

## Área: Ciência de Alimentos

# COMPARAÇÃO DA ENZIMA $\beta$ -GALACTOSIDASE DE DIFERENTES MARCAS COMERCIAIS

**Creciana Maria Endres\*, Bruna Seguenka, Sandrini Slongo Fortuna, Tassieli Toledo, Vera Maria Rodrigues, Vandr e Barbosa Bri o**

Programa de Pós Gradua o em Ciência e Tecnologia de Alimentos - Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo – RS \*E-mail: 146202@upf.br

**RESUMO** – As enzimas  $\beta$ -galactosidase são indicadas para hidrólise de leite, porém se busca novas alternativas para tratamento do soro de leite, pois este   rico em proteínas e carboidratos. O objetivo deste trabalho foi testar diferentes marcas comerciais da enzima  $\beta$ -galactosidase obtida do microrganismo *Kluyveromyces lactis* para verificar seu comportamento no substrato obtido do soro de leite. O soro de leite desnatado foi concentrado pelo processo de ultrafiltra o seguindo de nanofiltra o e diálise, dando origem ao xarope concentrado de lactose ou lactose concentrada que foi posteriormente submetida a hidrólise enzimática. A hidrólise enzimática da lactose concentrada foi verificada por análise utilizando o kit Enzimático Colorimétrico (Analisa). As enzimas de marcas comerciais diferentes foram codificadas como enzima A, B, C e D, sendo a enzima B e C do mesmo fabricante e as enzimas A e C de outro fabricante, totalizando três marcas comerciais diferentes. A hidrólise foi realizada com concentra o de 0,1% de enzima, temperatura de 37 C, pH de 6,6 durante 4 h sob constante agita o. Durante a hidrólise a temperatura e pH foram controlados, a concentra o de enzima utilizada foi 0,1% (v/v) sob constante agita o. As enzimas apresentaram diferentes teores de hidrólise nas mesmas condi es de processo e apresentaram percentual de conversão que variou de 43% a 61 %. Sendo que a enzima A apresentou 43,19% de conversão, a enzima B, 44,03%, a enzima C, 60,53% e a enzima D conversão de 59,17%.

**Palavras-chave:** Soro de leite, hidrólise, lactose concentrada.

## 1 INTRODU O

A indústria de laticínios encontra-se em constante crescimento no Brasil. Dentre os produtos lácteos, destaca-se o queijo como um produto de elevado consumo. A produ o de soro, um dos principais subprodutos, aumentou consideravelmente, pois para cada kg de queijo produzido gera-se cerca de 9 kg de soro. Em decorrência do alto teor de proteínas e nutrientes neste subproduto, estudos são sendo realizados na perspectiva de otimizar o valor comercial do soro, já que cont m considerável quantidade de lactose. Esse a u ar   pouco utilizado pela indústria pois apresenta baixo poder adoçante e pode causar intolerância em algumas pessoas.

A lactose, um dissacarídeo com pouca capacidade adoçante, pode ser mal absorvida pelo estômago humano além de provocar intolerância em uma parte da popula o. O produto pode ser hidrolisado em

monossacarídeos glicose e galactose, já que estes são açúcares com maior poder adoçante e com melhores propriedades nutricionais. O processo de hidrólise desse carboidrato representa um processo tecnológico bastante rentável para a indústria alimentícia.

Para a realização da hidrólise, conversão da lactose e conseqüentemente formação da glicose e galactose, são aplicados processos enzimáticos sob condições específicas. A hidrólise enzimática pode variar de acordo com a temperatura e pH utilizados. O processo de hidrólise pode ser influenciado também por outros fatores como a concentração de enzima e o tipo de substrato empregado. As enzimas responsáveis pela hidrólise podem ser extraídas de diversas fontes como plantas, animais, fungos, bactérias e leveduras.

O objetivo deste trabalho foi testar diferentes marcas comerciais da enzima  $\beta$ -galactosidase obtida do microrganismo *Kluyveromyces lactis* para verificar qual possui melhor comportamento para a lactose concentrada do soro de leite.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram realizados no laboratório de operações unitárias da Universidade de Passo Fundo (UPF) do Rio Grande do Sul.

O soro de leite desnatado foi submetido a ultrafiltração, para retenção das proteínas, seguido de nanofiltração para retenção da lactose e dialise para a retirada dos sais, obtendo um substrato denominado de Lactose concentrada que foi congelada em freezer.

A lactose concentrada (LC) foi descongelada, aquecida a 35°C e filtrada em papel qualitativo para remoção do material precipitado durante o congelamento. Para remoção do material residual foi aplicado um tratamento térmico na temperatura de 80°C por um período de 20 min e, após a LC foi centrifugada a 300 rpm por 20 min. em centrifuga de tubos ( Presvac ). A lactose concentrada filtrada e centrifugada, foi nominado como LC<sub>1</sub>.

