

Potencial Biotecnológico da Microalga *Chlorella vulgaris* para a Produção de β -galactosidase

Biotechnological Potential of the Microalgae *Chlorella vulgaris* for the Production of β -galactosidase

Camila Fernanda Alba^a; Luiz Rodrigo Ito Morioka^a; Hélio Hiroshi Suguimoto^{*a}

^aUnopar, Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu em Ciência e Tecnologia do Leite. PR, Brasil.

*E-mail: helio.suguimoto@unopar.br

Resumo

O soro de queijo é a porção líquida proveniente da produção de queijos resultante da coagulação ácida ou enzimática das caseínas do leite. Cerca de 40% do soro de queijo produzido no Brasil, é descartado de forma inadequada, apenas 15% dos laticínios no país utilizam toda matéria prima para elaborar novos produtos. Aproximadamente 75% da população mundial apresenta algum tipo de intolerância à lactose que se deve à inatividade ou baixa atividade da enzima intestinal β -galactosidase. A β -galactosidase é uma proteína popularmente conhecida como lactase, classifica-se como uma hidrolase com potencial de hidrolisar a lactose (dissacarídeo), em glicose e galactose (monossacarídeo). É uma enzima de grande importância para a indústria de alimentos, no setor de laticínios e derivados. O objetivo do presente estudo visa fazer um levantamento sobre o potencial biotecnológico de microalga para a produção de compostos bioativos, como por exemplo, a enzima β -galactosidase.

Palavras-chave: Biotecnologia. Enzima. Fermentação. Microalgas.

Abstract

Cheese whey is a proven liquid portion of the production of acidic or enzymatic coagulation of milk caseins. Approximately 40% of the content of cheese produced in Brazil is discarded inappropriately, only 15% of dairy products in the country use all raw materials to make new products. Approximately 75% of the world population has some type of lactose intolerance that should be due to inactivity or low activity of the intestinal β -galactosidase enzyme. β -galactosidase is a protein popularly known as lactase, classified as a hydrolase with the potential to hydrolyze lactose (disaccharide), into glucose and galactose (monosaccharide). It is an enzyme of great importance for the food industry, no sector of dairy products and derivatives. The objective of the present study is to carry out a survey on the biotechnological potential of microalgae for the production of bioactive compounds, such as an β -galactosidase enzyme.

Keywords: *Biotechnology. Enzyme. Fermentation. Microalgae.*

1 Introdução

O soro de queijo é um subproduto correspondente à porção líquida proveniente da produção de queijo ou da separação da caseína do leite resultante da coagulação ácida ou utilização de enzimas proteolíticas (SMITHERS, 2008; YADAV *et al.*, 2015). Segundo Nunes (2016) os pequenos e médios laticínios convivem com a problemática de ausência de planejamento no desenvolvimento e descarte apropriado de seus subprodutos. Diante do exposto, observa-se que na questão relacionada ao aproveitamento de resíduos, a engenharia de bioprocessos surge como uma área estratégica e útil na pesquisa acadêmica industrial, agregando valor com o desafio de produção de biomoléculas de grande interesse mercadológico (DORAN, 2012).

A grande vantagem e desafio nesta área é converter os resíduos e subprodutos utilizando os processos biotecnológicos, que muitas vezes englobam: pré-tratamentos com agentes físicos e biológicos, com posteriores etapas de produção e purificação controladas, obtendo-se biomoléculas

de alto valor agregado como antioxidantes naturais, agentes antimicrobianos, vitaminas, além de enzimas, celulose, amido, lipídeos, proteínas e pigmentos, sendo estes de grande interesse para as indústrias química, petroquímica, farmacêutica, cosmética e alimentícia (MURTHY, MADHAVA, 2012). Frente a isso as indústrias têm visto um grande potencial neste resíduo para produção de enzimas capazes de hidrolisar a lactose presente no leite e derivados a fim de ajudar indivíduos que sofrem com o distúrbio de intolerância a lactose.

Silva *et al.* (2019) verificaram que 75 % da população mundial apresenta algum tipo de intolerância à lactose e esta doença é caracterizada pela incapacidade de absorver o açúcar presente no leite e em seus derivados. Esta incapacidade de absorção da lactose do leite se deve à inatividade ou baixa atividade da enzima intestinal β -galactosidase (lactase) em humanos podendo levar a um desconforto gastrointestinal e outros sintomas (LULE, 2016). Para atender as necessidades dos consumidores que apresentam determinada condição de intolerância aliado à importância do valor nutricional dos produtos lácteos, as indústrias de alimentos têm elaborado

produtos sem lactose ou com baixo teor de lactose através da utilização de enzimas (RONG *et al.*, 2011; BAILEY *et al.*, 2013; TROISE *et al.*, 2016).

As enzimas são catalisadores potenciais de modo que suas reações são caracterizadas pela formação de um produto oriundo da reação da enzima com o substrato. Estas agem diminuindo a energia de ativação e assim, aumentando a velocidade das reações (NELSON & COX, 2013). A enzima β -galactosidase (E.C.3.2.1.23) é uma enzima popularmente conhecida como lactase, ou pelo seu nome sistemático β -D-galactosídeo galactohidrolase, classifica-se como uma hidrolase com potencial de hidrolisar a lactose (dissacarídeo), em glicose e galactose (monossacarídeos). É uma enzima de grande importância para a indústria de alimentos, no setor de laticínios e derivados e indústria farmacêutica (ANDRADE, 2005; OLIVEIRA, 2005; WANG *et al.*, 2010; FALLEIROS, 2012).

