

Produção de β -galactosidase Através da *Saccharomyces fragilis* Cultivada em Soro de Queijo

Production of β -galactosidase through *Saccharomyces Fragilis* Grown in Cheese whey

Gisele Karine Murador^{*a}; Alessandra Bosso^a; Hélio Hiroshi Suguimoto^a; Luiz Rodrigo Ito Morioka^a

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

*E-mail: gimurador@hotmail.com

Resumo

O soro do queijo é um subproduto do processo de produção de queijo, sendo este a fração aquosa obtida após a coagulação das caseínas do leite. É rico em lactose, proteínas do soro do queijo (β -lactoglobulina e α -lactoalbumina), vitaminas e minerais. O Soro pode ser utilizado como meio de cultivo por diversos micro-organismos para produção da enzima β -galactosidase, pois estes utilizam a lactose como fonte de carbono. A β -galactosidase é umas das enzimas mais importantes para os laticínios, pois hidrolisa a lactose em glicose e galactose. A β -galactosidase é utilizada para melhorar as características tecnológicas e de textura de produtos lácteos e desenvolvimento de novos produtos isentos de lactose. A β -galactosidase pode ser obtida por diferentes espécies de micro-organismos como fungos, leveduras e bactérias, de animais, frutos e plantas. Porém as de origem microbiana são as de maior interesse para a indústria, uma vez que estas são consideradas seguras para o consumo e possuem maior rendimento.

Palavras-chave: Biotecnologia. Enzima. Fermentação. Lactase. Subproduto.

Abstract

Cheese whey is a by-product of the cheese production process, which is the aqueous fraction obtained after the milk caseins coagulation. It is rich in lactose, cheese whey proteins (β -lactoglobulin and α -lactoalbumin), vitamins and minerals. Cheese whey can be used as a culture by several microorganisms for the enzyme β -galactosidase production, as they use lactose as a carbon source. β -galactosidase is one of the most important enzymes for dairy products, as it hydrolyzes lactose into glucose and galactose. β -galactosidase is used to improve the technological and texture characteristics of dairy products and to develop new lactose-free products. β -galactosidase can be obtained by different species of microorganisms such as fungi, yeasts and bacteria, from animals, fruits and plants. However, those of microbial origin are of greater interest to the industry, since they are considered safe for consumption and have the highest earnings.

Keywords: *Biotechnology. Enzyme. Fermentation. By-product.*

1 Introdução

O soro de queijo é o principal subproduto dos laticínios, sendo gerado pela coagulação de caseínas, e correspondendo aproximadamente entre 85 a 95% do volume de leite processado (GEIGER *et al.*; 2016). Adicionalmente, retém em média 55% dos nutrientes presentes no leite, entre esses a lactose, representando 4,5 a 5% (p/v), seguido das proteínas de 0,6 a 0,8% (p/v), lipídeos 0,4 a 0,5% (p/v) e sais minerais de 8 a 10% de extrato seco (SISO, 1996; GEIGER *et al.*, 2016).

A lactose é o principal carboidrato do leite, sendo um dissacarídeo constituído por seus monômeros glicose e galactose (WEAVER *et al.*, 2013; OLIVEIRA *et al.*, 2011).

Para a absorção da lactose pelo organismo é necessário a enzima β -galactosidase ou também chamada de lactase, no qual essa faz sua hidrólise liberando dois monossacarídeos, a glicose e a galactose (RANGEL *et al.*, 2015; SAQUIB, 2017). A falta ou a baixa produção da enzima lactase pelo organismo é denominada intolerância à lactose. Indivíduos diagnosticados como intolerantes à lactose, quando ingerem esse carboidrato podem ter sintomas como fezes amolecias

ou diarreias, cólicas, flatulência e inchaço (SAQUIB, 2017; MAHAN *et al.*, 2012).

A intolerância à lactose pode ser diagnosticada pelo teste de hidrogênio no ar expirado, por biópsia intestinal ou por um teste de glicose sanguínea (PARKER *et al.*, 2017). Afeta cerca de 70% da população mundial adulta (ROSOLEN *et al.*, 2015). O tratamento da intolerância a lactose pode ser feito através de dieta, necessitando da redução ou retirada total da lactose, dependendo do grau de intolerância, ou o tratamento com ingestão da enzima, ou uma combinação de ambos (MAHAN *et al.*, 2012; PARKER *et al.*, 2017).

Portanto, existe um crescente mercado para produtos isentos ou com teor reduzido de lactose (OLIVEIRA *et al.*, 2011). Esta enzima tem um alto valor comercial na indústria alimentícia e farmacêutica (VENKATESWARULU, 2017).

