

Síntese de Galacto-oligossacarídeos a partir de Soro de Queijo por Reação Enzimática.

Bruna Payão Rossetto, Flávio Faria de Moraes e Gisella Maria Zanin

Universidade Estadual de Maringá – Departamento de Engenharia Química
Avenida Colombo, 5.790, Bloco D-90 – 87020-900 Maringá – Paraná – e-mail:
brunarossetto6@hotmail.com

RESUMO

Os galacto-oligossacarídeos (GOS) são componentes naturais do leite humano e de alguns vegetais, e podem ser produzidos também a partir da lactose pela reação de transgalactosilação da enzima β -galactosidase. A quantidade de GOS formada a partir da lactose sofre influência com a concentração da enzima, o tempo de reação, a temperatura e a concentração inicial de lactose. Os GOS são compostos de lactose e galactose, produzidos comercialmente por reação enzimática, onde resíduos de galactose estão ligados à lactose. Assim, o objetivo do trabalho foi estudar a influência da temperatura, concentração de lactose e da enzima na obtenção de GOS, utilizando a enzima β -galactosidase. Os resultados encontrados permitiram concluir que a concentração de lactose e da enzima foram as variáveis que apresentaram maior influência na concentração de GOS. Sendo a concentração máxima de GOS igual a 71,45 g/L obtida a 40% de lactose, 10 U/mL de enzima e temperatura de 40 °C, em 6 horas de reação, com 23,82% de rendimento, 11,91% de produtividade e 48,24% de conversão de lactose.

Palavras-chave: galacto-oligossacarídeos, β -galactosidase, hidrólise da lactose.

INTRODUÇÃO

Os galacto-oligossacarídeos (GOS) são componentes naturais do leite humano, de alguns vegetais, como cebola, alho, banana, soja e chicória, e podem ser produzidos a partir da lactose pela reação de transgalactosilação da enzima β -galactosidase¹. Os GOS apresentam configuração β e as enzimas digestivas gastrointestinais humanas são principalmente específicas para ligações α , sendo então resistentes a digestão e absorção no intestino atingindo o cólon, onde são fermentados, promovendo um aumento das bifidobactérias¹. Sendo ainda, a ingestão de GOS responsável por aumentar a mineralização óssea e a resistência contra fraturas, devido à estimulação da absorção de cálcio². Alguns dos benefícios dos GOS vistos do ponto de vista industrial é a maior solubilidade em comparação com a sacarose, a não cristalização, não precipitação, além de não deixar a sensação de secura na boca. Assim, os GOS podem ser usados em formulações de sobremesas lácteas, leites fermentados, geleias, bebidas e produtos de confeitaria¹. Alimentos infantis e alimentos especiais para idosos e hospitalizados são promissores na aplicação de GOS, devido a maior suscetibilidade a mudanças na microflora intestinal. O pão também é um alimento apropriado para a inclusão destes, pois durante a fermentação com a levedura e o cozimento do pão, os GOS não são degradados, e auxiliam a obter um pão de excelente sabor e textura². A quantidade de GOS formada a partir da lactose sofre influência com a concentração da enzima, o tempo de reação e a temperatura, além da concentração inicial de lactose e a presença de inibidores ou ativadores específicos para a enzima¹. Os GOS são compostos de lactose e unidades de galactose, produzidos comercialmente por reação enzimática, onde resíduos de galactose estão ligados à lactose².



III SIMBBTEC
Londrina 2013

Anais do III Simpósio de Bioquímica e Biotecnologia Trabalho Completo apresentado na seção: PÔSTER

O objetivo do trabalho foi estudar a influência da temperatura, concentração de lactose e da enzima na obtenção de galacto-oligosacarídeos tendo como substrato o soro de leite, utilizando a enzima β -galactosidase comercial de *Kluyveromyces lactis* (Lactozym® 2600L).