O uso de microrganismos para a produção desta enzima aumentou o interesse da indústria (ALVES *et al.*, 2010). O objetivo da indústria de alimentos é produzir alimentos com baixo teor de lactose, melhorando a solubilidade e digestibilidade do próprio leite e seus derivados (SANTIAGO *et al.*, 2004). Para a indústria farmacêutica, o uso da enzima β -galactosidase promove o desenvolvimento de produtos capazes de repor a enzima no organismo suprimindo a deficiência em indivíduos intolerantes à lactose (MONTALTO *et al.*, 2006).

A técnica mais empregada para a produção de β -galactosidase é a fermentação a partir de microrganismos visto que a enzima é produzida intracelularmente ou ligada à célula (PRINCELY *et al.*, 2013). A composição nutricional do meio de fermentação é um dos principais requisitos para produção da enzima já que a atividade da β -galactosidase é afetada por diferentes parâmetros como tipo de cepa microbiana, condições de cultivo, 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).

Tendo em vista a importância do destino correto para o soro de queijo, e visto que possui um grande potencial biotecnológico para uso industrial o objetivo do presente estudo visa fazer um levantamento sobre o potencial biotecnológico de microalga para a produção de compostos bioativos, como por exemplo, a enzima β -galactosidase, utilizando soro de queijo como meio de cultura.

2 Desenvolvimento

2.1 Metodologia

Este estudo é do tipo revisão bibliográfica para levantamento de dados, os critérios de inclusão de estudos na revisão sistemática foram: a) estudos com amostras de utilização de soro de queijo e lactose; b) estudos que envolveram microalgas e produção de compostos bioativos.

Como critérios de exclusão foram definidos: a) artigos de opinião ou cartas de editores; b) Pesquisas não publicadas em periódicos com revisão por pares.

A busca foi conduzida nas bases de dados eletrônicas Scielo, Lilacs, Pubmed e Google acadêmico. As bases foram selecionadas por apresentarem mais artigos publicados sobre o assunto. Durante a busca não houve limitação de linguagem nem de tempo. A busca foi composta pelos descritores Cheesewhey, microalgae, lactose, β -galactosidase, enzime, compostos bioativos e biotecnologia. Os operadores booleanos AND, OR e IN foram empregados para a constituição das estratégias de busca.

Todos os títulos e resumos dos artigos obtidos na busca foram avaliados. Os resumos onde os estudos foram considerados com informações insuficientes para definir sua elegibilidade foram mantidos para análise completa do texto. Os textos foram avaliados por completo e foi determinada a elegibilidade de cada estudo.

A extração dos dados dos artigos selecionados foi feita pelos autores. Dados gerais dos estudos foram coletados, estruturados e analisados. A análise dos dados foi realizada, os resultados foram extraídos, agrupados e formatados. Após a extração dos resultados dos estudos incluídos e agrupamento dos achados relevantes, foram criados temas com representações concisas mais abrangentes, através de análise de conteúdo dos principais resultados.

2.2 Discussão

2.2.1 Soro de queijo

O soro de queijo é considerado um dos efluentes líquidos que mais contribuem para a alta carga poluidora do meio ambiente e apresenta uma Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO) variando de 25.000 a 120.000 mg/L, sendo que nele está contida aproximadamente metade dos sólidos do leite (FEAM, 2003). A produção mundial de soro de queijo foi estimada em cerca de 180 a 190 $\times 10^6$ toneladas por ano e 50% do soro de queijo mundial é tratado e transformado em vários alimentos e produtos. Metade é usada diretamente na forma líquida, 30% como soro de queijo em pó, 15% como lactose e seus subprodutos e o que sobra como concentrados de proteína de soro de queijo (BALDASSO, 2011; SPALATELU, 2012; EL-TANBOLY *et al.*, 2017).

A indústria de laticínios está entre as maiores geradoras de resíduos, sendo uma das mais importantes do setor agroindustrial (FERNÁNDEZ-GUTIÉRREZ *et al.*, 2017). Com o intuito de atender as leis ambientais, que estão se tornando cada vez mais rigorosas, as indústrias têm buscado alternativas biotecnológicas, inovadoras e viáveis para o tratamento dos resíduos agroindustriais e o desenvolvimento de novos produtos. Com a indústria de laticínios não é diferente, setor no qual o principal efluente (soro do queijo) apresenta elevado volume de produção, uma rica composição nutricional e alto poder poluente, tornando-se alvo de

estudos para transformá-lo de poluidor ambiental em fonte de bioprodutos com alto valor agregado (PRAZERES *et al.*, 2012).

A geração do soro proveniente da produção de queijos representa 80 a 90% do volume total de leite que entra no processo, ou seja, para cada 1 kg de queijo são gerados 9 litros de soro, e contém cerca de 50% dos nutrientes do leite como pode ser observado na tabela 1: proteínas solúveis, lactose, vitaminas e minerais. Com o início da fabricação de queijos em larga escala, a disposição desse resíduo tornou-se um grande problema, uma vez que sempre foi descartado sem que fossem consideradas as consequências ambientais e atualmente, já pode ser considerado pelo seu valor nutricional, o que faz com que seu beneficiamento ou utilização adequado tenham grande importância econômica (MAGANHA, 2006). 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).

Quadro 1 – Composição média do leite bovino e soro

Componentes	Concentração no Leite (% m/v)	Concentração no Soro (% m/v)
Caseína	2,8	0
Proteínas	3,7	0,9
Gordura	3,7	0,04
Cinzas	0,7	0,7
Lactose	4,9	4,9
Sólidos totais	12,8	6,35
Umidade	87,2	93,5

Fonte: Dados da pesquisa.

2.2.2 Lactose e intolerância a lactose

A lactose é o principal carboidrato encontrado no leite, considerada uma importante fonte energética aos organismos, é um dissacarídeo sintetizado pelas células da glândula mamária em uma reação de um radical D-glicose e D-galactose unidos por uma ligação glicosídica. Apresenta baixo poder adoçante e baixa solubilidade em água, é digerida no intestino delgado através da enzima β -galactosidase também conhecida como lactase (PEREIRA *et al.*, 2012; TREVISAN, 2008, FERREIRA, 2008).