A β -galactosidase tem uma ampla aplicabilidade, e não se destina unicamente à fabricação de produtos sem lactose (SAQUIB, 2017). Pode ser utilizada para controlar a cristalização da lactose em sobremesas, uma vez que a lactose é higroscópica, no tratamento do soro de queijo, e também para transformá-lo em produtos como etanol e xarope doce,

podendo também ser utilizada em confeitarias e na panificação (SAQUIB, 2017; OLIVEIRA *et al.*, 2011).

Outra característica da enzima β -galactosidase é a síntese do prebiótico tais como os galato-oligossacarídeos (GOS), pelo processo de reação cinética controlada da transgalactosilação da lactose, estes são de grande interesse para indústria de laticínios (VERA *et al.*, 2020; ANISHA, 2017).

A enzima β -galactosidase pode ser obtida de diferentes fontes como micro-organismos (bactérias, fungos e leveduras), animais, plantas, frutos e tecidos, porém as de origem microbianas apresentam maior rendimento, sendo assim mais atrativas tecnologicamente pelas indústrias (OLIVEIRA *et al.*, 2011; AHMED *et al.*, 2016).

Segundo a Food and Drug Administration (FDA), a β -galactosidase, que são destinadas para uso na indústria alimentícia, devem ser preferencialmente isoladas de micro-organismos considerados seguros para a saúde, entre essas estão as espécies classificadas como *Generally Recognized As Safe* (GRAS): *Kluyveromyces lactis* e *Kluyveromyces marxianus* (uma espécie que agora inclui espécies anteriores *Kluyveromyces fragilis* e *Saccharomyces fragilis*) e as dos fungos *Aspergillus niger*, *Aspergillus candidus* e *Aspergillus oryzae* (ANISHA, 2017). As espécies de leveduras *Kluyveromyces lactis* e *Kluyveromyces marxianus* e *Saccharomyces fragilis* são as mais utilizadas para a produção de lactase (VENKATESWARULU, 2017). As lactases de leveduras são mais ativas nos tampões de pH 6,0-7,0 (VENKATESWARULU, 2017).

Portanto, a produção da enzima requer um desenvolvimento eficiente no processo fermentativo, a fim de garantir uma alta produção desta enzima (ANISHA, 2017; CHOONIA, LELE, 2013). Sendo assim, é necessário realizar o processo em laboratório, para posterior implantação em uma planta piloto e instalações industriais (CHOONIA, LELE, 2013).

Em função da importância de proporcionar um adequado destino para o soro de queijo, e tendo este um potencial uso para produção da enzima β -galactosidase, o objetivo desta revisão foi fazer um levantamento da produção da enzima através da levedura utilizando o soro de queijo como meio de cultura.

2. Desenvolvimento

2.1 Metodologia

Este estudo é uma revisão bibliográfica sistemática atual de literatura internacional e nacional. Os dados de inclusão são estudos com amostras de uso de soro de queijo e lactase, e estudos com a produção da enzima β -galactosidase. As buscas foram realizadas em bases eletrônicas Science Direct, Pub Med, Periódicos Capes. A busca foi composta pelos descritores soro de queijo, β -galactosidase, enzima, lactase e intolerância à lactose.

2.2 Discussão

2.2.1 Leite e derivados

O leite é considerado um alimento com alto valor nutricional, apresentando em sua composição, proteínas, cálcio, fósforo, magnésio e outros nutrientes (FEIJOO *et al.*, 2017; ROSOLEN *et al.*, 2015). Além desses, possui peptídeos bioativos, que desempenham uma função protetora na saúde humana, assim como ação antibacteriana, antiviral, antifúngica, antioxidante, anti-hipertensiva e antitrombótica (ROSOLEN *et al.*, 2015).

O leite de vaca é o mais importante do ponto de vista comercial e industrial (SGARBIERI, 2005). Segundo a Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura - Food and Agriculture Organization - FAO (2019), a produção mundial de leite é de 81% leite de vaca, 15% leite de búfala e um total de 4% de leite de cabras, observando que o de camela cresceu 1,5% em 2018.

O leite de vaca é uma emulsão líquida, na qual a fase contínua é formada de água e substâncias hidrossolúveis, e a fase interna ou descontínua na qual é formada, principalmente, de micelas de caseína e de glóbulos de gordura (SGARBIERI, 2005). Sua constituição é baseada em água, 87,3%, e sólidos totais, 12,7%, distribuídos em lactose 4,9%; gorduras 3,5 a 3,8%; proteínas totais; 3,3 a 3,5%; além de minerais, 0,7%, e vitaminas (SGARBIERI, 2005).

