cada gráfico indica a concentração de glicose correspondente à conversão teórica máxima de lactose (CTM).

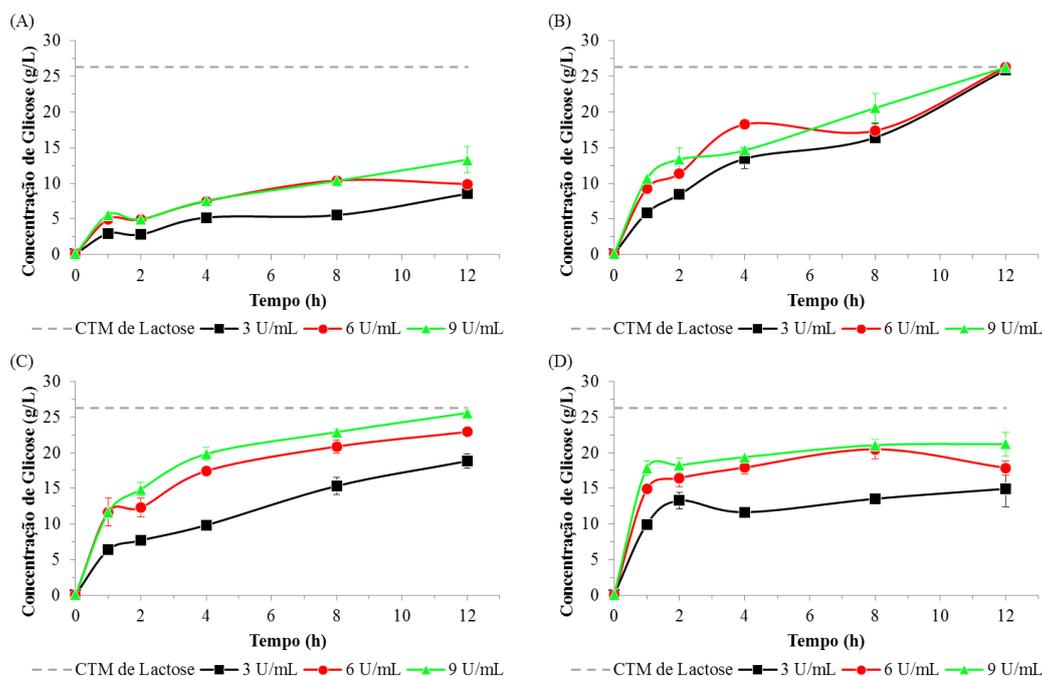


Figura 2. Concentrações de glicose resultantes da hidrólise enzimática da lactose do permeado de soro pelas enzimas β -galactosidasas de *A. oryzae*: (a) 10 °C, (b) 55 °C e de *K. lactis*: (c) 10 °C, (d) 37 °C. A linha pontilhada em cada gráfico indica a concentração de glicose correspondente à conversão teórica máxima de lactose (CTM).



XII Seminário Brasileiro de Tecnologia Enzimática ENZITEC 2016

A concentração da enzima influencia diretamente na hidrólise da lactose, como já observado em outros trabalhos (Horner et al., 2011; Akgül et al., 2012). Horner et al. (2011) avaliaram a hidrólise da lactose de leite cru e pasteurizado empregando quatro β -galactosidases comerciais de *Kluyveromyces* na temperatura de 2 °C durante 72 h. Os autores observaram que o aumento de quatro vezes na concentração da enzima dobrou a concentração de lactose hidrolisada no leite após 12 h de reação.

Nas Figuras 1 e 2 observa-se que para a β -galactosidase de *A. oryzae* as concentrações de glicose aumentaram gradualmente ao longo de todo o período de hidrólise, atingindo em 12 h, na temperatura ótima, valores próximos a máxima conversão teórica da lactose. Enquanto que para a enzima de *K. lactis* verifica-se um aumento gradual da concentração de glicose nas primeiras duas horas de reação e após permaneceu praticamente constante ao longo do tempo de processo avaliado, atingindo valores de aproximadamente 20 g/L de glicose. Os resultados obtidos podem ser considerados satisfatórios, pois segundo Hourigan (1984) redução da concentração de lactose de 70 a 80% em produtos lácteos é suficiente para a maioria das pessoas que apresentam intolerância a lactose.

O grau de hidrólise obtido no presente estudo foi superior ao descrito por Haider e Husain (2009), que avaliaram o processo de hidrólise da lactose presente no soro empregando a β -galactosidase de *A. oryzae*, na temperatura de 37 °C, na concentração de 0,44 U/mL. Os autores observaram uma hidrólise máxima de 70% após 3 h de reação.

CONCLUSÕES

Os resultados obtidos indicam que na temperatura de 10 °C a enzima β -galactosidase de *K. lactis* é mais eficiente para a hidrólise da lactose presente no soro de queijo e no permeado de soro que a de *A. oryzae*. No entanto, nas condições de tempo de reação e concentração enzimática avaliados, não foram atingidos 100% de hidrólise da lactose utilizando a β -galactosidase de *K. lactis*. A hidrólise total da lactose presente no soro e no permeado foi obtida pela enzima de *A. oryzae* quando empregada sua temperatura ótima (55 °C), ao final de 12 h de reação, independente da concentração enzimática utilizada.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Akgül BF, Demirhan E, Özbeck B. 2012. A Modelling study on skimmed milk lactose hydrolysis and β -Galactosidase stability using three reactor types. *Int J Dairy Technol* 65:217-231.
- Antunes AJ. 2003. Funcionalidade de proteínas do soro de leite bovino. São Paulo: Manole. 135p.
- Haider T, Husain Q. 2009. Immobilization of β -galactosidase by bioaffinity adsorption on concanavalin A layered calcium alginate–starch hybrid beads for the hydrolysis of lactose from whey/milk. *Int Dairy J* 19:172–177.
- Horner TW, Dunm ML, Eggett DL, Ogden LB. 2011. β -galactosidase activity of commercial lactase samples in raw and pasteurized milk at refrigerated temperatures. *J Dairy Sci* 94:3342-3349.
- Hourigan JA. 1984. Nutritional implication of lactose. *Australian J Dairy Technol* 39:114-120.
- Husain Q. 2010. β -Galactosidases and their potential applications: a review. *Crit Rev Biotechnol* 30:41-62.
- Koutinas AA, Papapostolou H, Dimitrellou D, Kopsahelis N, Katechaki E, Bekatorou A, Bosnea LA. 2009. Whey valorisation: A complete and novel technology development for dairy industry starter culture production. *Bioresour Technol* 100:3734–3739.
- Mattar R, Mazo DFC. 2010. Intolerância à lactose: mudança de paradigmas com a biologia molecular. *Rev Assoc Méd Bras* 56:230-236.
- Mlichová Z, Rosenberg M. 2006. Current trends of β -galactosidase application in food technology. *J Food Nutrit Res* 5:47-54.