

# Soro de Queijo para Produção de $\beta$ -Galactosidase

## $\beta$ -Galactosidase Production Using Cheese Whey

Alessandra Bosso<sup>\*a</sup>; Adriana Aparecida Bosso Tomal<sup>b</sup>; Josemeyre Bonifácio da Silva<sup>a</sup>; Hélio Hiroshi Suguimoto<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Unopar, Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu em Ciência e Tecnologia de Leite e Derivados. PR, Brasil.

<sup>b</sup>Universidade Estadual de Londrina, Programa de Pós-Graduação em Ciências de Alimentos. PR, Brasil.

\*E-mail:

---

### Resumo

Aproximadamente 75 % da população mundial apresenta intolerância à lactose, doença congênita caracterizada pela incapacidade de absorver o açúcar presente no leite e seus derivados lácteos. Esta incapacidade se deve basicamente a inatividade ou baixa atividade da enzima intestinal  $\beta$ -galactosidase. Até o presente momento, o tratamento para as pessoas intolerantes à lactose inclui evitar o consumo de leite ou fazer uso de leite e produtos lácteos com ausência ou teor reduzido de lactose além do uso da enzima lactase já disponível comercialmente. A enzima  $\beta$ -galactosidase é responsável pela hidrólise das ligações galactosídicas da lactose em seus monossacarídeos, glicose e galactose. É produzida principalmente em microrganismos incluindo fungos filamentosos, bactérias e leveduras. Um dos principais requisitos para produção da enzima a partir de microrganismo é determinar a melhor composição nutricional do meio de fermentação. O soro de queijo é fonte abundante de carbono tendo a lactose como seu principal componente e, portanto, pode ser usado por microrganismos, como meio de cultivo para produção de  $\beta$ -galactosidase. O uso do soro de queijo com esta finalidade pode contribuir para diminuição do impacto econômico e ambiental causado pela sua produção excedente além de, se tornar um produto com valor agregado.

**Palavras-chave:** Intolerância à Lactose. Soro de Queijo. Fermentação. Microrganismos.

### Abstract

75% of the world population is lactose intolerant, a congenital disease characterized by an inability to absorb the sugar present in milk and its dairy products. This inability is basically due to inactivity or low activity of the intestinal  $\beta$ -galactosidase enzyme. The treatment includes avoiding the consumption of milk or making use of milk and dairy products lacking or reduced lactose content. The enzyme  $\beta$ -galactosidase is responsible for the hydrolysis of the galactosidic bonds of lactose in glucose and galactose. It is found mainly in microorganisms including fungi, bacteria and yeast. One of the main requirements for the production of the enzyme from microorganism is to determine the best nutritional composition of the fermentation medium. Cheese whey is an abundant source of carbon having lactose as its main component and therefore can be used as a medium for the cultivation of microorganisms for the production of  $\beta$ -galactosidase. The use of cheese whey for the production of  $\beta$ -galactosidase may contribute to the reduction of the economic and environmental impact caused by its surplus production, in addition to becoming a value-added product.

**Keywords:** Lactose Intolerance. Cheese Whey. Fermentation. Microorganism.

---

### 1 Introdução

De acordo com os autores Silva *et al.* (2019) 75 % da população mundial apresenta intolerância à lactose, doença congênita caracterizada pela incapacidade de absorver o açúcar presente no leite e em seus derivados. Esta incapacidade de absorção se deve à inatividade ou baixa atividade da enzima intestinal  $\beta$ -galactosidase. Os indivíduos que apresentam intolerância à lactose são acometidos por sintomas como flatulência, dores abdominais e diarreia (PERINI *et al.*, 2013). O tratamento para pessoas intolerantes à lactose inclui evitar o consumo de leite e derivados ou fazer uso de leite e produtos lácteos com ausência ou teor reduzido de lactose (CANANI *et al.*, 2016). Outra alternativa para minimizar os efeitos causados pela intolerância é a administração de enzimas  $\beta$ -galactosidases em diferentes formas farmacêuticas, a fim de complementar o tratamento gastrointestinal do indivíduo capacitando-o a receber doses de lactose (SAAD, 2006).

A enzima  $\beta$ -galactosidase ou lactase é responsável pela hidrólise das ligações  $\beta$ -1-4-D-galactosídicas do dissacarídeo lactose em seus monossacarídeos glicose e galactose (ANISHA, 2017). É encontrada principalmente em microrganismos incluindo fungos filamentosos, bactérias e leveduras. A utilização de microrganismos para a produção da enzima tem atraído cada vez mais o interesse da indústria (ALVES *et al.*, 2010). Para a indústria de alimentos, o objetivo é a produção de alimentos com baixos teores de lactose, melhorando a solubilidade e digestibilidade do leite e seus derivados (SANTIAGO *et al.*, 2004). O emprego da enzima na fabricação de doce de leite, sorvetes e leite condensado também proporciona melhora na textura do produto, já que evita a cristalização da lactose (KLEIN, 2010). Para a indústria farmacêutica, o uso da enzima  $\beta$ -galactosidase promove o desenvolvimento de produtos capazes de repor a enzima suprimindo a deficiência em indivíduos intolerantes a lactose (MONTALTO *et al.*, 2006). Além deste, a indústria farmacêutica

utiliza a lactase para obter galactooligosacarídeos (GOS), formados por lactose e unidades de galactose, compostos não digestíveis e não degradados pelas enzimas intestinais, que possuem propriedades prebióticas (MARTINS; BURKERT, 2009; KLEIN *et al.*, 2012).