Os produtos à base de leite agregam valor comercial, os quais são economicamente mais interessantes para os laticínios, sendo os mais comuns o iogurte e o queijo como por exemplo (SGARBIERI, 2005). Durante a fabricação do queijo é obtido o soro de queijo. Para cada 1 kg de queijo são gerados 9 litros de soro de queijo, correspondendo de 85 a 95% do volume de leite (SMITHERS, 2008; GEIGER *et al.*, 2016; KOWSKI, 1979).

2.2.2 O Soro de Queijo

O soro de queijo é o subproduto mais significativo dos laticínios (GEIGER, 2016). Foi considerado um problema ambiental para as indústrias lácteas em função de sua alta carga orgânica, fazendo com que estas procurassem meios alternativos para seu descarte (ROSSETO *et al.*, 2013).

A composição do soro de queijo apresenta cerca de 50% dos sólidos do leite, conforme Quadro 1 (SMITHERS, 2008). A lactose apresenta alta proporção dos sólidos totais do soro de queijo, sendo responsável pela alta demanda bioquímica de oxigênio (DBO), e da demanda química de oxigênio (DQO) (SMITHERS, 2008; GEIGER, 2016).

Quadro 1 - Composição da análise aproximada de leite de vaca e soro de queijo

Componentes	Leite de Vaca (5 p/v)	Soro de Queijo (% p/v)
Caseína	2,8	<0,1
Proteínas do soro ^a	0,7	0,7
Gorduras	3,7	0,1
Cinzas	0,7	0,5
Lactose	4,9	4,9
Sólidos totais	12,8	6,3

^a A proteína do soro compreende aproximadamente 50% de β -lactoglobulina, 20% de α -lactoalbumina, 15% glicomacropéptidos (apenas no soro de queijo coagulado) e 15% de proteína/peptídeo em menor componentes (exemplo, imunoglobulinas, lactoferrina, lactoperoxidase, albumina sérica, lisozima e fatores de crescimento).

Fonte: Smithers (2008).

Apesar da alta concentração de lactose, no soro de queijo, pode-se obter através da biotransformação, uma gama de produtos biotecnológicos, utilizando diferentes micro-organismos bactérias ou leveduras que degradam a lactose (NUÑEZ, 2017).

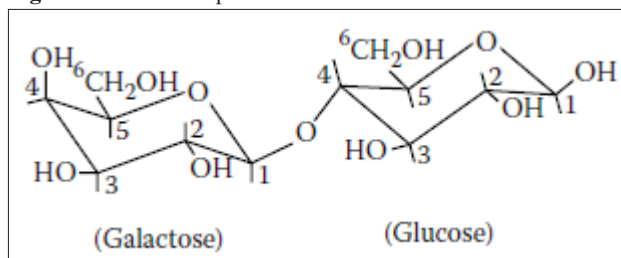
O soro de queijo pode ser obtido através da tecnologia de membranas, como a ultrafiltração. O soro de queijo ultrafiltrado é um permeado rico em lactose, que pode ser usado para processos biotecnológicos como, por exemplo, substrato para produção de β -galactosidase, enzima utilizada por indivíduos intolerantes à lactose (NUÑEZ, 2017).

2.2.3 Intolerância à Lactose

A lactose, também conhecida como açúcar do leite, é o seu principal carboidrato (MUEHLHOFF *et al.*, 2013; WEAVER *et al.*, 2013; SZILAGYI, 2019). É um dissacarídeo, formado por dois monossacarídeos, glicose e galactose, figura 1 (OLIVEIRA *et al.*, 2011).

Este dissacarídeo está presente no leite de mamíferos em concentrações que variam dependendo da espécie, com exceção dos leões-marinhos e alguns marsupiais do Pacífico (SILVÉRIO *et al.*, 2017; SZILAGYI, 2019).

Figura 1 - Estrutura química da lactose



Fonte: Dairy Science and Technology (2006).

Alguns indivíduos apresentam uma deficiência na produção da enzima β -galactosidase ou lactase em seu intestino delgado, caracterizando a intolerância à lactose. A intolerância foi descrita, pela primeira vez, em 1963, aparecendo eventualmente na população branca (MAHAN *et al.*, 2012).

Aproximadamente de 70% da população adulta mundial

apresenta algum grau de intolerância à lactose, especialmente, africanos, hispânicos, asiáticos, latino-americanos e nativos americanos. Já a população do Norte da Europa apresenta menor incidência de intolerância à lactose (MAHAN *et al.*, 2012; WEAVER *et al.*, 2013; ADAM *et al.*, 2004; HUSAIN, 2010).