Esta enzima é responsável pela hidrólise da lactose em glicose e galactose, como representado na Figura 1, cuja absorção ocorre na mucosa intestinal para assim ser metabolizada no fígado (SANTOS *et al.*, 2014).

A intolerância a lactose é uma reação alimentar adversa, portanto não relacionada ao sistema imunológico e sim a uma deficiência enzimática da β -galactosidase (SPOLIDORO *et al.*, 2012; GASPARI, *et al.*, 2010). Sabe-se que a prevalência da intolerância a lactose varia de acordo com a etnia, abrangendo 90% da população sudeste asiática, de 70 a 80% da população do sul da Europa e menos de 5% do norte da Europa, além de acometer predominantemente pessoas com 50 anos ou mais, tendo uma estimativa de 46% de pessoas com esta intolerância. A estimativa mundial é de que 70% da

população possuam intolerância à lactose (HARTWIG, 2014).

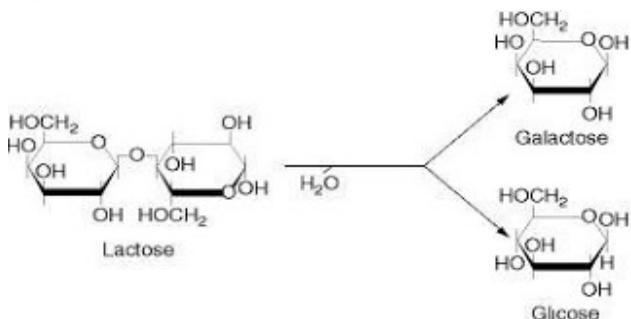
Segundo Wooten (2010) existem três tipos de intolerância à lactose: a congênita, a primária ou ontogenética e a intolerância secundária. A deficiência congênita é uma patologia genética rara e se manifesta em recém-nascidos, logo após, a primeira ou segunda ingestão de leite, sendo uma condição permanente. A quantidade de enzima β -galactosidase nesses neonatos é muito baixa ou ausente e quando não diagnosticada, o recém-nascido pode vir a óbito (GASPARI, *et al.*, 2010).

A intolerância primária ou ontogenética é uma condição permanente, determinada geneticamente e que tem origem na redução da atividade da β -galactosidase. Desenvolve-se naturalmente, ao longo do tempo, com a diminuição da produção de lactase desde a infância até a idade adulta, sendo essa a classe de intolerância a predominante 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. No caso da doença se curar, a atividade da β -galactosidase é recuperada (TURSÍ *et al.*, 2006). Até o presente momento, não há relatos de cura para a intolerância à lactose (SILVA *et al.*, 2019).

Caso a lactose não seja hidrolisada, este carboidrato percorrerá diretamente para o cólon onde será fermentada por bactérias intestinais resultando em uma alta produção de ácidos orgânicos e gases (SÁ *et al.*, 2014). De acordo com Savaiano (2006) indivíduos com intolerância a lactose possuem deficiência na absorção deste carboidrato tendo como consequência o acúmulo do mesmo acarretando em um aumento local de água resultando em fezes amolecidas, aceleração do trânsito intestinal e evacuações, inchaço e dores abdominais dentre outros sintomas, a lactose não absorvida é fermentada pelas bactérias intestinais gerando gases.

Segundo Antunes (2009) para o tratamento da intolerância é necessário a exclusão total ou parcial de produtos lácteos da dieta ou uso de fórmulas sem lactose. Determinados alimentos são melhores tolerados que outros por conterem concentração de lactose mais baixa, por exemplo, o chocolate ao leite é mais aceito na dieta de adultos e crianças intolerantes do que o chocolate branco. Queijos duros (cheddar, suíço e parmesão) também são mais aceitos devido à menor quantidade de lactose e alto conteúdo de sólidos. A reposição da enzima lactase em diferentes formas farmacêuticas também pode ser uma alternativa para indivíduos intolerantes a lactose. A enzima ingerida diminui 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).

Figura 1 - Representação das Estruturas da Lactose, Galactose e Glicose



Fonte: Zadow (1986).

2.2.3 Produção de β -galactosidase

A β -galactosidase é classificada como uma hidrolase com capacidade de transferir para grupos galactosila, possui duas atividades catalíticas, primeiramente a β -galactosidase catalisa o resíduo terminal β -galactopiranosil da lactose (Gal β 1-4 glc) para formar glicose e galactose, enriquecendo o produto hidrolisado com galactooligossacarídeos e a enzima converte a lactose em outro dissacarídeo, a alolactose. A enzima é bastante específica para o açúcar na posição galactosil, mas é habilitada para hidrolisar β -Dgalactopiranosídeos com uma ampla variedade de aglicona. Por essa particularidade, a alolactose é finalmente convertida pela enzima em glicose e galactose (MORTOZA, 2012).

A β -galactosidase (EC 3.2.1.23) é a enzima capaz de hidrolisar a lactose em glicose e galactose (KATROLIA *et al.*, 2011). Um dos principais coprodutos agroindustriais empregados na produção da enzima β -galactosidase como fonte de carbono é o soro de queijo (SANTIAGO *et al.*, 2004; PANESAR, 2008; OBEROI *et al.*, 2008), porém de acordo com Vasiljevic e Jelen (2001), o crescimento do microorganismo e a produção da enzima em meio, contendo somente soro de queijo, é praticamente desprezível, sendo necessária a sua suplementação com fontes de nitrogênio, sais minerais e vitaminas.