A fermentação é uma das técnicas mais empregadas para a produção de  $\beta$ -galactosidase a partir de microrganismos já que a enzima é produzida intracelularmente ou ligada à célula (PRINCELY *et al.*, 2013). Um dos principais requisitos para produção da enzima é a composição nutricional do meio de fermentação já que a atividade da  $\beta$ -galactosidase é afetada por diferentes parâmetros como tipo de cepa, condições de cultivo, incluindo temperatura, pH, tempo de agitação e incubação e presença de fontes de carbono e nitrogênio no meio de cultivo (JURADO *et al.*, 2004; VENKATESWARULU *et al.*, 2017).

O soro de queijo se refere à porção líquida proveniente da produção de queijo ou de caseína resultante da coagulação do leite por ácido ou enzimas proteolíticas (YADAV *et al.*, 2015; SMITHERS, 2008). A produção mundial do soro de queijo (EL-TANBOLY *et al.*, 2017) é estimada em torno de 180 a 190 x 10<sup>6</sup> ton/ano. Grande parte desta quantidade gerada durante a produção do queijo é descartada tornando-se um sério problema do ponto de vista ambiental e econômico. A presença de nutrientes orgânicos e inorgânicos faz com que o soro de queijo se torne um recurso potencial para a produção de vários alimentos de valor agregado (YADAV *et al.*, 2015). A sua utilização ainda é pouco significativa e, portanto, o soro de queijo deve ser processado de maneira a se obter o menor impacto ambiental (PRAZERES *et al.*, 2012).

Considerando os aspectos levantados, o objetivo desta revisão foi apresentar o potencial uso do soro de queijo para a produção da enzima  $\beta$ -galactosidase responsável pela hidrólise da lactose em seus monossacarídeos, galactose e glicose, obtendo assim, alimentos com baixo teor de lactose, melhorando a solubilidade e digestibilidade do leite e derivados lácteos, próprios para o consumo de pessoas com intolerância à lactose.

## 2 Desenvolvimento

### 2.1 Metodologia

O presente trabalho apresenta uma análise e revisão atual e sistemática da literatura nacional e internacional, reunindo informações sobre a utilização do soro de queijo para produção da enzima  $\beta$ -galactosidase. As buscas foram realizadas nas bases eletrônicas PubMed, Science Direct, Periódicos Capes, e Google Acadêmico utilizando os seguintes descritores: enzima  $\beta$ -galactosidase, fermentação, soro de queijo e intolerância à lactose.

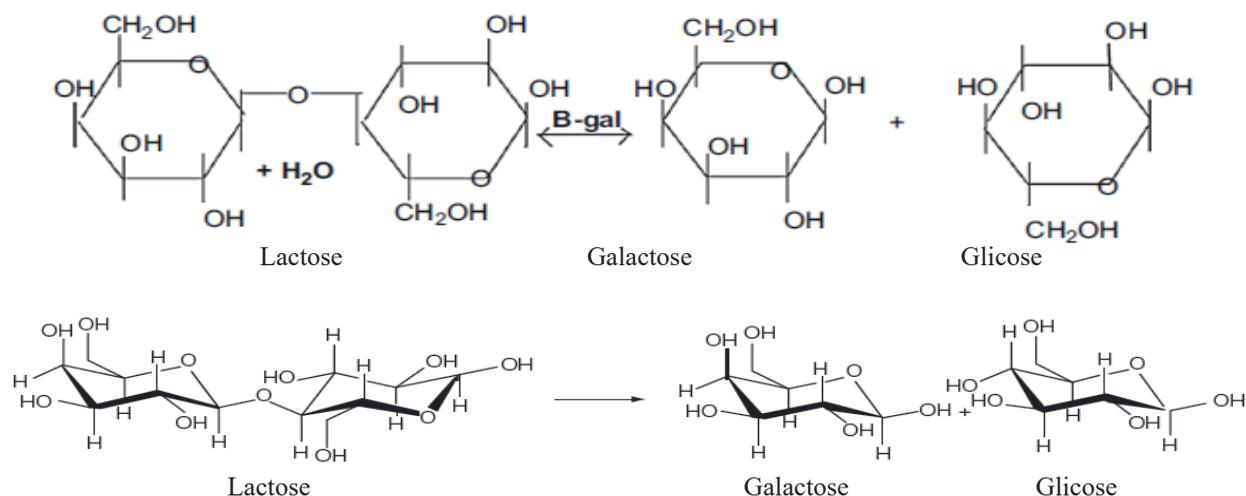
### 2.2 Intolerância à Lactose

A intolerância à lactose é uma doença caracterizada pela incapacidade de absorver a lactose presente no leite e em seus derivados devido aos baixos níveis de atividade da enzima