De acordo com Mattar e Mazzo (2010), no Brasil, a intolerância a lactose ocorre em aproximadamente 57% da população branca e 80% da população negra, e atingindo quase 100% da população de ascendência japonesa.

A intolerância à lactose é, normalmente, diagnosticada através da avaliação dos sintomas, histórico e testes de diagnóstico, desde a determinação da atividade da lactase por meio de biópsia jejunal, teste de absorção, como a sobrecarga de lactose, o teste respiratório de hidrogênio com lactose (HBTL) e pH fecal, e estudos genéticos (PARKER *et al.*, 2017; JIMENEZ *et al.*, 2017).

A má absorção ou a intolerância à lactose são menos frequentes em crianças de até 6 anos, podendo ser mais comum em crianças de 10 a 12 anos (MAHAN *et al.*, 2012). Porém isso é variável de acordo com a etnia, como por exemplo, crianças tailandesas, com um a dois anos de idade já apresenta a perda da lactase, enquanto em crianças finlandesas, esta persiste até 10 a 20 anos (WEAVER *et al.*, 2013).

Já a deficiência de lactase na população adulta é considerada mais comum, pela regulação negativa da atividade da enzima β -galactosidase. Mesmo em adultos com alto nível de lactase em torno de 75% a 85%, esta é metade da quantidade de outras sacarídeses, como a sacarase, α -dextrinase ou glicamilase (MAHAN *et al.*, 2012). População que dependia das criações de gado em seus primeiros dias, mais do que aqueles que praticavam agricultura, assim como também aqueles que consomem uma quantidade maior de leite e derivados em geral, tem uma incidência menor de intolerância a lactose (Quadro 2) (WEAVER *et al.*, 2013; JELLEMA *et al.*, 2010).

Quadro 2 - Prevalência da hipolactasia primária em adultos, em diferentes populações

País	Prevalência (%)	Método ¹
Alemanha	14,8	BH
Áustria	20,1	BH
Brasil (branco)	57,0	G
Brasil (indígena)	89,3	BH
Brasil (japoneses)	100,0	G
Brasil (mulatos)	57,0	G
Brasil (negros)	80,0	G
China	87,3	G
Estônia	24,8	G
França	23,4	BH
Hungria	37,0	G
Índia (Norte)	67,5	G
Índia (Sul)	86,8	G
Itália	51,0	BH
Japão (adultos)	89,0	BH
Jordânia (beduínos)	24,0	BH

Jordânia (Oeste) Palestino	75,0	BH
Rússia (Noroeste)	35,6	G
Sibéria (Khan)	94,0	G/T
Somália	76,0	BH
Sudão (agricultores da tribo Béja)	16,8	BH
Sudão (agricultores da tribo Nilotis)	74,5	BH
Suécia (crianças caucasianas)	10,0	G
Suécia (crianças não caucasianas)	66,0	G
Suécia (idosos caucasianos)	5,0	G
Tuareg	12,7	BH
Turquia	71,3	BH

¹Teste de respiração do Hidrogênio (BH), Genético (G), e Glicemia/tolerância (G/T). Teste de respiração do Hidrogênio (BH), Genético (G), e Glicemia/tolerância (G/T).

Fonte: OECD/FAO (2019).

Após o desmame, o indivíduo pode ser capaz de digerir a lactose, esta condição é conhecida como lactase persistente ou normolactasia (SILVA *et al.*, 2019). E quando não se realiza a digestão da lactose a condição é denominada de lactase não persistente ou hipolactasia (SILVA *et al.*, 2019; MAHAN

et al., 2012). A hipolactasia pode ser classificada como deficiência de lactase primária ou adquirida, deficiência de lactase secundária ou transitória, e a congênita ou deficiência genética de lactase (SILVA *et al.*, 2019).

