

ESTUDO DO EFEITO DA CONCENTRAÇÃO DE SUBSTRATO E TEMPO DE REAÇÃO NA SÍNTESE DE LACTULOSE¹

Rodrigo Lazarotto², Elisandra Rigo³, Georgia Ane Raquel Sehn⁴, Darlene Cavalheiro⁴, Letícia Knakiewicz⁵, Debora Devens⁶.

¹ Vinculado ao projeto “ESTUDO DA APLICAÇÃO DE ENZIMAS EM PRODUTOS LÁCTEOS”.

² Acadêmico do Curso de Engenharia de alimentos – UDESC Oeste – Bolsista PIBIC – AF/ CNPq.

³ Orientadora, Departamento de UDESC Oeste - elisandra.rigo@udesc.br.

⁴ Docente, Departamento de Engenharia de Alimentos e Engenharia Química – CEO.

⁵ Mestranda, Departamento de Engenharia de Alimentos e Engenharia Química – CEO.

⁶ Discente, Departamento de Engenharia de Alimentos e Engenharia Química – CEO.

Os galacto-oligossacarídeos (GOS) constituem um importante grupo de oligossacarídeos, os quais atuam como prebióticos, resultando em benefícios para microbiota intestinal. Entre eles, destaca-se a lactulose (4-O- β -D-galactopiranosil- β -D-frutofuranose), conhecida como um composto não digerível da lactose que compreende monômeros de frutose e galactose. A produção de lactulose é predominantemente realizada por métodos químicos, que requerem altas concentrações de catalisadores e apresentam baixa especificidade, resultando na formação de subprodutos indesejados e exigindo etapas subsequentes de purificação. Em contraste, a catálise enzimática surge como uma alternativa promissora, oferecendo maior seletividade e redução na geração de subprodutos. A síntese de lactulose por via enzimática tem sido investigada em meios reacionais ricos em lactose, como o soro de leite concentrado, adicionado de frutose, sendo a enzima β -galactosidase comumente utilizada nesse processo. A β -galactosidase catalisa a hidrólise da lactose em glicose e galactose, além de promover a transgalactosilação, que resulta na formação dos GOS. A glicose isomerase, por sua vez é evidenciada pela capacidade em isomerizar a glicose em frutose, fornecendo este substrato necessário para a síntese, de fonte láctea. No entanto, é amplamente reconhecido que fatores como concentração de substrato, tipo de enzima, pH e temperatura influenciam diretamente o rendimento do processo de síntese. Desta forma, o objetivo deste estudo foi avaliar a influência da concentração de substrato na síntese enzimática de lactulose, utilizando misturas lácteas compostas por leite e soro de leite bovino desnatado. Duas misturas lácteas com concentrações de lactose de 160 g/L e 240 g/L, foram preparadas a partir de leite desnatado bovino e soro de leite desnatado bovino e denominadas M160 e M240, respectivamente. Para a síntese enzimática, foram adicionados 10 U/mL de β -galactosidase livre e 80 U/mL de glicose isomerase imobilizada. As reações ocorreram em uma incubadora refrigerada à 7°C e 200 rpm. Alíquotas reacionais foram coletadas em intervalos de 12 e 24 horas, e submetidas a tratamento térmico a 90°C para a inativação das enzimas. Posteriormente, as alíquotas foram preparadas para quantificação dos carboidratos por meio de cromatografia (HPLC-PAD). Com base nos resultados obtidos, foi constatado um aumento da síntese de lactulose ao longo do tempo de 12 e 24 horas ($p < 0,05$) para ambas as amostras, M160 e M240 (Tabela 1). Em relação ao teor de lactose nas amostras, estudos indicam que um maior conteúdo inicial de lactose favorece a reação de transgalactosilação em comparação a hidrólise, uma vez que ambas ocorrem simultaneamente durante o processo de síntese, comportamento observado em relação a reação de transgalactosilação em 24 horas ($p < 0,05$) ser maior na amostra M240, em comparação à amostra

M160, confirmando a influência positiva de maiores concentrações de lactose para síntese enzimática. É relevante destacar ainda, que este estudo utilizou uma proporção enzimática mais elevada em comparação com trabalhos anteriores, o que pode ter influenciado a produção de lactulose. Segundo a literatura, o equilíbrio entre as reações de isomerização e transgalactosilação é um fator crucial na síntese de lactulose. Contudo, a produção observada pode não ter sido expressiva devido a uma possível incompatibilidade na proporção das enzimas utilizadas, uma vez que o processo de síntese envolve duas etapas enzimáticas sequenciais: primeiramente a hidrólise da lactose pela β -galactosidase, em sequência a conversão da glicose em frutose, pela glicose isomerase finalizando com a transgalactosilação. Conclui-se que a concentração de substrato e tempo de reação, influenciaram significativamente o teor de lactulose produzido. No entanto, ainda são necessários estudos adicionais para otimizar as condições de síntese deste prebiótico, visando aumentar seu rendimento e viabilizar sua aplicação em uma variedade maior de produtos.

Tabela 1. Teor de açúcares (g.L^{-1}) em leite bovino suplementado com soro, entre os tempos de 12 e 24 horas de reação.

Amostra	Concentração Substrato (g.L^{-1})	Proporção enzimática	Lactulose (g.L^{-1})	
			12 horas	24 horas
M160	160	1:8	0,14 \pm 0,01 ^{bA}	0,17 \pm 0,01 ^{aB}
M240	240	1:8	0,08 \pm 0,01 ^{bB}	0,82 \pm 0,01 ^{aA}

Média \pm desvio padrão. Valores seguidos da mesma letra minúscula, nas linhas, não apresentam diferença significativa ao nível de confiança de $p < 0,05$. Valores seguidos da mesma letra maiúscula, nas colunas, não apresentam diferença significativa ao nível de confiança $p < 0,05$. M160 – mistura láctea de leite bovino desnatado e soro de leite bovino desnatado (160g.L^{-1} de lactose). M240 – mistura láctea de leite bovino desnatado e soro de leite bovino desnatado (240g.L^{-1}). Elaborado pelo autor, 2024.

Palavras-chave: β -galactosidase, glicose isomerase, reação multienzimática.