intestinal  $\beta$ -galactosidase (OAK; JHA, 2018; SILVA; LOPES, 2015). Os principais sintomas da doença incluem dores abdominais, diarreia, náuseas e flatulência (SITANGGANG *et al.*, 2016; MAHONEY, 2003). Basicamente, existem três tipos de intolerância à lactose: a congênita, a primária ou ontogenética e a intolerância secundária. A deficiência congênita é uma patologia genética rara e manifesta-se em recém-nascidos, logo após a primeira ou segunda ingestão de leite, sendo uma condição permanente. A quantidade de enzima  $\beta$ -galactosidase nesses neonatos é muito baixa ou ausente (WOOTEN, 2010), quando não diagnosticada, o recém-nascido pode vir a óbito (GASPARIN *et al.*, 2010). A intolerância primária ou ontogenética é uma condição permanente, determinada geneticamente e tem origem na redução da atividade da lactase. Desenvolve-se naturalmente, ao longo do tempo, com a diminuição da produção de  $\beta$ -galactosidase desde a infância até a idade adulta, sendo essa classe de intolerância a que predomina na população mundial (MATTAR; MAZO, 2010). Já a intolerância secundária é uma condição temporária. A atividade da lactase é reduzida devido a doenças ou lesões que prejudicam a mucosa intestinal como, por exemplo, doença celíaca não tratada, doença de Chron, e gastroenterite. Nesse caso, quando a doença ou a lesão se cura, a atividade da  $\beta$ -galactosidase é recuperada (TURSI *et al.*, 2006). Até o presente momento, não há relatos de cura para a intolerância à lactose (SILVA *et al.*, 2019). O tratamento inclui a exclusão parcial de produtos lácteos da dieta ou uso de fórmulas sem lactose. Alguns alimentos são melhores tolerados que outros, por exemplo, o chocolate ao leite é mais aceito na dieta de adultos e crianças intolerantes à lactose do que o chocolate branco. Queijos duros (cheddar, suíço e parmesão) também são melhores aceitos devido à menor quantidade de lactose e alto conteúdo de sólidos (ANTUNES; PACHECO, 2009). A reposição da enzima lactase em diferentes formas farmacêuticas também pode ser uma alternativa. A enzima ingerida diminuem os sintomas da intolerância à lactose e podem ser suplementos em alimentos que contenham esse açúcar, ou ainda ingeridos com refeições que possuam lactose (FLOOD; KONDO, 2004).

### 2.3 Enzima $\beta$ -galactosidase

A  $\beta$ -galactosidase ou lactase ( $\beta$ -D-galactosídeo galactohidrolase; EC 3.2.1.23) é uma enzima que catalisa a hidrólise das ligações do resíduo terminal  $\beta$ -galactopiranosil da lactose (Gal $\beta$ 1 $\rightarrow$ 4Glc) dando origem a uma mistura equimolecular de glicose e galactose (Figura 1). A lactose é um dissacarídeo presente no leite materno em concentrações de 3 a 8 %, e cerca de 70 a 80 % dos componentes sólidos do soro de queijo são lactose. A lactose apresenta baixa solubilidade e doçura quando comparada a seus monômeros, glicose e galactose, que são mais doces, solúveis e mais digestíveis (ANISHA, 2017).

**Figura 1** - Hidrólise da lactose em seus monômeros, galactose e glicose, pela enzima  $\beta$ -galactosidase.

Fonte: Martins e Burkert (2009)

A enzima  $\beta$ -galactosidase também realiza a transferência de galactose, ligada por uma ligação glicosídica à glicose, da lactose a vários receptores incluindo lactose, butanol e antibióticos (clorfenesina e cloranfenicol). Esta transferência de galactose para a lactose é chamada transgalactosilação e os produtos das reações são chamados galactooligosacarídeos (GOS), úteis na saúde humana como alimento prebiótico. Os prebióticos não são digestíveis, mas podem modificar a microflora intestinal em favor de bactérias promotoras da saúde, como *Bifidobacterium sp.* e *Lactobacillus sp.* (MLICHOVÁ; ROSENBERG, 2006). Os prebióticos são componentes alimentares não digeríveis que atuam seletivamente na proliferação ou atividade de populações de bactérias desejáveis no cólon (CORZO *et al.*, 2015). Aplicações médicas e industriais baseadas na  $\beta$ -galactosidase incluem clivagem de sangue glicótopos do grupo A e B, biossensor para determinação específica de lactose em leite e diagnóstico da doença, tratamento da má absorção de lactose e produção de lactose hidrolisada no leite (ASRAF; GUNASEKARAN, 2010).

A  $\beta$ -galactosidase pode ser obtida a partir de uma grande variedade de fontes, como microrganismos, plantas ou células animais (PEREIRA-RODRÍGUEZ *et al.*, 2012). Em plantas, é encontrada particularmente em amêndoas, pêssego, damasco, maçã, e em órgãos de animais, tais como intestino, cérebro, testículos, placenta. Também são produzidas por uma grande quantidade de microrganismos como fungos filamentosos, bactérias e leveduras, sendo as leveduras e fungos filamentosos as fontes preferidas para aplicações comerciais (RUBIO-TEIXEIRA, 2006; MARTINS; BURKERT, 2009).