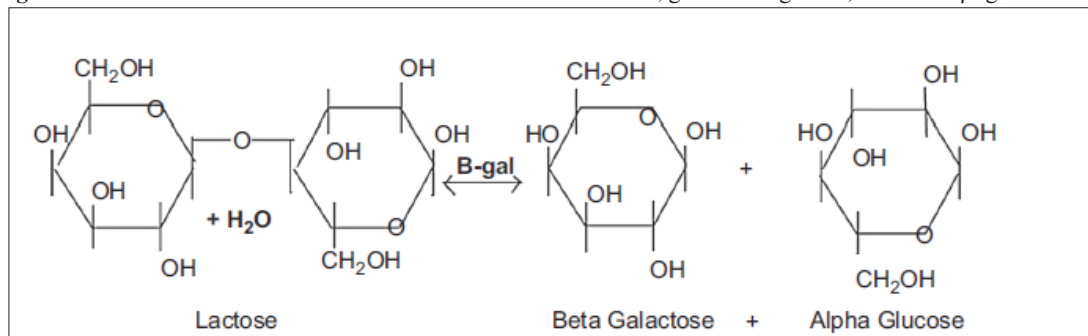
Normalmente, os indivíduos que apresentam essa intolerância podem ingerir aproximadamente 12g de lactose em uma refeição, sem apresentar nenhum ou pouco desconforto intestinal (PARKER, *et al.*, 2017). Porém uma grande parte necessita de enzimas β -galactosidase ou probióticos para não sofrerem desconfortos (PARKER *et al.*, 2017).

Portanto, existe um mercado considerável para o consumo de produtos lácteos isentos ou com baixo teor de lactose (OLIVEIRA *et al.*, 2011).

2.2.4 β -Galactosidase

A β -galactosidase (EC 3.2.1.23), também conhecida como lactase, é uma enzima capaz de hidrolisar a lactose na ligação β -1-4 D galactosídicas, liberando como produto final a D-glucose e D-galactose conforme figura 2 (KAMRAN *et al.*, 2016; OLIVEIRA *et al.*, 2011).

Figura 2 - Hidrólise do dissacarídeo lactose em dos monossacarídeos, galactose e glicose, através da β - galactosidase



Fonte: Anisha (2017).

Sua aplicabilidade, convencionalmente é na tecnologia de alimentos, na saúde, no meio ambiente, na biotecnologia, e biosensores (OLIVEIRA *et al.*, 2011; NIVETHA *et al.*, 2017).

Na tecnologia de alimentos, o alto teor de lactose e sua baixa solubilidade, podem causar cristalização da lactose, apresentando características arenosas no produto final (NIVETHA *et al.*, 2017; KAMRAN *et al.*, 2016). Portanto, o uso da β -galactosidase nas indústrias de alimentos, principalmente, nos laticínios, pode reduzir o teor de lactose nos produtos, melhorando a qualidade e aumentando sua cremosidade, maciez, doçura e digestibilidade (NIVETHA *et al.*, 2017; SILVÉRIO *et al.*, 2017).

A principal utilização biotecnológica da enzima β -galactosidase é na hidrólise da lactose (NIVETHA *et al.*, 2017).

Outra aplicabilidade da enzima β -galactosidase na hidrólise da lactose é sintetizar galactooligosacarídeos também conhecido como GOS (NIVETHA *et al.*, 2017; KAMRAN *et al.*, 2016). Os GOS são compostos que não são digeridos pelo organismo e que atuam como fibra, promovendo

o crescimento de bifidobactérias intestinais, favorecendo a microbiota intestinal, essencial para o funcionamento saudável do intestino (NIVETHA *et al.*, 2017; FEIJOO *et al.*, 2017).

2.2.5 Micro-organismos que produzem β -Galactosidase

Em função do crescente interesse na produção da β -galactosidase, diferentes estudos têm sido realizados para sua obtenção (KATROLIA *et al.*, 2011 ZHANG *et al.*, 2016). A β -galactosidase pode ser produzida por vários tipos de organismos, incluindo plantas, animais e micro-organismos (ZHANG *et al.*, 2016). Alguns micro-organismos são capazes de utilizar a lactose como única fonte de carbono e energia, sendo produtores de β -galactosidase (BARBOSA *et al.*, 2010).

As principais β -galactosidase comerciais são isoladas, principalmente, de leveduras, tais como: *Kluyveromyces lactis*, *Kluyveromyces marxianus* (espécie que agora inclui a antiga espécie *Kluyveromyces fragilis* e *Saccharomyces fragilis*, bem como o seu anamorfo *Candida pseudotropicalis*), e dos fungos *Aspergillus niger*, *Aspergillus oryzae* (AHMED; SATAR, 2012; NIVETHA *et al.*, 2017; OLIVEIRA *et al.*, 2011).

Com alta produtividade, são geralmente reconhecidos como seguros (GRAS) para o consumo humano, que é fundamental para aplicação relacionada aos alimentos (OLIVEIRA *et al.*, 2011; ROSOLEN *et al.*, 2015).

A β -galactosidase proveniente da levedura *Kluyveromyces lactis* é importante do ponto de vista comercial, pois seu habitat natural é o ambiente leiteiro (ANISHA 2017; HUSAIN *et al.*, 2010). Já as de *Kluyveromyces marxianus* são capazes de crescer em substrato com a lactose sendo a única fonte de carbono e energia (ANISHA, 2017).