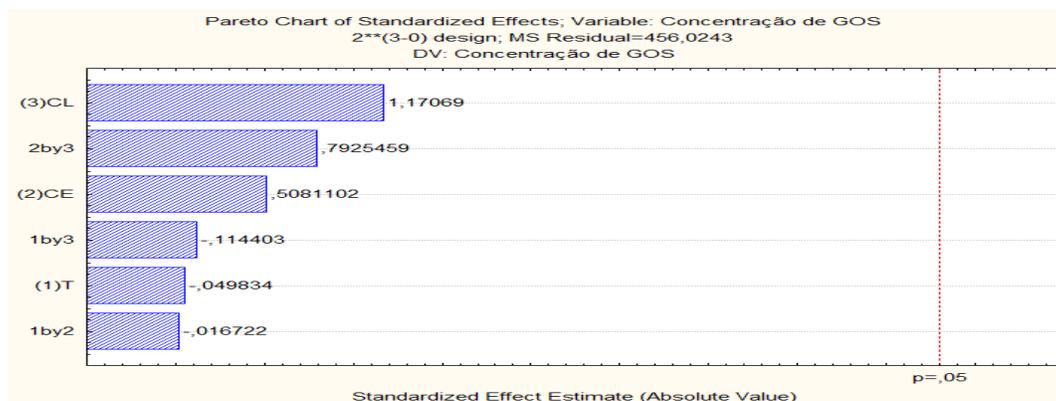
MATERIAL E MÉTODOS

O soro de leite em pó doado pela empresa Cargil S/A e a enzima β -galactosidase comercial de *Kluyveromyces lactis* Lactozym® 2600L adquirida pela empresa Sigma-Aldrich. As reações de síntese de galacto-oligosacarídeos foram realizadas em incubadora rotatória a 180 rpm, nas temperaturas de teste (30, 35, 40, 45 e 50 °C). A solução de soro de leite foi preparada com solução tampão fosfato de sódio 0,1 M (pH 6,5), nas concentrações de 10, 20 e 30% de lactose. O volume final da reação foi de 125 mL, sendo a solução de soro de leite completada para esse volume com a adição da enzima nas diluições de teste (5, 7,5 e 10 U/mL)³. A síntese foi mantida por 12 horas, sendo retiradas amostras de 5 mL a cada 2 horas. As amostras foram inativadas a 100 °C por 5 minutos e em seguida armazenadas em freezer até a identificação e quantificação dos açúcares por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC)³. Os produtos obtidos pela síntese da enzima foram analisados por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), utilizando uma coluna Supelcogel™ Ca (300 x 7,8mm). Foi utilizada água ultra pura como solvente a um fluxo de 0,5 mL/min a 65 °C. Foram aplicados 20 μ L das amostras e das soluções padrões, preparadas a 0,5% (p/v). Os carboidratos foram detectados pelo índice de refração e identificados por comparação com o tempo de retenção dos padrões de glicose, galactose, lactose¹. A influência das variáveis principais (temperatura, concentração da enzima e da lactose) foi determinada através do Software Statística 7.0. Os valores das variáveis foram escolhidos baseados nos resultados da determinação da atividade da enzima⁵, onde se encontrou os melhores valores de temperatura, pH, concentração da enzima e de lactose, para a atividade máxima da enzima utilizada na produção dos galacto-oligosacarídeos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados do efeito da temperatura, concentração de enzima e concentração de lactose sobre a produção de GOS estão apresentados na Figura 1.

Figura 1. Efeito da interação das variáveis: temperatura, concentração de enzima e concentração de lactose na concentração de GOS.



Os resultados encontrados permitem concluir que a concentração de GOS sofreu influência da concentração de lactose, pois o aumento da concentração de lactose de 10 para 30% provocou um incremento médio na concentração de GOS de 17,67 g/L, enquanto que o aumento na



SIMBBTEC
Londrina 2013

Anais do III Simpósio de Bioquímica e Biotecnologia Trabalho Completo apresentado na seção: PÔSTER

variável temperatura de 35 para 50°C diminuiu em média 0,75 g/L a concentração de GOS. A forte influência da concentração da lactose foi encontrada também por Chockchaisawasdee (2004). Lisboa et.al. (2012) encontrou resultados semelhantes, onde o aumento de 30°C para 40°C na temperatura e de 5 U/mL para 10 U/mL na concentração de enzima influenciaram a concentração de GOS positivamente, aumentando em média 9 g/L e 30 g/L.

