

HIDRÓLISE DA LACTOSE DE LEITE A PARTIR DAS ENZIMAS β - GALACTOSIDASES DE *Aspergillus oryzae* E *Aspergillus niger*

OLIVEIRA, M.S.¹, ALMEIDA, L.S.², MORAES, C.C.³, MANERA, A.P.⁴

¹ Universidade Federal do Pampa (UNIPAMPA) – Bagé – RS – Brasil, mateusoliveira00@hotmail.com;

² Universidade Federal do Pampa (UNIPAMPA) – Bagé – RS – Brasil, lucianoalmeida@unipampa.edu.br;

³ Universidade Federal do Pampa (UNIPAMPA) – Bagé – RS – Brasil, caroline.moraes@unipampa.edu.br;

⁴ Universidade Federal do Pampa (UNIPAMPA) – Bagé – RS – Brasil, ana.manera@unipampa.edu.br

RESUMO

O leite é um dos fundamentais produtos alimentícios benéficos à saúde e seu principal carboidrato é a lactose. A intolerância a este carboidrato é um dos principais problemas que ocorre atualmente na população, apresentando má digestão da lactose devido à pouca produção de enzima lactase no organismo do ser humano, a qual possui como objetivo, hidrolisar as moléculas de lactose, tornando o leite e derivados um produto possível de ser consumido. Devido a estes fatos, o interesse pelo leite e seus derivados com baixo teor de lactose tem aumentado consideravelmente. Assim, o processo industrial da hidrólise da lactose é realizado pela enzima beta-galactosidase e dependente da quantidade da enzima utilizada, a fonte desta enzima e condições como temperatura e tempo de processo. Diante disso, este trabalho teve como objetivo comparar a hidrólise da lactose de leite empregando duas enzimas beta-galactosidasas obtidas de *Aspergillus oryzae* (Sigma®) e *Aspergillus niger* (Megazyme®) para a produção de leite sem lactose. Os ensaios foram realizados empregando leite desnatado e as enzimas nas concentrações de 0,6 U/mL e 3,0 U/mL. A solução (leite e enzima) foi mantida a 40°C e os ensaios foram realizados em duplicata para cada enzima retirando-se amostras em determinados intervalos de tempo para determinação da conversão da lactose. Em seguida, realizou-se um novo ensaio em que se utilizou as duas enzimas concomitantemente, a fim de se obter uma maior hidrólise da lactose.

Palavras-chave: Lactase; Sigma; Megazyme; Intolerância à lactose.

1 INTRODUÇÃO

O setor leiteiro no Brasil apresenta diversos problemas que acabam impossibilitando o aumento do consumo do leite no país, sendo o maior deles a falta de conscientização por parte da população em entender que este produto é essencial à saúde e deve ser consumido (FAEDO, et al., 2013).

O leite é um alimento essencial para a alimentação humana, pois sua composição é rica em proteínas, gorduras, carboidratos (RAMALHO, GANECO, [2016]). A impossibilidade do consumo do leite se deve ao fato de que muitos indivíduos apresentam intolerância à proteína e/ou má digestão da lactose. A diminuição da capacidade de hidrolisar a lactose, o principal carboidrato do leite, resulta da diminuição da atividade da enzima beta-galactosidase, conhecida por lactase, onde se encontra na mucosa do intestino delgado (FAEDO, 2013). A hidrólise da lactose no leite acaba por reduzir o incremento da sacarose em produtos açucarados, ou seja, produtos derivados do leite com baixo teor de lactose carecem

ou não de adição de sacarose, permitindo assim o consumo destes por pessoas intolerantes a este dissacarídeo (RAMALHO, GANECO, [2016]).

A Lei nº 13.305 de 4 de Julho de 2016, passou a exigir que os rótulos de alimentos cujo teor de lactose tenha sido alterado deverão informar o teor de lactose remanescente, garantindo assim que os portadores de intolerância à lactose sejam informados sobre a presença deste açúcar nos alimentos (BRASIL, 2016).