Porém, as leveduras fermentadoras de lactose, as *Kluyveromyces spp.*, produzem β -galactosidase intracelular, na qual a lactose é transportada para o interior da célula por uma permease na qual ocorre a hidrólise intracelularmente para glicose e galactose, que seguem a via glicolítica (OLIVERA *et al.*, 2011; HUSAIN *et al.*, 2010).

As *Kluyveromyces marxianus* fermentam em tempos mais curtos e temperaturas mais altas, quando comparado com as *Kluyveromyces lactis* (LANE *et al.*, 2011). Normalmente, a *Kluyveromyces marxianus* é cultivada em um substrato natural, como o soro de queijo (DINIZ *et al.*, 2012).

Os critérios para o processo de fermentação, como pH, temperatura, tempo de incubação e agitação afetam o rendimento na produção da β -galactosidase (VENKATESWARULU, 2017). As condições de crescimento das células e produção da β -galactosidase depende do pH do meio e temperatura, segundo Tabela 2 (VENKATESWARULU, 2017; KAMRAN *et al.*, 2016).

Quadro 3 - pH e Temperatura de alguns micro-organismos

Micro-organismo	pH	Temperatura (°C)
<i>Aspergillus niger</i>	3.0-4.0	55-60
<i>Aspergillus oryzae</i>	4.8	50-55
<i>Escherichia coli</i>	6.9-7.5	45
<i>Kluyveromyces lactis</i>	6.5-7.3	35
<i>Kluyveromyces marxianus</i>	6.6	37
<i>Candida kefyr</i>	6.2	45-47
<i>Streptococcus thermophilus</i>	7.1	55

Fonte: García-Caribay e Gómez-Ruiz (1996).

As enzimas provenientes da levedura *Kluyveromyces marxianus* apresentam um pH ótimo por volta de 6,0 a 7,0 sendo mais ativas neste pH, tendo uma maior gama de aplicações, especialmente, na hidrólise da lactose do soro de queijo (BARBOSA *et al.*, 2010; OLIVEIRA *et al.*, 2011).

Portanto, uma modelagem cinética do processo fermentativo, muitas vezes, se faz necessário, para obtenção de informações úteis para análise do projeto e sua operação em condições ideais (CHOONIA, LELE, 2013). Dessa forma, a origem microbiana determina as principais características da enzima, como temperatura e pH ótimo (DOMINGUES *et al.* 2002).

A β -galactosidase proveniente das *Kluyveromyces ssp.* possui pH ótimo em torno de 6,0 a 7,0, por atuarem em pH

mais próximo a neutralidade-tem uma ampla faixa de aplicação (ANISHA, 2017; SAQUIB *et al.*, 2017).

Normalmente, para a produção da enzima, o método mais utilizado é o da fermentação submersa, que consiste no crescimento da biomassa em meio líquido, a fim de atingir o alto rendimento (ANISHA, 2017; KARAM *et al.*, 2016). A β -galactosidase produzida por leveduras se encontra no meio intracelular (ANISHA, 2017).

Portanto, a enzima β -galactosidase está localizada no citoplasma da levedura, sendo necessário a ruptura celular para liberar a enzima, gerando um alto custo para o processo, o que pode ser um impedimento para a produção industrial da enzima (ANISHA, 2017; VOGET, 2018).

Uma alternativa de processo para a liberação da enzima é a permeabilização celular, que normalmente requer o uso de solventes orgânicos, como: o tolueno, o clorofórmio, o etanol por exemplo (ANISHA, 2017).

Além da utilização dos solventes orgânicos para liberação da enzima, métodos mecânicos também podem ser realizados, como a sonicação, alta pressão e homogeneização (BANERJEE *et al.*, 2016).

3 Conclusão

A utilização do soro de queijo como meio de cultivo para a produção da enzima β -galactosidase, além de ser uma grande fonte de lactose utilizada por micro-organismos, é um subproduto da indústria de laticínios, dessa forma se tem um destino adequado para o soro de queijo. A enzima β -galactosidase produzida através do soro de queijo é utilizada na indústria de alimentos para melhorar a qualidade e sabor dos produtos e na elaboração de leite e derivados lácteos com baixo teor ou zero lactose, possibilitando o consumo destes produtos por indivíduos que apresentam intolerância à lactose.