O processo de hidrólise da LC<sub>1</sub> foi realizado com a enzima  $\beta$ -galactosidase mais conhecida como lactase (*Kluyveromyces lactis*), comercializada por diferentes fornecedores, codificadas como enzima A, B, C e D, estas foram armazenadas a temperatura de resfriamento de 5°C, até o momento dos experimentos.

O objetivo em testar enzimas de diferentes marcas comerciais é verificar o comportamento da hidrólise da lactose na LC<sub>1</sub>. Estas enzimas foram industrialmente desenvolvidas para leite e não para soro de leite, desta forma é necessário conhecer o comportamento em outro substrato como o soro. Além disso, cada enzima apresenta um grau de pureza e este pode influenciar nas características sensoriais do produto final.

Colocou-se um volume conhecido de LC<sub>1</sub> em um béquer, ajustou-se a temperatura do processo de hidrólise em 37°C. A hidrólise foi realizada em banho-maria sob constante agitação. O pH da solução foi ajustado para 6,6 com uma solução de hidróxido de potássio (KOH, 1 M). Adicionou-se a solução de LC<sub>1</sub> 0,1% de enzima  $\beta$ -galactosidase. Todos os experimentos foram realizados em duplicata.

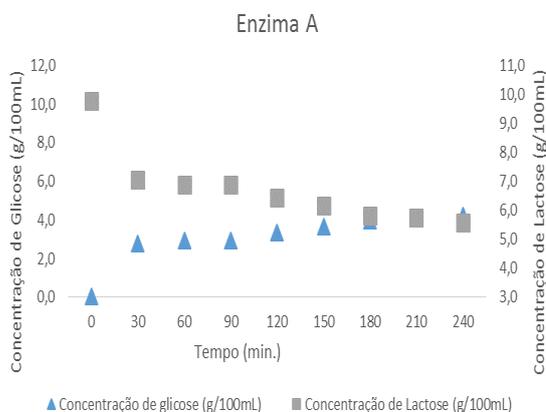
A atividade enzimática, ou seja, o processo de hidrólise da lactose foi monitorado nos tempos de reação de hidrólise de 30, 60, 90, 120, 150, 180, 210, 240 min.. Estas amostras foram inativadas em banho-maria na temperatura de 100°C por 5 min. Para determinação do grau de hidrólise foi realizada a medida do teor de glicose formada usando o kit enzimático (Analisa).

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A lactose concentrada (LC) apresentou um teor de lactose de 10,6g/100g de amostra. Após passar pelo processo de filtração e centrifugação a LC<sub>1</sub> apresentou um teor de lactose de 9,81g/100g. Isso ocorreu pois no processo de congelamento a lactose pode estar na forma cristalizada,.

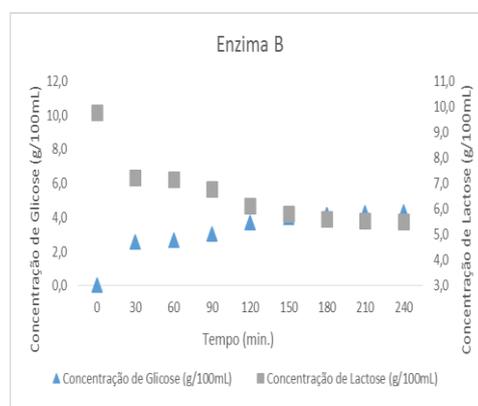
As Figuras 1 a 4 apresentam os resultados do teor de hidrólise para cada enzima testada.

**Figura 1 - Enzima A**



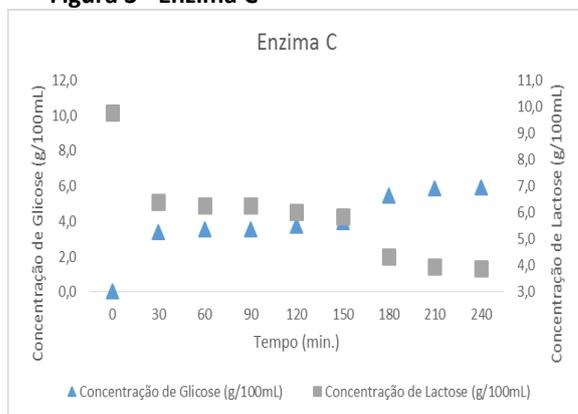
Fonte: Autor, (2015).

**Figura 2 - Enzima B**



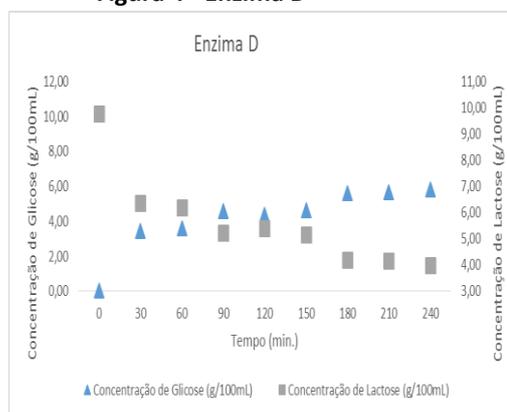
Fonte: Autor, (2015).