Ladero e colaboradores (2000) relataram que as β -galactosidasas são encontradas na natureza, distribuídas entre vegetais, animais e microrganismos, e assim, suas características variam de acordo com sua origem. A β -galactosidase pode ser encontrada em amêndoas, pêssegos, damascos e maçãs, assim como em alguns órgãos de animais como intestino, cérebro e placenta. Porém, a extração da enzima destas fontes apresenta alto custo e baixo rendimento, devido a baixa concentração da enzima. Desta forma, a β -galactosidase é obtida principalmente a partir de microrganismos, especialmente fungos filamentosos, leveduras e bactérias.

A β -galactosidase pode ser aplicada na indústria de duas formas: como “free enzyme”, enzima em solução, ou como uma enzima imobilizada em biorreator (GANZLE *et al.*, 2008).

2.2.4 Características das microalgas

As microalgas são seres uni ou multicelulares que são capazes de crescerem pouca quantidade de água, poucos nutrientes e dióxido de carbono, absorvendo a energia solar e utilizando fotossíntese como mecanismo de energia (AHMAD *et al.*, 2011). São encontradas principalmente em oceanos e lagos, mas também podem ser encontradas na superfície de diversos tipos de solo (TOMASELLI, 2004). São seres procariontes (cianobactérias) ou eucariontes (algas verdadeiras) (MATA; MARTINS; CAETANO, 2010).

São organismos fotossintetizantes que convertem luz, água, nutrientes e dióxido de carbono em biomassa, que pode ser empregada na obtenção de biocompostos, como suplemento alimentar humano, alimento animal ou fonte de óleo, que pode ser convertido em biodiesel com a utilização de tecnologias já existentes, como a transesterificação (CHISTI, 2007; BANERJEE *et al.*, 2002). Elas se adaptam facilmente as condições ambientais devido a sua estrutura celular considerada simples. De acordo com sua elevada taxa de crescimento, possuem uma alta produtividade de lipídios, uma vez que seus metabólitos são alterados para a acumulação natural de triacilgliceróis (ABOMOHRRA *et al.*, 2016).

De acordo com Lourenço (2006) baseado em suas diferenças, as microalgas recebem subdivisões a partir do: número de células (unicelulares ou pluricelulares), dimensão, recebendo a denominação de microalgas as algas que apresentam dimensões microscópicas e as macroalgas. Podem viver em colônias ou livremente e contém clorofila, dando a coloração verde na maioria dos casos e a depender do pigmento mais abundante podem apresentar coloração marrom e vermelha.

A *Chlorella vulgaris*, por exemplo, é uma microalga unicelular, com formato esférico, globular ou elipsoidal, não móvel (não possui flagelos) que pode atingir diâmetros entre 2,0 μ m e 10,0 μ m, sendo muito utilizada na biotecnologia. Algumas espécies de *Chlorella* são marinhas e outras são dulcícolas. Sua composição média é de aproximadamente 20 % de gordura, 45 % de proteína, 20 % de carboidrato e 10 % de minerais e vitaminas (PHUKAN *et al.*, 2011).

2.2.5 Fatores relacionados ao cultivo de microalgas

As microalgas apresentam alta taxa de crescimento e alta eficiência fotossintética. Por essa razão, podem ser utilizadas em diferentes aplicações, como nutrição humana e animal, indústria farmacêutica e de cosméticos, produção de biocombustíveis, produção de enzimas e, inclusive, no tratamento de águas residuais (DOMINGUEZ, 2013; TAN *et al.*, 2015; ZHU, 2015). Os sistemas para o crescimento das microalgas podem ser definidos de acordo com a espécie e condições de cultivo. Os principais são: autotrófico, heterotrófico e mixotrófico.

A condição de cultivo autotrófica é baseada no processo de fotossíntese, no qual a microalga utiliza a luz e o gás carbônico

dissolvido no meio de cultivo como fonte de carbono. A condição heterotrófica dispõe apenas de matéria orgânica dissolvida como fonte de carbono e energia, sem presença de luz. Por sua vez, a condição mixotrófica é composta por duas fases: a primeira em sistema autotrófico, cuja fonte de carbono é um composto inorgânico. A segunda em sistema heterotrófico, cuja fonte de carbono é um composto orgânico, ou seja, é um processo metabólico no qual a fotossíntese é a principal fonte de energia, embora os compostos orgânicos e o dióxido de carbono são essenciais. Essa combinação permite o aumento da produtividade em biomassa (BRENNAN; OWENDE, 2010; MATA; MARTINS; CAETANO, 2010).

Estudos envolvendo o crescimento da microalga *Spirulina sp.* em cultivo mixotrófico, em meio suplementado com glicose, indicaram que a presença deste açúcar colaborou com a redução da perda de biomassa durante o período noturno (TORZILLO *et al.*, 1991). Ressalta-se que as células não realizam fotossíntese na ausência de luz. De acordo com Andrade e Costa (2008) a respiração celular é capaz de suprir o processo de energia do microrganismo neste período. Uma alternativa ao uso de glicose é o aproveitamento de resíduos orgânicos provenientes da indústria alimentícia.

É necessário uma fonte energética para o crescimento das microalgas, seja essa fonte proveniente da energia luminosa, que está relacionada com o crescimento autotrófico ou advinda de algum composto orgânico para o crescimento heterotrófico. A fonte de carbono no crescimento autotrófico é o CO₂ do ar atmosférico ou o HCO₃⁻ - dissolvido na água, bem como macronutrientes (NPK) e os micronutrientes, que são os metais e em alguns casos, as vitaminas.

Dentre os autotróficos Delabary (2012) destacou que há os seres fotoautotróficos, que captam a energia unicamente da luz e os heteroautotróficos ou quimioautotróficos, que através dos compostos inorgânicos e íons conseguem absorver a energia necessária ao seu metabolismo. No cultivo mixotrófico, são utilizados a luz, compostos orgânicos e inorgânicos como fonte energética e de CO₂ (FRANCO, 2013).