Referências

- ADAMA.C. *et al* Lactose: the milk sugar from a biotechnological perspective. *Crit. Rev. Food Scie. Nutr.*, v.44, p.553-557, 2004. doi: 10.1080/10408690490931411.
- AHMED, S.; SATAR, R. Recombinant β -galactosidases – Past, present and future: A mini review. *J. Mol. Catalysis. B, Enzymatic*, v.81, p.1-6, 2012. doi:10.1016/j.molcatb.2012.04.012.
- AHMED,S. *et al* Optimization of lactase production under submerged fermentation by *Lactobacillus sp.*KLSA 22. *Int. J. Pure Appl. Biosc.*, v.4, p.212-220, 2016. doi: 10.18782/2320-7051.2321.
- ANISHA, G.S. Current developments in biotechnology and bioengineering: β -Galactosidases. *Chapter 17*, p.395-421, 2017. doi: 10.1016/B978-0-444-63662-1.00017-8.
- FEIJOO, S.*et al.* Life cycle assessment of β -Galactosidase enzyme production. *J. Cleaner Production*, 2017. doi:10.1016/j.jclepro.2017.07.076.
- ANSARI, S.A.; SATAR, R. Recombinant β -galactosidases – Past, present and future: A mini review. *J. Mol. Catalysis B: Enzymatic*, v.81, p.1-6, 2012. doi: 10.1016/j.molcatb.2012.04.012.
- BARBOSA, S.M.D.F.*et al.* Production of Beta-D-Galactosidase