**Figura 3 - Enzima C**



Fonte: Autor, (2015).

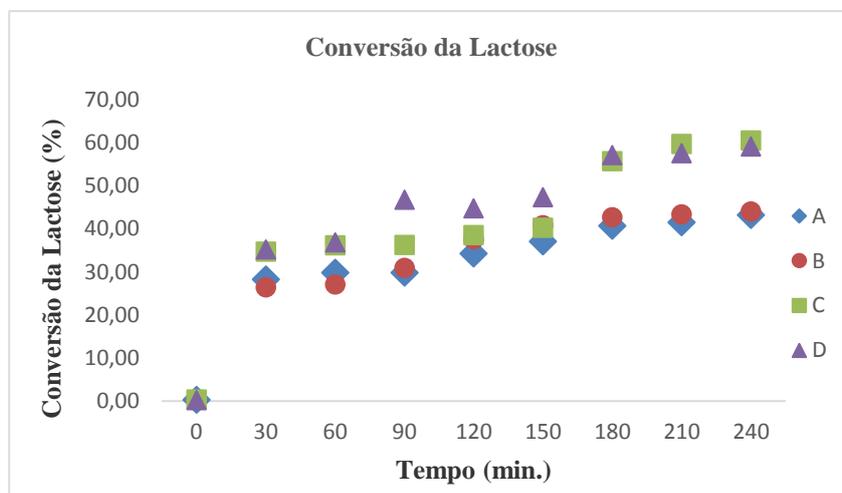
**Figura 4 - Enzima D**



Fonte: Autor, (2015).

Conforme mostra as figuras acima todas as enzimas apresentaram uma redução da concentração de lactose e aumento na concentração da glicose, mostrando que ocorreu o processo de hidrólise. Pode-se visualizar que algumas alcançaram uma conversão maior de hidrólise, desta forma podemos observar na Figura 5 a comparação de conversão para todas as enzimas.

**Figura 5 - Comparação geral das enzimas**



Fonte: Autor, (2015).

As enzimas apresentaram um percentual de conversão que variou de 43% a 61%. Sendo que a enzima A apresentou conversão de 43,19% e a enzima B 44,03%. A enzima C 60,53% e enzima D 59,17% de conversão.

A leitura de conversão foi realizada pela medição da Glicose formada, pois cada molécula de lactose forma uma de glicose e uma de galactose, além da possibilidade de formação de oligossacarídeos. As amostras hidrolisadas com a enzima A, B, C e D foram analisadas estatisticamente. A enzima A apresentou diferença significativa ( $p=0,05$ ) somente para a enzima C. A enzima B apresentou diferença significativa da enzima D ( $p=0,016$ ). A enzima C apresentou diferença entre A e D ( $p=0,016$ ) sendo igual somente a enzima B. A enzima D ( $p=0,58$ ) é estatisticamente igual a enzima A. Sendo que quando valor  $p>0,05$  não há diferença significativa.

A enzima C mostrou-se melhor estatisticamente pois tem igualdade somente com a enzima B, sendo diferentes das demais.

#### 4 CONCLUSÃO

O comportamento diferente das enzimas deve-se ao seu grau de pureza e formas de obtenção da mesma. A enzima que apresentou melhor resultados de hidrólise foi a enzima C.

#### 5 AGRADECIMENTOS

Agradeço a SDECT, a toda a equipe que auxiliou no estudo e aos fornecedores das enzimas.

## 6 REFERÊNCIAS

BVSMS, Biblioteca Virtual em Saúde do Ministério da Saúde. **Intolerância à lactose**. In: Dicas em Saúde. 2005. Disponível em: <http://bvsms.saude.gov.br/bvs/dicas/88lactose.html>. Acesso em 07 nov. 2014.

FAEDO, R., BRIÃO, V. B., CASTOLDI, S., GIRARDELLI, L., MILANI, A., Obtenção de leite com baixo teor de lactose por processos de separação por membranas associados à hidrólise enzimática. Universidade de Passo Fundo, **Revista CIATEC – UPF**, vol.3 (1), p.p.44-54, 2013.

FISCHER, Janaína. **Hidrólise de Lactose por  $\beta$ -galactosidase de *Aspergillus oryzae* Imobilizada em Reator de Leito Fixo**. Uberlândia, MG, 2010. Originalmente apresentada como dissertação de mestrado, Universidade Federal de Uberlândia, 2010.

FRIEDRICH, D. C. **A diversidade do gene LCT e a persistência da lactase na população brasileira**. Tese de doutorado submetida ao Programa de Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular da UFRGS, Porto Alegre, 2013.

WILSON, J. Intolerância ao leite: intolerância à lactose e leite de vaca alergia às proteínas. From the Mercy Medical Center, Department of Pediatrics, Division of Neonatology, Baltimore, MD. **Elsevier Inc. All rights reserved**. Vol 5, No 4 (December), 2005: pp 203–207.