As  $\beta$ -galactosidases produzidas pelas bactérias são amplamente utilizadas para hidrólise da lactose por serem de fácil fermentação, apresentar alta atividade enzimática e boa estabilidade térmica (HUSSAIN, 2010). Entre as fontes bacterianas, as do ácido láctico (LAB), que compreendem um

grupo variado de lactococos, estreptococos e lactobacilos, têm sido as mais estudadas devido ao seu status GRAS (Generally Recognized as Safe - geralmente considerada segura), que oferecem a possibilidade de usar as enzimas resultantes sem extensa purificação. Além disso, pessoas intolerantes à lactose podem consumir produtos lácteos fermentados com pouco ou nenhum efeito adverso e a atividade probiótica da LAB confere melhor digestão da lactose (VASILJEVIC; JELEN, 2002). *Bifidobacterium sp.* e *Lactobacillus sp.* são as bactérias mais utilizadas como probióticos em alimentos e sistemas alimentares devido aos seus potenciais benefícios para a saúde. As  $\beta$ -galactosidases produzidas por fungos filamentosos são geralmente extracelulares e termoestáveis. As fontes fúngicas mais utilizadas para produção da enzima são *Aspergillus oryzae* (BAILEY; LINKO, 1990), *Aspergillus aculeatus* (FRENZEL *et al.*, 2015), *Penicillium expansum*, *Penicillium chrysogenum* (NAGY *et al.*, 2001) e *Paecilomyces aeruginus* (KATROLIA *et al.*, 2011). Já as  $\beta$ -galactosidases provenientes de leveduras são enzimas intracelulares que apresentam alta habilidade de hidrolisar a lactose e, por isto, são as mais empregadas comercialmente para produção de leite com reduzido teor de lactose. *Kluyveromyces marxianus* (espécie que inclui *Saccharomyces fragilis*) é capaz de crescer em vários substratos incluindo lactose como única fonte de carbono e energia. Apresentam pH ótimo próximo a neutralidade e isto explica seu emprego comercial, já que atuam em pH adequado para a hidrólise da lactose do leite e são consideradas seguras para uso em alimentos (HUSSAIN, 2010).

A fermentação submersa é método mais empregado para a produção de  $\beta$ -galactosidase (ANISHA, 2017) já que em muitos casos, a enzima produzida é intracelular ou ligada à célula. O potencial de aplicação da  $\beta$ -galactosidase depende da sua atividade que é influenciada por vários fatores tais como tipo de cepa, condições de cultivo (temperatura, pH,

tempo de incubação e agitação) e os nutrientes presentes no meio de cultivo (particularmente carbono e nitrogênio) (JURADO *et al.*, 2004; TARI *et al.*, 2009). Diversos autores vêm desenvolvendo pesquisas para determinar as melhores condições para produção da lactase. Meera *et al.* (2013) avaliaram o efeito da temperatura e do pH na produção de  $\beta$ -galactosidase proveniente de levedura probiótica. No estudo, a maior atividade enzimática ( $53 \text{ U mL}^{-1}$ ) foi obtida em meio de fermentação com pH 5,0; temperatura de  $35 \text{ }^\circ\text{C}$  e 24 h de fermentação. Perini *et al.* (2013) observaram maior atividade da  $\beta$ -galactosidase ( $21,99 \text{ U mL}^{-1}$ ) quando empregada temperatura de  $31 \text{ }^\circ\text{C}$  associada à presença de  $820 \text{ mL L}^{-1}$  de soro de queijo e  $14,36 \text{ g L}^{-1}$  de licor de milho, após 24 h de incubação. Al-jazairi *et al.* (2015) estudaram a otimização da produção de  $\beta$ -galactosidase por *Kluyveromyces marxianus* e concluíram que as condições ótimas foram de 10 % de concentração de açúcar; velocidade de agitação de 250 rpm; pH 3; temperatura ótima de  $20 \text{ }^\circ\text{C}$  e tempo de incubação de 64 h, obtendo atividade de  $4997 \text{ U mL}^{-1}$ . Morioka *et al.* (2016) estudaram a permeabilização de células de *Saccharomyces fragilis* IZ 275 e concluíram que as condições ótimas para a obtenção de uma alta atividade enzimática ( $10,59 \text{ U mg}^{-1}$ ) foram de 35 % de concentração de etanol, temperatura de  $15 \text{ }^\circ\text{C}$  e tempo de tratamento de 20 min. Venkateswarulu *et al.* (2017) verificaram as condições ótimas para a fermentação submersa de *B. subtilis* VUVD001 e concluíram que a maior atividade de lactase foi obtida com  $14,01 \text{ g L}^{-1}$  de lactose,  $10,30 \text{ g L}^{-1}$  de extrato de levedura,  $0,43 \text{ g L}^{-1}$  de triptofano e  $5,32 \text{ g L}^{-1}$  de  $\text{MgSO}_4$ . Vários autores sugerem determinar as melhores condições do meio de fermentação, ou seja, determinar os componentes nutricionais, como um dos principais requisitos para a produção de  $\beta$ -galactosidase.