- from *Kluyveromyces fragilis* Grown in Cheese Whey. *J. Dairy Sci.*, v. 68, n. 7, 2010.
- BANERJEE, G. *et al.* Chemical extraction and optimization of intracellular β -galactosidase production from the bacterium *arthrobacter oxydans* using box-behnken design of response surface methodology. *Acta Alimentaria*, v.45, p.93-103, 2016. doi: 10.1556/066.2016.45.1.12.
- CHOONIA, H.S.; LELE, S.S. Kinetic modeling and implementation of superior process strategies for β -galactosidase production during submerged fermentation in a stirred tank bioreactor. *Bioch. Eng. J.*, v.77, p.49-57, 2013. doi: 10.1016/j.bej.2013.04.021.
- DINIZ, R.H.S. *et al.* The high fermentative metabolism of *Kluyveromyces marxianus* UFV-3 relies on the increased expression of key lactose metabolic enzymes. 2012. doi: 10.1007/s10482-011-9668-9.
- DOMINGUES, L. *et al.* Construction of a flocculent *Saccharomyces cerevisiae* strain secreting high levels of *Aspergillus niger* β -galactosidase. *Microbiol. Biotechnol.*, v.58, 0P 645-650, 2002. doi: 10.1007/s00253-002-0948-1.
- FEIJOO, S. *et al.* Life cycle assessment of β -Galactosidase enzyme production. *J. Cleaner Production*, 2017. doi: 10.1016/j.jclepro.2017.07.076.
- GÁRCIA-CARIBAY, M., GÓMEZ-RUIZ, L., Usos de beta-galactosidasas microbianas para reducir El contenido de lactosa em leche y productos lácteos. *Rev. Investig. Clin.*, p.51-61, 1996.
- GEIGER, B. *et al.* From by-product to valuable components: Efficient enzymatic conversion of lactose in whey using β -galactosidase from *Streptococcus thermophilus*. *Biochemical Engineering J.*, v. 116, p. 45–53, 2016. doi: 10.1016/j.bej.2016.04.003.
- HUSAIN Q. Beta galactosidasas and their potential applications: a review. *Crit. Rev Biotechnol.*, v.30, n.1, p.41–62, 2010. doi: 10.3109/07388550903330497
- JIMÉNEZ, D.J.L.; SUÁREZ, A.F. Diagnosis of lactose intolerance. *Med. Clin.*, p.162-164, 2017.
- LANE, M.M. *et al.* Physiological and metabolic diversity in the yeast *Kluyveromyces marxianus*, *NIH*, p.507-5019, 2011. doi: 10.1007/s10482-011-9606-x.
- KAMRAN, A. *et al.* Lactose hydrolysis approach: Isolation and production of β -galactosidase from newly isolated *Bacillus* strain B-2. *Biocatalysis Agric. Biotechnol.*, v. 5, p. 99-103, 2016. doi: 10.1016/j.cbac.2015.12.010.
- KATROLIA, P. *et al.* Characterisation of a thermostable family 42 β -galactosidase (bgalc) family from thermotoga maritima showing efficient lactose hydrolysis. *Food Chem.*, n.125, p.614-621, 2011. doi:10.1016/j.foodchem.2010.08.075.
- KOSIKOWSKI, F. Whey utilization and whey products. *J. Dairy Sci.*, v.62, p.1149-1160, 1979. doi:10.3168/jds.s0022-0302(79)83389-5.
- MAHAN, L. K. *et al.* Krause alimentos, nutrição dietoterapia: tratamento nutricional nos distúrbios do trato gastrointestinal inferior. Online: Elsevier, 2013.
- MATTAR R.; CAMPOS MAZO D.F. Intolerância à lactose: mudança de paradigmas com a biologia molecular. *Rev. Assoc. Méd. Bras.*, v.56, n.2, p.230-236, 2010.
- MUEHLHOFF, E. *et al.* Milk and dairy products in human nutrition. *Food Agricul. Organiz. United Nations*, p. 86-87, 2013.
- NIVETHA. A., MOHANASRINIVASAN. V. Mini review on role of β -galactosidase in lactose intolerance. *Mat. Scie. Eng.*, 2017. doi:10.1088/1757-899X/263/2/022046.
- NUÑEZ, J. Milk whey-from a problematic byproduct to a source of valuable products for health and industry: an overview from biotechnology. *Prensa Méd. Argentina* 2017. doi: 10.4172/lpma.1000257.
- OECD/FAO. Agricultural Outlook 2019-2028. Paris: FAO, 2009. doi:10.1787/agr_outlook-2019-en.
- OLIVEIRA, C. *et al.* Recombinant microbial systems for improved β -galactosidase production and biotechnological applications. *Biotechnol. Adv.*, n.29, p.600-6009, 2011. doi: 10.1016/j.biotechadv.2011.03.008.
- PARKER, A.M.; WATSON, R.R. B. *Lactose intolerance*. Online: Elsevier, 2017. doi: 10.1016/B978-0-12-809762-5.00016-4.
- RANGEL, A.H.N. *et al.* Lactose intolerance and cow's milk protein allergy. *Food Scie. Technol.*, 2015. doi: 10.1590/1678-457X.0019.
- ROSSETTO, B. P. *et al.* Determinação da atividade da Enzima B-galactosidase por lactose do soro de queijo. *Biochem. Biotechnol. Reports*, v.1, n.2, p.28-32, 2013. doi: 10.5433/2316-5200.2012v1n2p28.
- ROSOLEN, M.D. *et al.* Lactose Hydrolysis in milk and dairy whey using microbial β -Galactosidasas. *Enzyme Res.*, v. 2015, p.1-7, 2015. doi: 10.1155/2015/806240.
- SAQIB, S. *et al.* Sources of β -galactosidase and its applications in food industry. *Biotech*, v.7, n.1, p.1-7, 2017. doi 10.1007/s13205-017-0645-5.
- SGARBIERI, V.C. Review: structural and physicochemical properties of milk proteins. *Braz. J. Food Technol.*, v.8, n.1, p. 43-56, 2005.
- SILVA, P.H.F. *et al.* *Cow's milk protein allergy and lactose intolerance*. Chapter 14. Elsevier, 2019. doi: 10.1016/B978-0-12-810530-6.00014-6.
- SILVÉRIO, C.S. *et al.* New β -galactosidase producers with potential for prebiotic synthesis. *Bioresource Technol.*, 2017. doi. org/10.1016/j.biortech.2017.11.045.
- SISO, G.M.I. The Biotechnological utilization of cheese whey: a review. *Bioresource Technol.*, 1996. doi: 10.1016/0960-8524(96)00036-3.
- SMITHERS, G.W. Whey and whey proteins-From "gutter-to-gold". *Int. Dairy J.*, v.18, n.7, p.695-704, 2008. doi: 10.1016/j.idairyj.2008.03.008.
- SZILAGYI, A. Lactose: digestion, absorption, metabolism, and physiological effects of lactose – chapter 2. Elsevier, 2019. doi:10.1016/B978-0-12-811720-0.00002-7.
- VOGET C.E. Recovery of β -galactosidase from the yeast *Kluyveromyces lactis* by cell permeabilization with sarkosyl, *Process Biochemistry*, 2018. doi: 10.1016/j.procbio.2018.06.020.
- WEAVER, C. *et al.* Milk and dairy products in human nutrition. *Food Agricul. Org. United Nations*, p.158-161, 2013.
- ZHANG, Z. *et al.* Encapsulation of lactase (β -galactosidase) into κ -carrageenan-based hydrogel beads: Impact of environmental conditions on enzyme activity. *Food Chem.*, p.69-75, 2016. doi:10.1016/j.foodchem.2016.01.014.