

## 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.

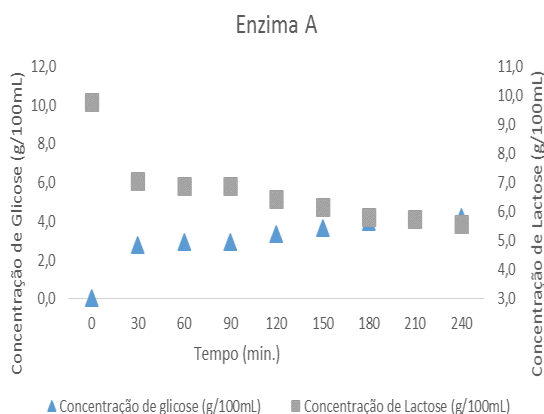
A atividade enzimática, ou seja, o processo de hidrólise da lactose foi monitorado nos tempos de reação de hidrólise de 30, 60, 90, 120, 150, 180, 210, 240 min.. Estas amostras foram inativadas em banho-maria na temperatura de 100°C por 5 min. Para determinação do grau de hidrólise foi realizada a medida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

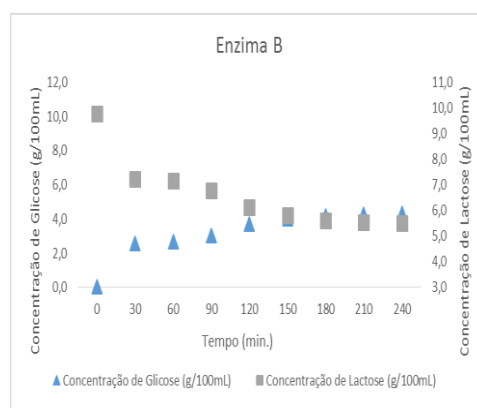
As Figuras 1 a 4 apresentam os resultados do teor de hidrólise para cada enzima testada.

**Figura 1 - Enzima A**



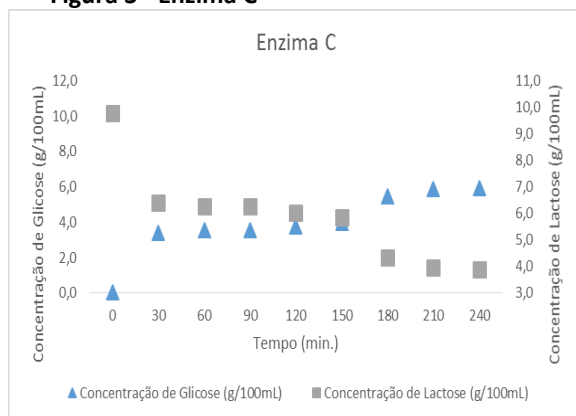
Fonte: Autor, (2015).

**Figura 2 - Enzima B**



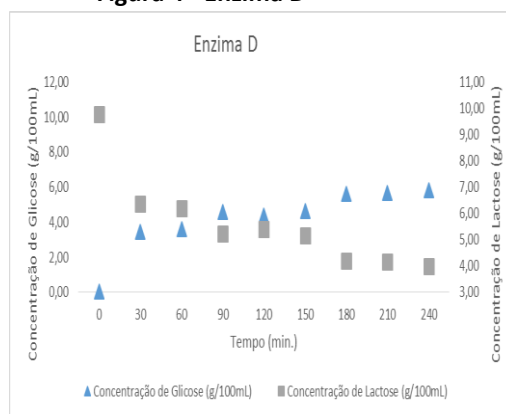
Fonte: Autor, (2015).

**Figura 3 - Enzima C**



Fonte: Autor, (2015).

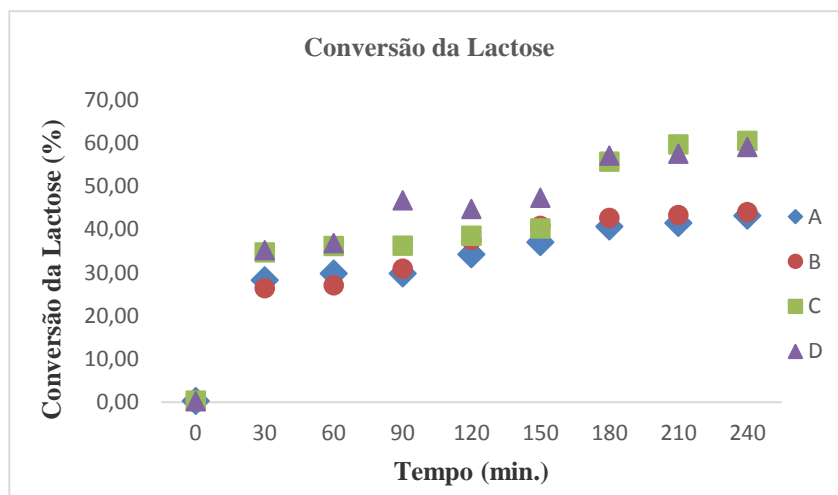
**Figura 4 - Enzima D**



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.