Saqib *et al.* (2017) descreve uma série de aplicações da enzima  $\beta$ -glicosidase para a indústria de alimentos. No tratamento de leite e produtos lácteos com intuito de hidrolisar a lactose e reduzir o seu teor, para evitar a cristalização em sorvetes e leite condensado, para melhoria da textura e da digestibilidade do produto. De acordo com o mesmo autor, outra aplicação importante da  $\beta$ -galactosidase é a conversão da lactose de soro de queijo em produtos, como xaropes doces que são utilizados na indústria de panificação e confeitaria.

## 2.4 Soro de queijo

O soro de queijo compreende a porção líquida produzida durante o processo de fabricação do queijo ou resultante do processo de coagulação da caseína do leite. A produção mundial do soro de queijo (EL-TANBOLY *et al.*, 2017) é estimada em torno de 180 a  $190 \times 10^6$  ton/ano. Dentre as indústrias alimentícias, as de laticínios são consideradas as mais poluentes, devido ao seu grande consumo de água e geração de efluentes líquidos, que constituem a principal fonte de poluição dessa tipologia de indústria (ANDRADE, 2011). Segundo Andrade (2011), os efluentes líquidos gerados nos processos de produção de laticínios possuem elevados

teores de matéria orgânica, gorduras, sólidos suspensos e nutrientes, e são considerados a principal fonte de poluição dessas indústrias. Com a fabricação de queijos em larga escala sua disposição tornou-se um grande problema, devido à elevada carga orgânica e menor biodegradabilidade em relação aos outros efluentes gerados nas fábricas de laticínios (ANDRADE, 2011).

A atividade gera efluentes líquidos industriais que não podem ser lançados diretamente em cursos d'água. As Resoluções 20, de 13 de junho de 1986 (BRASIL, 1986) e 430, de 13 de maio de 2011 do Conselho Nacional do Meio Ambiente - CONAMA (BRASIL, 2011) do Ministério do Meio Ambiente - MMA dispõem que todo e qualquer resíduo ou elemento que altere as características naturais das águas, no caso incluídos os resíduos da atividade de laticínios, devem ser removidos antes do descarte, ou seja, é obrigatório o tratamento para seu descarte antes de serem lançados na natureza.

A demanda bioquímica de oxigênio - DBO e os valores de demanda química de oxigênio - DQO do soro são cerca de 27 a  $60 \text{ g L}^{-1}$  e de 50 a  $102 \text{ g L}^{-1}$ , respectivamente (PRAZERES *et al.*, 2012). A eliminação de soro de queijo em esgotos interrompe o processo biológico de estações de tratamento de águas residuais. Quando descartado no solo, afeta características físico-químicas que resultam na diminuição da produtividade das culturas. Já em corpos de água, reduz o oxigênio dissolvido, dificulta a biodegradabilidade e representa um grande risco para a vida aquática e para o meio ambiente.

O soro de queijo pode ser doce ou ácido. Quando da coagulação enzimática, é produzido o soro doce, resultante da fabricação de queijo duro, semiduro ou suave e que apresenta pH em torno de 5,3 a 6,6; já quando da coagulação ácida, é fabricado o soro ácido com valores de pH entre 4,4 e 5,3 e é obtido da fabricação de queijos tipo cottage e ricota ou do processo industrial da obtenção da caseína (YADAV *et al.*, 2015). Os principais componentes de ambos os soros, ácido e doce, além da água que constitui a maior parte, são lactose (70-72 % do total de sólidos), proteínas do soro (8-10 %) e de 12 a 15 % de minerais. Cálcio, potássio, sódio e magnésio compreendem a maioria destes minerais com quantidades traços de zinco e cobre (VENETSANEAS *et al.*, 2009).

Tradicionalmente, o soro de queijo em sua forma não modificada é utilizado para a alimentação animal que fornece proteínas de alta qualidade, lactose como fonte de energia, minerais como cálcio, fósforo e enxofre e vitaminas solúveis. O soro de queijo também pode ser usado como fertilizante (RYAN; WALSH, 2016).

Na alimentação humana, o soro de queijo pode ser utilizado para obtenção de bebidas tipo "whey", suco de frutas adicionado de soro de queijo, e em bebidas com baixo teor alcoólico como a cerveja de soro, vinho e champanhe (SIENKIEWICZ; RIEDEL, 1990). Também, pode ser usado para a fabricação de ricota, manteiga de soro, sorvete de soro,

entre outros. No entanto, todos esses produtos apresentam um apelo comercial limitado e desta forma, a indústria não consegue usar as grandes quantidades geradas para que o mesmo não se torne um resíduo. As proteínas do soro também têm usos na indústria alimentícia, já que suas propriedades físicas lhes permitem agir como emulsionantes, gelificantes/aglutinantes e agentes espumantes em sistemas alimentícios (PANESAR *et al.*, 2010).

## 2.5 Soro de queijo para produção de $\beta$ -galactosidase

De acordo com Macwan *et al.* (2016) nos últimos anos vários estudos foram conduzidos sobre a utilização do soro de queijo devido à suas propriedades e valor nutricional, tornando-o assim, um produto de valor agregado. Uma das aplicações mais promissoras do soro de queijo é como meio de cultivo durante a fermentação de microrganismos que então, consomem a lactose pela sua bioconversão (PANESAR *et al.*, 2013). O processo de fermentação requer a princípio um substrato ou nutrientes que podem ser utilizados puros ou fazendo parte de uma mistura complexa. O soro de queijo pode ser utilizado como meio fornecedor de nutrientes para os microrganismos já que é fonte abundante de carbono tendo a lactose como seu principal componente (KOSSEVA *et al.*, 2009).