Na avaliação do rendimento, observa-se que o aumento na concentração de enzima de 5 para 10 U/mL juntamente com o aumento de 10 para 30% na concentração de lactose resulta em um aumento médio de 5,42% no rendimento, conforme mostrado na Figura 2.

Figura 2. Efeito da interação das variáveis: temperatura, concentração de enzima e concentração de lactose no rendimento.

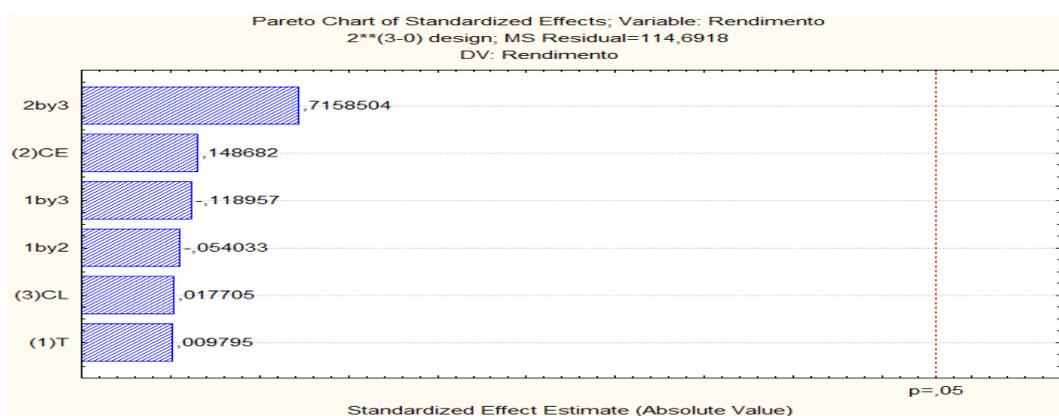
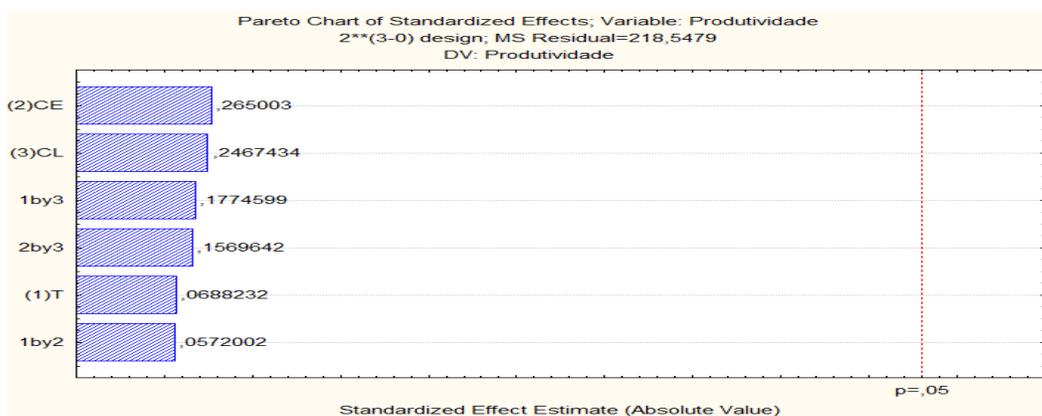


Figura 3. Efeito da interação das variáveis: temperatura, concentração de enzima e concentração de lactose na produtividade.



Analisando a Figura 3, observa-se que todas as variáveis principais e as interações entre elas apresentam influência de forma positiva, ou seja, o aumento de apenas uma das variáveis ou o aumento de duas dessas variáveis resulta em um incremento na média da produtividade. Os resultados de rendimento e produtividade foram coerentes com os resultados de Lisboa et. al. (2012), onde o aumento da temperatura, concentração de enzima e concentração de lactose tiveram um efeito positivo no aumento do rendimento e da produtividade.