Sobre o cultivo heterotrófico Lopes (2014) declara que os compostos orgânicos que são utilizados pelas microalgas como fonte de energia e carbono são o glicerol, glicose e acetato. Tal mecanismo apresenta vantagem em relação ao autotrófico, já que um maior controle no processo de cultivo dos microrganismos é possível, bem como baixo custo e uma maior concentração de biomassa obtida. No processo mixotrófico, é observada a utilização das fontes de carbono tanto obtida pelo ar atmosférico, através do CO₂, como através de fontes orgânicas, tal como ocorre no mecanismo heterotrófico, os dois processos acontecendo simultaneamente.

Segundo Russo (2011), as microalgas podem ser cultivadas em sistemas abertos ou fechados. Nos abertos, os microrganismos são produzidos em lagoas ou tanques ao ar livre em regime de batelada. Nos sistemas fechados são utilizados os chamados fotobiorreatores que são sistemas

utilizados para o cultivo de células fotossintéticas (as microalgas), os quais utilizam uma fonte luminosa natural ou artificial. Para cultivos mixotróficos ou heterotróficos, a fonte de carbono é orgânica: glicose, ácidos orgânicos (ácido acético, ácido láctico), alcoóis ou amino ácidos (LEE, 2004).

2.2.6 Compostos bioativos

Com relação à utilização atual das microalgas e suas aplicações Baumgartner *et al.* (2013) afirmaram que o uso dos cultivos destes microrganismos são inúmeros e a biomassa produzida é utilizada para os mais variados fins, podendo-se citar a alimentação humana e animal por meio dos suplementos alimentares, indústria de cosméticos, tratamento de águas residuais e na produção de biocombustíveis. Esse avanço observado na aplicabilidade e utilização deste microrganismo se dá principalmente ao aumento das atividades, processos e aplicações que envolvem as microalgas, já que as substâncias por elas produzidas, tais como ácidos graxos poliinsaturados, carotenóides, ficobilinas, polissacarídeos, vitaminas, esteróis e vários compostos bioativos naturais.

Adicionalmente, esses biocompostos podem apresentar atividades antioxidantes, antibacterianas, anti-inflamatórias e anticancerígenas (PLAZA, *et al.*, 2012).

O teor lipídico das microalgas varia dependendo da sua composição e o meio de cultivo. Através da fotossíntese e de fontes de carbono como o CO₂, ou a partir de fontes de carbono orgânico como glicose, é possível sintetizar diferentes ácidos graxos. As microalgas, em comparação com outras culturas energéticas como soja, palma e outros óleos vegetais, podem produzir até 100 vezes mais óleo. Dentre os principais ácidos graxos presentes na biomassa de microalgas estão o ácido oleico e o linoleico (LEE *et al.*, 2010, CAMPBELL *et al.*, 2011, MAHMOUD *et al.*, 2015).

Molina e colaboradores (2003) relataram que cultivos microalgais têm sido desenvolvidos visando à produção de biomassa, tanto para uso na elaboração de alimentos, quanto para a obtenção de compostos bioativos e medicinais com alto valor no mercado mundial, como enzimas, pigmentos, ácidos graxos, fármacos e outros, que são de grande interesse das indústrias de alimentos, química, farmacêutica e de cosméticos. As principais microalgas cultivadas comercialmente são espécies dos gêneros *Chlorella* e *Arthrospira* para a adição em alimentos naturais (health food), *Dunaliella salina* para a obtenção de betacaroteno e *Haematococcus pluvialis* para a obtenção de astaxantina (BECKER, 2004). No Quadro 2 é possível observar alguns compostos provenientes de microalgas e suas aplicações.

Quadro 2 - Produtos obtidos de microalgas e suas aplicações

Características	Produto	Aplicações
Biomassa	Biomassa	“Health food” Alimentos funcionais Aditivos alimentares Aqüicultura Condicionador de solo
Corantes e antioxidantes	Xantofilas (astaxantina e cantaxantina) Luteína Betacaroteno Vitamina C e E	Aditivos alimentares Cosméticos
Ácidos graxos	Acido araquidônico (ARA) Acido eicosapentaenico (EPA) Acido docosahexaenico (DHA) Acido gama-linolênico (GGA) Acido linoléico (LA)	Aditivos alimentares
	Superoxido dismutase (SOD) Fosfoglicerato quinase (PGK)	“Health food”
Enzimas	Luciferase e Luciferina Enzimas de restrição β -galactosidase	Pesquisa Medicina
Polímeros	Polissacarídeos Amido Acido poli-beta-hidroxibutirico – PHB	Aditivos alimentares Cosméticos Medicina
Produtos especiais	Peptídeos Toxinas Isótopos Aminoácidos (prolina, arginina, ácido aspártico) Esteróis	Pesquisa Medicina

Fonte: Dados da pesquisa.

2.2.7 Produção de β -galactosidase por microalgas

A β -galactosidase é uma enzima de alto valor na indústria alimentícia por ser utilizada na hidrólise da lactose presente no leite aliviando os problemas associados à intolerância à lactose (KIM; RAJAGOPAL, 2000).

Para a viabilização comercial dos biocompostos provenientes de microalgas, o cultivo deve ser de baixo custo e proporcional a alta concentração celular. Pesquisas têm sido realizadas utilizando diferentes fontes de carbono orgânico em diferentes fontes de cultivo. Miao e colaboradores (2016) relataram que a *Chlorella vulgaris* cresce mixotroficamente em resíduo doméstico sintético, obtendo altas concentrações celulares. Abreu e colaboradores (2012) relataram que soro de queijo é uma fonte promissora para cultivo mixotrófico de *Chlorella vulgaris*.