You *et al.* (2017) utilizaram o soro em pó como substrato de baixo custo para a produção de  $\beta$ -galactosidase. Viana *et al.* (2017) também estudaram como meio de cultivo o soro de queijo para o crescimento de *Aspergillus oryzae* e habilidade em produzir a enzima. Perini *et al.* (2013) utilizaram fontes de carbono (soro de queijo) e nitrogênio (licor de milho) para avaliar a produção de  $\beta$ -galactosidase por *Kluyveromyces marxianus*. Os autores observaram que a maior atividade da  $\beta$ -galactosidase foi de 21,99 U mL<sup>-1</sup> no meio de cultivo contendo 39,43 g L<sup>-1</sup> de lactose (820 mL L<sup>-1</sup> soro de queijo) e 14,36 mL L<sup>-1</sup> licor de milho, contudo, de acordo com a metodologia de superfície de resposta apenas a concentração de soro de queijo e temperatura foram significativas para o resultado. Bosso (2016) determinou as melhores condições de cultivo de *Saccharomyces fragilis* em soro de queijo para a produção de  $\beta$ -galactosidase. A autora utilizando a metodologia de superfície de resposta concluiu que a máxima atividade (54,20 U mL<sup>-1</sup>) foi alcançada com as concentrações de 14 g L<sup>-1</sup> de sacarose, 17,7 g L<sup>-1</sup> de soro de queijo, 5,14 g L<sup>-1</sup> de extrato de levedura e 8,85 g L<sup>-1</sup> de peptonas nas condições de 30 °C, 180 rpm e 72 h de fermentação.

## 3 Conclusão

O soro de queijo é abundante fonte de carbono, sendo a lactose seu principal constituinte e desta forma, tornando-se um produto de valor agregado para a produção da enzima  $\beta$ -galactosidase. Esta alternativa de uso do soro de queijo pode contribuir de forma direta para diminuir o impacto ambiental e econômico gerado pelo seu excedente de produção.

## Referências

- ANDRADE, L.H. Tratamento de efluente de indústria de laticínios por duas configurações de biorreator com membranas e nanofiltração visando o reuso. 2011. 214 f. Dissertação (Mestrado em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos) - Universidade Federal de Minas Gerais, Minas Gerais, 2011.
- ALVES, F.G. et al. Maximization of  $\beta$ -galactosidase production: a simultaneous investigation of agitation and aeration effects. *Appl. Biochem. Biotechnol.*, v.160, p.1528-1539, 2010. Doi: 10.1007/s12010-009-8683-z.
- AL-JAZAIRI, M. et al. Optimization of  $\beta$ -galactosidase production by response surface methodology using locally isolated *Kluyveromyces marxianus*. *Int. Food Res. J.*, v.22, n.4, p.1361-1367, 2015.
- ANTUNES, A.E.C.; PACHECO, M.T.B. *Leite para adultos: mitos e fatos frente à ciência*. São Paulo: Varela, 2009.
- ANISHA, G.S.  $\beta$ -galactosidases. Current Developments in Biotechnology and Bioengineering. In: ANISHA, G.S. *Production, Isolation and Purification of Industrial Products*. Amsterdam: Elsevier, 2017, 395-421.
- ASRAF, S.S.; GUNASEKARAN P. Current trends of  $\beta$ -galactosidase research and application. In: MENDEZ-VILAS, A. Current research, technology and education topics in applied microbiology and microbial biotechnology. *Formatex Res. Center*, v.2, p.880-890, 2010.
- BAILEY, M.J.; LINKO, M. Production of  $\beta$ -galactosidase by *Aspergillus oryzae* in submerged bioreactor cultivation. *J. Biotechnol.*, v.16, p.57-66, 1990.
- BOSSO, A. Determinação das melhores condições de cultivo da *Saccharomyces fragilis* e de sua permeabilização para a produção de  $\beta$ -galactosidase visando o desenvolvimento de um produto intolerante à lactose. 2016. 118 f. Tese de Doutorado (Doutorado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2016.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n. 16, de 23 de agosto de 2005. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Bebida Láctea. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 24 ago. 2005. Disponível em: <<http://www.cda.sp.gov.br/www/legislacoes/popup.php?action=view&idleg=702>>.
- BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Resolução nº 20, de 18 de junho de 1986. Conselho Nacional do Meio Ambiente CONAMA. Dispõe sobre a classificação das águas doces, salobras e salinas do Território Nacional. Diário Oficial da União, Brasília: MMA, 1986.
- BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Resolução nº 430, de 13 de maio de 2011. Conselho Nacional do Meio Ambiente CONAMA. Dispõe sobre condições e padrões de lançamento de efluentes, complementa e altera a Resolução nº 357, de 17 de março de 2005, do Conselho Nacional do Meio Ambiente - CONAMA. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 16 maio 2011. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=646>>.
- CANANI, R.B. et al. Diagnosing and treating intolerance to carbohydrates in children. *Nutrients*, v.8, n.3, p.157, 2016. <https://doi.org/10.3390/nu8030157>.
- CORZO, N. et al. Prebióticos; concepto, propiedades y efectos beneficiosos. *Nutr. Hospital.*, v.31, n.1, p.99-118, 2015.
- EL-TANBOLY, E.S.; EL-HOFI, M.; KHORSHID. Recovery of cheese whey, a by-product from the dairy industry for use as an animal feed. *J. Nutr. Health Food Eng.*, v.6, n.5, p.148-154, 2017.