A hidrólise da lactose é um processo propício para a indústria de alimentos, porque instiga o desenvolvimento de novos produtos sem lactose em suas composições ou pelo menos na sua redução. Essa operação oferece certas vantagens tecnológicas, na medida em que diminui os riscos de cristalização nos derivados lácteos e aumenta o poder adoçante. Dois métodos são utilizados para a hidrólise da lactose sendo eles: método químico e o método enzimático. No entanto, o método mais utilizado na indústria de alimentos é o enzimático, pois a hidrólise é catalisada pela enzima lactase. A vantagem desse método reside no fato de que a reação acontece a temperaturas relativamente baixas, permitindo uma maior economia energética, além de não se formarem produtos colaterais (LONGO, 2006).

Em vista do exposto, o objetivo deste trabalho foi comparar a hidrólise da lactose de leite empregando duas enzimas beta-galactosidases obtidas dos fungos filamentosos *Aspergillus oryzae* (Sigma®) e *Aspergillus niger* (Megazyme®) para a produção de leite sem lactose.

2 METODOLOGIA

O processo de hidrólise da lactose foi realizado empregando as enzimas beta-galactosidases de *Aspergillus oryzae* (Sigma®) e *Aspergillus niger* (Megazyme®), tendo como condições experimentais 0,6 e 3,0 U de enzima para cada mL de leite desnatado, e temperatura de 40°C. Os ensaios foram realizados em banho com agitação, e em duplicata para cada uma das condições estudadas. Para cada ensaio coletou-se uma amostra a cada período de tempo, sendo eles: 30 min, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 h. Essas amostras foram então congeladas, para posterior análise.

A melhor concentração para cada fonte de enzima foi selecionada e testada em um novo ensaio, para verificar o aumento na hidrólise da lactose ao empregar enzimas concomitantemente.

As amostras foram empregadas para quantificação da glicose através do Kit enzimático de glicose-oxidase (Bioliq®), para posterior cálculo da hidrólise da lactose. As amostras dos tempos de 30 min até 8 h de cada ensaio foram adequadamente diluídas e em seguida, 10 µL da amostra previamente diluída foram adicionados em tubos de ensaio contendo 1 mL do reagente do Kit enzimático. Os tubos foram incubados em banho com agitação com temperatura de 37°C por um tempo de 10 min. Na sequência fez-se a leitura de transmitância em espectrofotômetro a 505 nm. Paralelamente realizou-se o mesmo procedimento com um tubo contendo a solução de glicose padrão para posteriores cálculos da concentração de glicose em cada amostra.

A quantidade de lactose hidrolisada foi obtida através de balanço de massa, levando em conta a quantidade inicial de lactose no leite e a quantidade de glicose produzida. Considerando também que cada molécula de lactose produz uma molécula de glicose e uma de galactose com os mesmos pesos moleculares.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A lactose é um dissacarídeo que, quando sofre a ação da enzima lactase, em condições específicas ocorre a quebra em dois monossacarídeos, a glicose e a galactose. A Figura 1 mostra a hidrólise do leite com a enzima beta-galactosidase de *Aspergillus oryzae*.

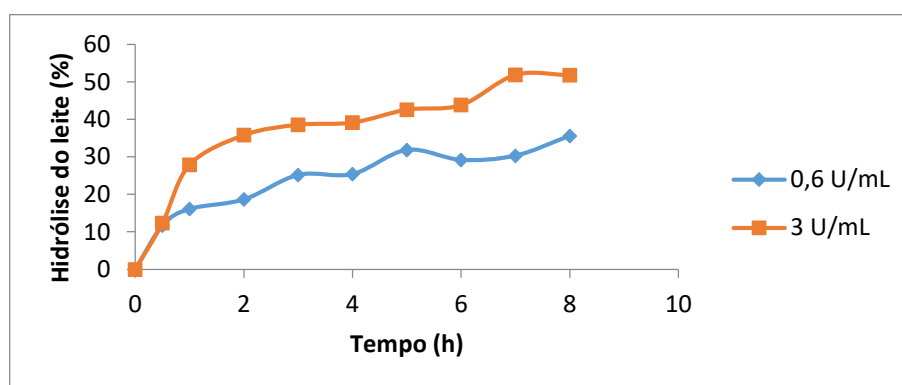


Figura 1: Hidrólise do leite pela enzima beta-galactosidase de *Aspergillus oryzae*.