2.2.8 *Chlorella vulgaris*

Uma das espécies de microalgas mais utilizadas é a *Chlorella vulgaris*, sendo cultivada desde 1960 no Japão, e em 1980, já existiam aproximadamente 26 fábricas de grande escala na Ásia, produzindo cerca de 1000 kg de biomassa/mês (SPOLAORE *et al.*, 2006). Foi a primeira espécie a ser cultivada em grande escala, em 1961, no Japão pela empresa *Nihon Chlorella*, para ser comercializada como suplemento alimentar (LOURENÇO, 2006).

A *Chlorella* é amplamente usada para cadeia alimentar artificial fitoplâncton-zooplâncton-peixe, devido a sua composição de ácidos graxos, que é importante para o sucesso da aqüicultura (PETKOV; GARCIA, 2007).

Muitas pesquisas em relação às propriedades nutricionais e até mesmo medicinais das *Chlorellas* estão sendo feitas: Gouveia *et al.* (2007) utilizaram a microalga para dar coloração esverdeada a biscoitos amanteigados, Lee *et al.* (2010) utilizaram suplementação alimentar de *Chlorella* em homens fumantes no combate a radicais livres oriundos do hábito de fumar e recomendam utilização para uma dieta saudável, além de outras pesquisas envolvendo doenças ligadas à idade, tanto em animais quanto em humanos (OKAMOTO *et al.*, 1978; TSUCHIDA *et al.*, 2003).

3 Conclusão

A partir deste levantamento de dados e estudos abordados neste trabalho, foi possível observar que a biotecnologia de microalgas apresenta amplas aplicações. Porém sabe-se que as microalgas ainda não foram muito estudadas e há uma gama de produtos e processos que as envolvem ainda para serem explorados. A biomassa de microalgas e os extratos de biomassa vêm ganhando destaque no mercado mundial, isso se deve ao fato do aumento na demanda de produtos originados de microalgas, principalmente, ao fato de apresentarem substâncias com efeitos nutracêuticos, a produção de biodiesel, produção de ácidos graxos e as enzimas são de suma importância para melhorar a qualidade de vida de pessoas intolerantes a lactose e estão sendo cada vez mais exploradas e aperfeiçoadas as técnicas que envolvem a produção das mesmas. Pode-se concluir que além da diversidade de aplicações, as microalgas são produzidas de forma contínua em curto período de cultivo e pequenas áreas, requerendo cuidados simples e dispensando a utilização de produtos que influenciem seu crescimento e reprodução, facilitando seu cultivo e futuramente sua aplicabilidade.

Referências

- ABOMOHR, A.E.F. *et al.* Microalgal biomass production as a sustainable feedstock for biodiesel: current status and perspectives. *Renewable Sust. Energy Rev.*, v.64, p.596-606, 2016.
- ABREU A.P. *et al.* Mixotrophic cultivation of *Chlorella vulgaris* using industrial dairy waste as organic carbon source. *J. Biol. Chem.*, v.118, p.61-66, 2012