10.15406/jnhfe.2017.06.00215

FLOOD, M.T.; KONDO, M. Toxicity evaluation of a  $\beta$ -galactosidase preparation produced by *Penicillium multicolor*. *Regulatory, Toxicol. Pharmacol.*, v. 40, p. 281-292, 2004.

FRENZEL, M. et al. Comparison of the galacto-oligosaccharide forming activity of different  $\beta$ -galactosidases. *LWT - Food Sci. Technol.*, v.60, p.1068-1071, 2015.

GASPARIN, F.S.R.; TELES, J.M.; ARAÚJO, S.C. Alergia a proteína do leite de vaca versus intolerância à lactose: as diferenças e semelhanças. *Rev. Saúde Pesq.*, v.3, n.1, p.107-117, 2010.

HUSSAIN, Q. Beta galactosidases and their potential applications: a review. *Crit. Rev. Biotechnol.*, v.30, p.41-62, 2010.

JURADO, E. et al. Kinetic model of activity for proposed for  $\beta$ -galactosidases: influence of pH, ionic concentration and temperature. *Enzyme Microbial Technol.*, v.34, p.33-40, 2004.

KATROLIA, P. et al. Molecular cloning and high-level expression of a  $\beta$ -galactosidase gene from *Paecilomyces aeruginus* in *Pichia pastoris*. *J. Mol. Catalysis B: Enzymatic*, v.69, p.112-119, 2011.

KLEIN, M.P. Imobilização de  $\beta$ -galactosidase para obtenção de produtos lácteos com baixo teor de lactose. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2010.

KLEIN, M.P. et al. Effect of the Support size on the properties of beta-galactosidase immobilized on chitosan: advantages and disadvantages of macro and nanoparticles. *Biomacromolecules*, v.13, n.8, p.2456-2464, 2012.

KOSSEVA, M.R. et al. Use of immobilised biocatalysts in the processing of cheese whey. *Int. J. Biol. Macromolecules*, v.45, n.5, p.437-447, 2009.

MACWAN, S.R. et al. Whey and its Utilization. *Int. J. Current Microbiol. Appl. Sci.*, v.8, p.134-155, 2016.

MARTINS, A.R.; BURKERT, C.A.V. revisão: galacto-oligossacarídeos (GOS) e seus efeitos prebióticos e bifidogênicos. *Braz. J. Food Technol.*, v.12, n.3, p.230-240, 2009.

MATTAR, R., MAZO, D.F.C. Intolerância à lactose: mudança de paradigmas com a biologia molecular. *Rev. Assoc. Med. Bras.*, v.56, p.230-236, 2010.

MEERA, N.S.; THEJA, P.C.; DEVI, M.C. Production and optimization of  $\beta$ -galactosidase enzyme using probiotic Yeast Spp. *Scholars Res. Library Ann. Biol. Res.*, v.4, p.62-67, 2013.

MLICHOVÁ, Z.; ROSENBERG, M. Current trends of  $\beta$ -galactosidase application in food technology. *J. Food Nutr. Res.*, v.45, p.47-54, 2006.

MONTALTO, M. et al. Management and treatment of lactose malabsorption. *World J. Gastroenterol.*, v.12, n.2, p.187-191, 2006.

MAHONEY, R.R. Enzymes exogenous to milk in dairy,  $\beta$ -d-galactosidase. *Encycl Dairy Sci.*, v.2, p.907-914, 2003.

MORIOKA, L.R.I.; COLOGNESI, G.O.; SUGUIMOTO, H.H. Permeabilization of *Saccharomyces fragilis* IZ 275 cells with ethanol to obtain a biocatalyst with lactose hydrolysis capacity. *Acta Scie. Biol. Sci.*, v.38, p.149-155, 2016. doi: 10.4025/actascibiolsci.v38i2.29220

NAGY, Z. et al.  $\beta$ -Galactosidase of *Penicillium chrysogenum*: production, purification, and characterization of the enzyme. *Protein Expression Purification*, v.21, p.24-29, 2001.

OAK, S.J.; JHA, R. The effects of probiotics in lactose intolerance: a systematic review. *Crit. Rev. Food Sci Nutr.*, 2018. doi: https://

doi.org/10.1080/10408398.2018.1425977.

PANESAR, P.S.; KUMARI, S.; PANESAR, R. Review article: potential applications of immobilized  $\beta$ -galactosidase in food processing industries. *Enzyme Res.*, p.1-16, 2010.