Observa-se na Figura 1 que a influência da concentração enzimática foi consideravelmente relevante, mostrando uma hidrólise maior no leite quando comparadas. Para o ensaio com concentração de enzima de 3 U/mL, o pico maior de hidrólise foi obtido no tempo de 7 h com 52% de hidrólise do leite, já para o outro ensaio de concentração de 0,6 U/mL obteve-se o maior pico no tempo de 8 h com aproximadamente 36% de hidrólise do leite. O ensaio com menor concentração de enzima mostrou algumas oscilações durante a hidrólise, porém de modo geral houve um crescimento do início ao fim da hidrólise do leite.

A Figura 2 apresenta as curvas de hidrólise do leite da enzima beta-galactosidase da *Aspergillus niger*.

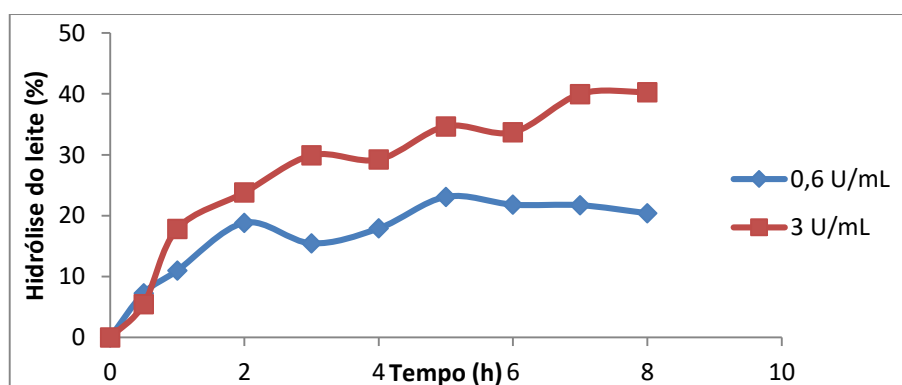


Figura 2: Hidrólise do leite pela enzima beta-galactosidase de *Aspergillus niger*.

A Figura 2 mostra um desempenho considerável para a concentração enzimática de 3 U/mL ao qual apresentou pico maior em 8 h com 40,3% de hidrólise do leite, no entanto para o outro ensaio, com 0,6 U/mL de concentração apresentou o pico maior no tempo de 5 h com 23,1% de hidrólise. Com esses dados deduz-se que o aumento da concentração da enzima foi um fator positivo para a hidrólise da lactose do leite.

A Figura 3 mostra o emprego concomitante das duas enzimas beta-galactosidases de *Aspergillus oryzae* e de *Aspergillus niger*, empregadas na concentração que resultou em maior hidrólise quando testadas individualmente, ou seja, 3 U/mL, mostrando assim um crescimento na hidrólise do começo ao fim do processo, atingindo 60% de hidrólise em 8 h de reação.

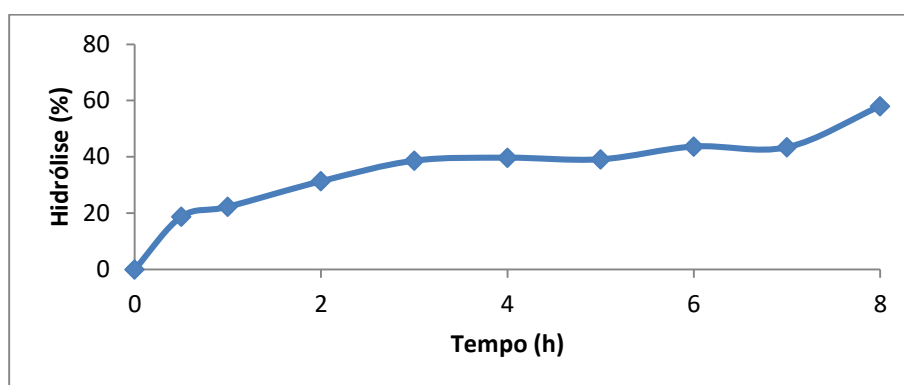


Figura 3: Hidrólise do leite pelas enzimas beta-galactosidases de *Aspergillus oryzae* e *Aspergillus niger*.