- AHMAD, A. L. *et al.* Optimization of microalgae coagulation process using chitosan. *Chem. Eng. J.*, v.173, n.3, p.879-882, 2011.
- ALVES, F.G. *et al.* Maximization of β -galactosidase production: a simultaneous investigation of agitation and aeration effects. *Appl. Biotechnol. Appl. Biochem.*, v.160, p.1528-1539, 2010. doi: 10.1007/s12010-009-8683-z.
- ANDRADE, A.C.D. Estudo da fermentação simultânea à hidrólise de soro de queijo utilizando lactose e *Saccharomyces cerevisiae*. Uberlândia: Universidade Federal de Uberlândia, 2005.
- ANDRADE, M.R.; COSTA, J.A.V. Cultivo da microalga *Spirulina platensis* em fontes alternativas de nutrientes. *Cienc. Agrotecnol.*, v.32, n.5, p.1551-1556, 2008.
- ANTUNES, A.E.C.; PACHECO, M.T.B. *Leite para adultos: mitos e fatos frente à ciência*. São Paulo: Varela, 2009.
- BAILEY, R.K. *et al.* Lactose intolerance and health disparities among African Americans and Hispanic Americans: An updated consensus statement. *J. Nat. Med. Assoc.*, v.105, n.2, p.112-127, 2013.
- BALDASSO C. *et al.* Concentration and purification of whey proteins by ultrafiltration. *Desalination*, v.278, p.381-386, 2011
- BANERJEE, A. *et al.* 2002. *Botryococcus braunii*: a renewable source of hydrocarbons and other chemicals. *Crit. Rev. Biotechnol.*, v.22, p.245-279, 2002.
- BARBOSA, M.J.G.V. *Microalgal photobioreactors: scale-up and optimization*. Wageningen: Wageningen University, 2003.
- BAUMGARTNER, T.R.S. *et al.* Avaliação da produtividade da microalga *Scenedesmus acuminatus* (Lagerheim) Chodat em diferentes meios de cultivo. *Rev. Bras. Bioc.*, v.11, n.2, p.250-255, 2013.
- BECKER, W. Microalgae in human and animal nutrition. In: RICHMOND, A. *Handbook of Microalgal Culture: biotechnology and applied phycology*. Oxford: Blackwell Science, 2004. p. 312-351.
- BRENNAN, L.; OWENDE, P. Biofuels from microalgae: a review of technologies for production, processing, and extractions of biofuels and co-products. *Renew. Sustainable Energ. Rev.*, v. 14, n.2, p.557-577, 2010.
- CAMPBELL, P.K.; BEER, T.; BATTEN, D. Life cycle assessment of biodiesel production from microalgae in ponds. *Bioresource Technol.*, v.102, n.1, p.50-56, 2011.
- CHISTI, Y. Biodiesel from microalgae. *Biotechnol. Adv.*, v.25, n.3, p.294-306, 2007.
- DELABARY, G.S. Avaliação do crescimento de três microalgas para a remoção de nutrientes de efluente de estação de tratamento de dejetos suínos. Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina, 2012.
- DOMINGUEZ, H. *Functional ingredients from algae for foods and nutraceuticals*. Elsevier, 2013.
- DORAN, P. Bioprocess engineering principles. *Intergovernmental Panel On.* p. 41-49, 2012.
- 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.
- FALLEIROS, L.N.S.S. Imobilização e estabilização de β -galactosidase por ligações multipontuais em duolite A568. Uberlândia: Universidade Federal de Uberlândia, 2012.
- FERNÁNDEZ-GUTIÉRREZ, D. *et al.* Biovalorization of saccharides derived from industrial wastes such as whey: a review. *Rev. Environ. Sci. Bio/Technol.*, v. 1, p. 147-174, 2017.
- FERREIRA, C.P. *Bioquímica básica*. São Paulo: MNP, 2008.
- FLOOD, M.T.; KONDO, M. Toxicity evaluation of a β -galactosidase preparation produced by *Penicillium multicolor*. *Reg. Toxicol. Pharmacol.*, v.40, p.281-292, 2004.
- FRANCO, A. L. C. Biodiesel de microalgas: avanços e desafios. *Quím. Nova*, v.36, n.3, p.437-448, 2013.
- GANZLE, M.G. *et al.* Lactose: crystallization, hydrolysis nas value ad ded derivatives. *Int. Dairy J.*, 2008.
- 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.
- GOUVEIA, L. *et al.* *Chlorella vulgaris* biomass used as colouring source in traditional butter cookies. *Innov. Food Sci. Emerging Technol.*, v.8, n.3, p.433-436, 2007b.
- HARTWIG, F.P. Intolerância à lactose: prevalência, determinantes e associação com consumo de laticínios e osteoporose. Pelotas: UFPel, 2014.
- JURADO, E. *et al.* Kinetic model of activity for proposed for β -galactosidases: influence of pH, ionic concentration and temperature. *Enzyme Microbial Technol.*, v.34, p.33-40, 2004.
- KATROLIA, P. *et al.* Characterisation of a thermostable family 42 β -galactosidase (bgalc) Family From Thermo to gama ritima showing efficient lactose hydrolysis. *Food Chem.*, n.125, p.614-621, 2011.
- KIM, J.W.; RAJAGOPAL, S.N. Isolation and characterization of β -galactosidase from *Lactobacillus crispatus*. *Folia Microbiol.*, v.45, n.1, p.29-34, 2000.
- LADERO, M. *et al.* Kinetic modeling of lactose hydrolysis with na immobilized β -galactosidase from *Kluyveromyces fragilis*. *Enzyme and Microbial Technol.*, v.27, n. 8, p. 583-592, 2000.
- LEE, J.Y. *et al.* Comparison of several methods for effective lipid extraction from microalgae. *Bioresource Technol.*, v.101, n.1, p.75-77, 2010.
- LEE, S. H. *et al.* Six-week supplementation with *Chlorella* has favorable impact on antioxidant status in Korean male smokers. *Nutrition*, v. 26, n. 2, p. 175-183, 2010.
- LOPES, D. C. Cultivo de microalgas para a produção de biodiesel: potencial a ser explorado. *Rev. Eletr. Energia*, v. 4, n. 1, p. 65 -74, 2014.
- LOURENÇO, S. O. Cultivo de microalgas marinhas: princípios e aplicações. *Rima*, v. 606, 2006.
- LULE, V. K. *et al.* Food intolerance: lactose intolerance. In: CABALLERO, B.; FINGLAS, P. M.; TOLDRÁ, F. *Encyclopedia of food and health*. Academic Press: Oxford, 2016. p. 43-48.
- MAGANHA, M. F. B. *Guia técnico ambiental da indústria de produtos lácteos* 2006.
- MAHMOUD, E. A., *et al.*, Evaluation of the potential for some isolated microalgae to produce biodiesel. *Egyptian J. Petrol.*, v.24, n.1, p.97-101, 2015.
- MATA, T.M. *et al.* Microalgae for biodiesel production and other applications: a review. *Renewable Sustainable Energy Rev.*, v.14, n.1, p.217-232, 2010.
- MATTAR, R., MAZO, D.F.C. Intolerância à lactose: mudança de paradigmas com a biologia molecular. *Rev Assoc. Méd. Bras.*, v.56, p.230-236, 2010.
- MIAO, M-S. *et al.* Mixotrophic growth and biochemical analysis of *Chlorella vulgaris* cultivated with synthetic domestic

