

SÍNTESE DE GALACTOOLIGOSSACARÍDEOS EM MISTURAS LÁCTEAS COM β -GALACTOSIDASE DE *Kluyveromyces lactis* E GLICOSE ISOMERASE DE *Streptomyces murinus*¹

Débora Devens², Marcelo Vinicius da Silva Oliveira³, Leticia Knakiewicz⁴
Elisandra Rigo⁵, Georgia Ane Raquel Sehn⁶, Darlene Cavalheiro⁶

¹ Vinculado ao projeto “Estudo da aplicação de enzimas em produtos lácteos”

² Acadêmica do curso de Engenharia de Alimentos – CEO – Bolsista PROBIC

³ Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos – CEO

⁴ Mestranda em Ciência e Tecnologia de Alimentos – CEO

⁵ Orientadora, Departamento de Engenharia de Alimentos e Química – CEO - elisandra.rigo@udesc.br

⁶ Docente, Departamento de Engenharia de Alimentos e Química – CEO

Os galactooligossacarídeos (GOS) são oligossacarídeos não digeríveis, utilizados como ingredientes alimentares prebióticos. Dentre as vantagens advindas do consumo dos GOS destacam-se a melhoria da microbiota intestinal, do processo de absorção de minerais e indiretamente do sistema imunológico, diminuindo o risco de doenças. Logo o consumo destes em alimentos, tem sido crescente.

A obtenção dos GOS pode ocorrer por via química e/ou enzimática. As enzimas comumente utilizadas neste processo são as β -galactosidases, as quais além de hidrolisar a lactose, também catalisam as reações de formação de GOS. Contudo, para a síntese de GOS via enzimática é ainda necessário a incorporação de frutose como substrato. Como fonte de lactose para produção dos GOS, destaca-se o soro de leite e o leite concentrado, por exemplo. Assim, o objetivo desse trabalho foi sintetizar galactooligossacarídeos por via enzimática, utilizando as enzimas β -galactosidase e glicose isomerase em misturas lácteas compostas de leite e soro de leite bovino.

As misturas lácteas do presente estudo foram preparadas utilizando quantidades proporcionais de leites e soro de leite em pó bovino, sendo, integral e desnatado, definidos como LBI e LBD respectivamente. Ambas as misturas foram preparadas de forma a obter a concentração de 200 g.L⁻¹ de lactose. A síntese dos prebióticos na matriz láctea envolveu a adição de 10 U/mL de β -galactosidase livre e 60 U/mL de glicose isomerase imobilizada (para isomerização da glicose em frutose). As misturas foram submetidas a incubação refrigerada com agitação, realizada a 7 °C e 200 rpm, sendo retiradas alíquotas para análises nos tempos de incubação de 12 e 24 horas. Estas alíquotas foram submetidas a tratamento térmico a 90°C para inativar as enzimas, seguido de preparação para a subsequente quantificação dos carboidratos via HPLC-PAD.

Observou-se que a amostra denominada LBD apresentou a maior concentração de galactooligossacarídeos sintetizados, em comparação à amostra LBI, particularmente evidenciado pela síntese de lactulose no período de 24 horas, considerando $p < 0,05$ (Tabela 1). Dentre os fatores que podem ter influenciado este resultado, pode-se citar a diferença ($p < 0,05$) expressiva do teor de gordura nas amostras (Tabela 1). Estudos publicados, apontam que o teor de gordura influencia na síntese de lactulose, possivelmente devido este dificultar a hidrólise da lactose, pela ação da enzima β -galactosidase, uma das etapas cruciais para síntese dos GOS.

Foram quantificados a lactulose e melezitose (Tabela 1). A presença de melezitose após a reação e a inexistência de dados publicados sugere que o presente estudo é promissor, também por ser desconhecida a existência deste açúcar de forma endógena, já que consiste em um carboidrato comumente detectado em mel. Ainda, em paralelo foi detectada rafinose nas amostras estudadas.

O rendimento de GOS variou significativamente entre as duas misturas. No tempo de 24 horas a amostra LBD produziu ~ seis vezes mais lactulose que amostra LBI. O tempo influenciou significativamente nos quantitativos de lactulose e melezitose de LBD, com maior produção depois de 24 horas de reação, sendo igual somente para rafinose ($p < 0,05$). Cabe ressaltar que estudos apontam que a fonte da enzima e as condições da reação, como: concentração de lactose, atividade de água, temperatura, pH, etc, são fatores que influenciam o rendimento e a composição do GOS sintetizado. Geralmente, amostras com maior concentração de lactose e maior concentração de enzima, apresentam melhores rendimentos de GOS.

Tabela 1. Comparação do teor de açúcares ($g \cdot L^{-1}$) entre os tempos de 12 e 24 horas de reação.

Meios Reacionais	Lactulose		Melezitose		Rafinose		Gordura
	12 horas	24 horas	12 horas	24 horas	12 horas	24 horas	
LBI	6,95±2,37 ^{ab}	5,61±0,76 ^{ab}	10,48±0,06 ^{ab}	10,70±0,59 ^{ab}	5,34±0,13 ^{ab}	5,03±0,06 ^{bb}	2,53±0,02 ^A
LBD	10,85±2,02 ^{ba}	31,55±2,35 ^{aA}	12,31±0,39 ^{ba}	16,14±1,44 ^{aA}	8,57±0,71 ^{aA}	9,08±0,35 ^{aA}	0,05±<0,01 ^B

Média ± desvio padrão. Valores seguidos da mesma letra minúscula, nas linhas, não apresentam diferença significativa entre os tempos reacionais de cada açúcar, ao nível de confiança de $p < 0,05$ na mistura láctea. Valores seguidos da mesma letra maiúscula, nas colunas, não apresentam diferença significativa entre as misturas lácteas em cada açúcar ao nível de confiança de $p < 0,05$ no tempo reacional.

Sendo assim, destaca-se que os objetivos estipulados para o referido estudo foram alcançados com êxito. Foi possível produzir GOS a partir de uma mistura láctea composta de leite e soro de leite, utilizando a glicose isomerase para obtenção de frutose para sintetizar principalmente a lactulose em tempo de incubação de 24 horas. Entretanto, estudos adicionais e mais aprofundados ainda são necessários para investigar a obtenção de melezitose e rafinose e ainda, definir aplicações em produtos alimentícios desta mistura láctea prebiótica com redução de lactose.

Palavras-chave: Galactooligossacarídeos, soro de leite, reação multienzimática.