Comparando os resultados apresentados nas três figuras, observa-se que houve um incremento na hidrólise da lactose ao empregar as enzimas concomitantemente quando comparado com as hidrólises empregando as enzimas individualmente.

No estudo realizado por Carminatti (2001), ao hidrolisar a lactose em reator de membrana empregando condições de temperatura de 40°C, pH 6,0 e concentração de enzima (Maxilact® L-5000 de *Kluyveromyces lactis*) de 1250 mg/L, obteve-se 92% de hidrólise da lactose em 2 h de reação. Esta diferença em relação ao dados apresentados no presente trabalho se deve a fonte e concentração de enzima serem diferentes e ao processo ser realizado em outro tipo de reator.

Segundo Fischer (2010) em seus estudos empregando soro de leite, a melhor condição obtida para a taxa de hidrólise da lactose a partir da enzima β -galactosidase de *Aspergillus oryzae* imobilizada em resina de troca iônica, em reator de leito fixo, foi na concentração de lactose de 50 g/L, pH de 4,5 e vazão de alimentação igual a 6 mL/min, obtendo valor de 65% de conversão da lactose em monossacarídeos, glicose e galactose.

Pode-se observar que o emprego de enzimas na hidrólise da lactose é dependente de diversas condições, nos ensaios realizados no presente trabalho as condições empregadas não foram satisfatórias para se obter um leite sem lactose, desta forma, necessita-se de mais estudos. Novos ensaios serão realizados, variando a concentração das enzimas, empregando enzimas de outras fontes e alterando a temperatura de operação.

4 CONCLUSÃO

Diante dos resultados obtidos percebe-se que é mais viável trabalhar com as enzimas concomitantemente do que separadas por apresentarem uma eficiência maior na hidrólise da lactose no leite. Com os estudos realizados nota-se que a

hidrólise da lactose, empregando as enzimas simultaneamente e temperatura de 40°C apresentou maior valor (60%) no tempo de 8 h de processo.

AGRADECIMENTOS

Ao CNPq e à FAPERGS, pelo apoio financeiro e incentivo a pesquisa e ao Laboratório de Microbiologia e Toxicologia de Alimentos – UNIPAMPA – Campus Bagé pelo espaço físico.

5 REFERÊNCIAS

Brasil, *Lei nº 13.305, de 4 de Julho de 2016*. Institui normas básicas sobre alimentos.

Publicada no Diário Oficial da União em 5 de Julho de 2016.

Carminatti, C., A. (2001). *Ensaio de hidrólise enzimática da lactose em reator a membrana utilizando beta-galactosidase kluyveromyces lactis*. UFSC – Centro Tecnológico, Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos, Programa de Pós-graduação em Engenharia Química. Florianópolis.

Faedo, R., Brião, V.B., Castoldi, S., Girardelli, L., Milani, A. (2013). Obtenção de leite com baixo teor de lactose por processos de separação por membranas associadas à hidrólise enzimática. *Revista CIATEC*, v. 3, n. 1, p. 44-54.

Fischer, J. (2010). *Hidrólise de lactose por β -galactosidase de *Aspergillus oryzae* imobilizada em reator de leito fixo*. Programa de Pós-graduação em Engenharia Química. Universidade Federal de Uberlândia. Uberlândia – MG.

Longo, G. (2006). *Influência da adição de lactase na produção de iogurte*. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Setor de Tecnologia, Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

Muller, E. E. (2002). *Qualidade do leite, células somáticas e prevenção da mastite*. In: Simpósio sobre Sustentabilidade da Pecuária Leiteira na Região Sul do Brasil, 29-30 de Agosto de 2002, Toledo – PR. Anais do II Sul- Leite. Maringá: UEM/CCA/DZO – NUPEL, p. 206-217.

Ramalho, M. E. O., Ganeco, A. G. [2016]. *Intolerância a lactose e o processamento dos produtos zero lactose*. Faculdade de Tecnologia de Taquaritinga – São Paulo.