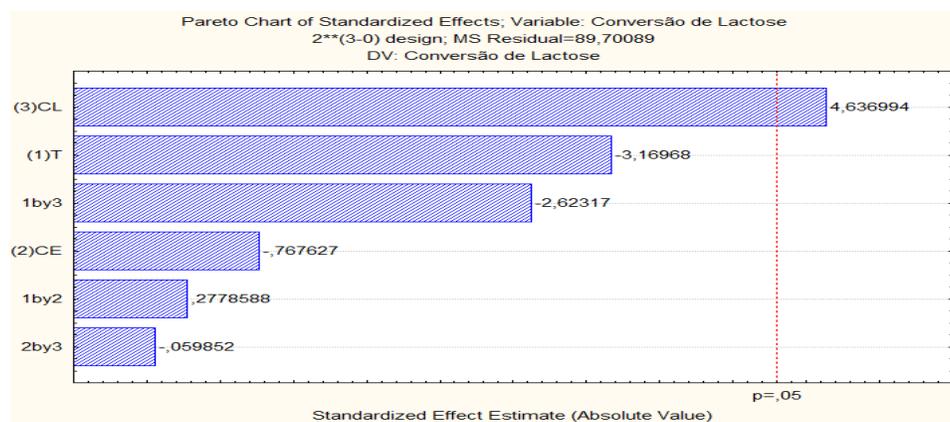


SIMBBTEC
Londrina 2013

Anais do III Simpósio de Bioquímica e Biotecnologia Trabalho Completo apresentado na seção: PÔSTER

Observando os resultados obtidos na análise da conversão da lactose apenas a variável concentração de lactose tem influência de forma significativa, conforme Figura 4. O aumento de 10 para 30% na concentração de lactose fornece um aumento médio de 31,05% na conversão.

Figura 4. Efeito da interação das variáveis: temperatura, concentração de enzima e concentração de lactose na conversão da lactose.



CONCLUSÕES

Os resultados encontrados permitem concluir que a enzima apresentou atividade de transgalactosilação. A concentração de lactose e enzima foram as variáveis que apresentaram maior influência na concentração de GOS. Sendo a concentração máxima de GOS igual a 71,45 g/L obtida a 40% de lactose, 10 U/mL de enzima e temperatura de 40 °C, com 23,82% de rendimento, 11,91% de produtividade e 48,24% de conversão de lactose.

REFERÊNCIAS

- (1) SANTOS, R. **Produção de galacto-oligossacarídeos por lactase fúngica**. Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, São Paulo, Brasil, 2006.
- (2) ALMEIDA, M. M. **Síntese de Galacto-oligossacarídeos por b-galactosidase de *Scopulariopsis sp* a partir da lactose**. Tese de Doutorado, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, São Paulo, Brasil, 2003.
- (3) LISBOA, C. R.; COSTA, F. A. A.; BURKERT, J. F. M.; BURKERT, C. A. V. **Síntese de galacto-oligossacarídeos a partir de lactose usando β -galactosidase comercial de *Kluyveromyces lactis***. Brazilian Journal of Food Technology, v. 15, n. 1, p. 30-40, 2012.
- (4) CHOCKCHAIWASDEE, S.; ATHANASOPOULOS, V. I.; NIRANJAN, K; RASTALL, R. A. **Synthesis of Galacto-oligosaccharide From Lactose Using β -Galactosidase From *Kluyveromyces lactis*: Studies on Batch and Continuous UF Membrane-Fitted Bioreactors**. Biotechnology and Bioengineering, v. 89, n. 4, 2005.
- (5) ROSSETTO, B. P.; ZANIN, G. M; MORAES, F. F. **Determinação da Atividade da Enzima B-galactosidase por Lactose do Soro de Queijo**. Biochemistry and Biotechnology, v. 1, n. 2, p. 28-32, 2012.