PRAZERES, A.R.; CARVALHO, F.; RIVAS, J. Cheese whey management: a review. *J. Environ. Manag.*, v.110, p.48-68, 2012.

PEREIRA-RODRÍGUEZ, A. et al. Structural basis of specificity in tetrameric *Kluyveromyces lactis*  $\beta$ -galactosidase. *J. Structural Biol.*, v.177, p.392-401, 2012.

PERINI, B.L.B. et al. Production of  $\beta$ -galactosidase from cheese whey using *Kluyveromyces marxianus* cbs 6556. *Chem. Engineering Transactions*, v.32, p.991-996, 2013.

PRINCELY, S. et al. Biochemical characterization, partial purification, and production of an intracellular beta-galactosidase from *Streptococcus thermophilus* grown in whey. *Euro. J. Experimental Biol.*, v.3, n.2, p.242-251, 2013.

RUBIO-TEXEIRA, M. Endless versatility in the biotechnological applications of *Kluyveromyces* LAC gens. *Biotechnol. Adv.*, v.24, p.212-225, 2006.

RYAN, M.P.; WALSH, G. The biotechnological potential of Whey. *Rev. Environ. Scie. Bio/Technol.*, v.15, p.479-498, 2016.

SAAD, S.M.I. Probióticos e prebióticos: o estado da arte. *Rev. Bras. Ciênc. Farm.*, v.42, n.1, p.1-16, 2006.

SANTIAGO, P.A. et al. Estudo da produção de  $\beta$ -galactosidase por fermentação de soro de queijo com *Kluyveromyces marxianus*. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, v.24, p.567-572, 2004.

SAQIB, S. et al. Sources of  $\beta$ -galactosidase and its applications in food industry. *Biotech*, v.7, p.79, 2017. doi: 10.1007/s13205-017-0645-5.

SIENKIEWICZ, T.; RIEDEL, C.L. Utilization of whey. Whey and whey utilization. Gelsenkirchen: Verlag Th. Mann, 1990.

SILVA, P.H.F. et al. Cow's milk protein allergy and lactose intolerance. *Raw Milk Balance Between Hazards Benefits*, p.295-309, 2019. doi: https://doi.org/10.1016/B978-0-12-810530-6.00014-6.

SMITHERS, G.W. Whey and whey proteins-From "gutter-to-gold". *Int. Dairy J.*, v.18, p.695-704, 2008.

SILVA, G.G.; LOPES, L.A. Intolerância a lactose e galactosemia: importância dos processos metabólicos. *Braz. J. Surg. Clin. Res.*, v.11, n.4, p.57-62, 2015.

SITANGGANG, A.B.; DREWS, A.; KRAUME, M. Recent advances on prebiotic lactulose production. *World J. Microbiol. Biotechnol.*, v.32, p.154, 2016. doi: 10.1007/s11274-016-2103-7.

TARI, C.; USTOK, F.I.; HARSA, S. Optimization of the associative growth of novel yoghurt cultures in the production of biomass,  $\beta$ -galactosidase and lactic acid using response surface methodology. *Int. Dairy J.*, v.19, p.236-43, 2009.

TURSI, A. et al. Transient Lactose malabsorption in patients affected by symptomatic uncomplicated diverticular disease of the colon. *Digestive Dis. Scie.*, v.51, p.461-465, 2006.

VIANA, C.S. et al. Determination of cell permeabilization and beta-galactosidase extraction from *Aspergillus oryzae* CCT 0977 grown in whey cheese. *Int. J. Chem. Eng.*, 2018. doi: https://doi.org/10.1155/2018/1367434

VENETSANEAS, N. et al. Using cheese whey for hydrogen and methane generation in a two-stage continuous process with alternative pH controlling approaches. *Bioresour Technol.*, v.100, n.15, p.3713-7, 2009.

- VENKATESWARULU, T.C. et al. Modeling and optimization of fermentation variables for enhanced production of lactase by isolated *Bacillus subtilis* strain VUVD001 using artificial neural networking and response surface methodology. *Biotech.*, v.7, p.1-7, 2017. doi: 10.1007/s13205-017-0802-x.
- VASILJEVIC, T.; JELEN P. Lactose hydrolysis in milk as affected by neutralizers used for the preparation of crude  $\beta$ -galactosidase extracts from *Lactobacillus bulgaricus* 11842. *Innov. Food Scie. Emerg. Technol.*, v.3, p.175-84, 2002.
- WOOTEN, W.J. Lactose intolerance and ethnic prevalence. In: WOOTEN, W.J. *National institutes of health. Lactose Intolerance and Health*. Kensington: National Institutes of Health, 2010. p.49- 52,
- YADAV, J. et al. Cheese whey: a potential resource to transform into bioprotein, functional/nutritional proteins and bioactive peptides. *Biotechnol. Adv.*, v.33, p.756-774, 2015. doi: 10.1016/j.biotechadv.2015.07.002.
- YOU, S. et al. Utilization of whey powder as substrate for low-cost preparation of  $\beta$ -galactosidase as main product, and ethanol as by-product, by a litre-scale integrated process. *Bioresource Technology*, v.245, p.1271-1276, 2017. doi: 10.1016/j.biortech.2017.08.092.