- wastewater. *Int. Biodeter. Biodegrad.*, v.113, p.120-125, 2016.
- MOLINA GRIMA, E. et al. Recovery of microalgal biomass and metabolites: process options and economics. *Biotechnol. Adv.*, v. 20, p. 491-515, 2003.
- MONTALTO, M. et al. Management and treatment of lactose malabsorption. *World J. Gastroenterol.*, v.12, n.2, p.187-191, 2006.
- MORTOZA, A. R. Produção e purificação de β -galactosidase expressa por fungo isolado do bioma cerrado brasileiro visando à aplicação como suplemento digestivo. Brasília: Universidade de Brasília, 2012.
- MURTHY, P.S.; MADHAVA NAIDU, M. Sustainable management of coffee industry byproducts and value addition: a review. *Res. Conserv. Recycling*, v. 66, p. 45–58, 2012.
- NELSON, D.L., COX, M.M. Lehninger Principles of Biochemistry. p 189-190, 2013.
- NUNES, L.A. Prospecção na valorização e gerenciamento do soro do leite no Litoral 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.
- OBEROI, H.S. et al. β -galactosidase production by supplementing Enhanced whey with cauliflower waste. *Int. J. Food Sci. Technol.*, v.43, n.8, p.1499-1504, 2008.
- OKAMOTO, K. et al. Effects of *Chlorella* alkali extract on blood pressure in SHR. *Japanese Heart J.*, v. 19, p. 622–623, 1978.
- OLIVEIRA, C.C.M.D. Produção de β -galactosidase por levedura recombinante-Desenvolvimento de um sistema de produção estável. Braga: Universidade de Minho, 2005.
- PANESAR, P. Production of whey using *Kluyveromyces marxianus*. *Res. J. Micro Biol.*, v.3, n.1, p.24-29, 2008.
- PEREIRA, M C S, et al. Lácteos com baixo teor de lactose: Uma Necessidade Para Portadores De Má Digestão Da Lactose Em Um Nicho De Mercado. *Rev. Inst. Latic.* “Cândido Tostes”, n.389, p.57-65, 2012
- PETKOV, G. et al. Which are fatty acids of the green alga *Chlorella*. *Biochem. System. Ecol.*, v.35, p.281-285, 2007.
- PINTO, F.A. *Metodologia da espectroscopia no infravermelho para análise dos soros provenientes da fabricação de queijos Minas padrão e prato*. Belo Horizonte: Universidade Federal de Minas Gerais, 2010.
- PLAZA M. et al. Comprehensive characterization of the functional activities of pressurized liquid and ultrasound-assisted extracts from *Chlorella vulgaris*. *LWT- Food Sci. Technol.*, v.6 , p.245-253, 2012.
- PHUKAN, M. M. et al. Microalgae *Chlorella* as a potential bio-energy feedstock. *Current Status Future Trends*, v. 88, n.10, p.3307-3312, 2011.
- PRAZERES, A.R. et al. Cheese whey management: a review. *J. Environ. Manag.*, v.110, p.48-68, 2012. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2012.05.018>
- 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.
- RONG, Q.I.A.O. et al. Milk consumption and lactose intolerance in adults. *Biom. Environ. Sci.*, v.24, n.5, p.512-517, 2011.
- RUSSO, D.A.M.T. Estudo do crescimento da microalga *Chlorella vulgaris* numa água residual tratada, sob diferentes condições de fotoperíodo e temperatura. Lisboa: Universidade Nova de Lisboa, 2011.
- SÁ, P.T.M. et al. 2014. Aspectos etiológicos da hipolactasia. *Rev. Uningá Rev.* v.20, n.2, p.123-128, 2014.
- SANTIAGO, P.A. et al. Estudo da produção de β -galactosidase por fermentação de soro de queijo com *Kluyveromyces marxianus*. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, v.24, p.567-572, 2004.
- SANTOS, F. F. P. et al. Intolerância à lactose e as consequências no metabolismo do cálcio. *Rev. Interfaces Saúde Hum. Tecnol.*, v.4, n.2, p.1-7, 2014.
- SAVAIANO D.A. et al. Lactose intolerance symptoms assessed by meta-analysis: a grain of truth that leads to exaggeration. *Am. Soc. Nutr.*, p.1107, 1113. 2006.
- 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-togold”. *Int. Dairy J.*, v.18, p.695-704, 2008.
- SPOLAORE, P. et al. Commercial application of microalgae. *J. Biosc. Bioengineering*, p.87-96, 2006.
- SPOLIDORO, J. V. N. et al. Intolerância à lactose e alergia às proteínas do leite de vaca: patologias completamente diferentes – por que restringir as duas? *Pediatr. Mod.*, v.48, n.12, p.483-486, 2012.
- TAN, C. H. et al. Novel approaches of producing bioenergies from microalgae: a recent review. *Biotechnol. Adv.*, v.33, n.6, p.1219-1227.
- TOMASELLI, L. The microalgal cell. In: RICHMOND, A. Handbook of microalgal culture: biotechnology and applied phycology. Victoria: Blackwell Science, 2004. p.3-19.
- TORZILLO, G. et al. Temperature as an important factor affecting productivity and night biomass loss in *Spirulina platensis* grown outdoors in tubular photobioreactors. *Bioresource Technol.*, v. 38, p. 95-100, 1991.
- TREVISAN, A. P. *Influência de diferentes concentrações de enzimas lactase e temperaturas sobre a hidrólise da lactose em leite pasteurizado*. Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria, 2008.
- TROISE, A.D. et al. The quality of low lactose milk is affected by the side proteolytic activity of the lactase used in the production process. *Food Res. Int.*, v. 89, p. 514-525, 2016.
- TSUCHIDA, T. et al. Clinical study of gamma-aminobutyric acid-rich *Chlorella* for subjects with high-normal blood pressure and mild hypertension. *J. Japanese Soc. Nut. Food Sci.*, v.56, p.97-102, 2003.
- TURSI, A. et al. Transient Lactose malabsorption in patients affected by symptomatic uncomplicated diverticular disease of the colon. *Digestive Dis. Sci.*, v.51, p.461-465, 2006.
- VASILJEVIC, T.; JELEN, P. Production of β -galactosidase for lactose hydrolysis in milk and dairy β products using thermophilic lactic acid bacteria. *Innov. Food Sci. Emerging Technol.*, v.2, n.2, p.75-85, 2001.
- 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. *Biotechnol.*, v.7, p.1-7, 2017. doi: [10.1007/s13205-017-0802-x](https://doi.org/10.1007/s13205-017-0802-x).

- WANG, K. *et al.* A novel metagenome-derived β -galactosidase: gene cloning, over expression, purification and characterization. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, v.88, p.155-165, 2010.
- 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.
- ZADOW, J.G. Utilization of milk components: whey. *Adv. Milk Processing.*, v.1. 1986.
- ZHU, L. Biorefinery as a promising approach to promote microalgae industry: an innovative framework. *Renewable Sustainable Energy Rev.*, v.41, p.1376-1384, 2015.