

ACÇÃO DA BETA-GALACTOSIDASE COMERCIAL NA REDUÇÃO DO TEOR DE
LACTOSE EM LEITE INTEGRAL E DESNATADO

ACTION OF COMMERCIAL BETA-GALACTOSIDASE IN THE REDUCTION OF THE
LACTOSE CONTENT IN MILK AND SKIMMED MILK

Cíntia Cristina do Nascimento SILVA¹, Luana Ribeiro MOLITOR¹, Lucimar
ALEXANDRE¹, Claudia DORTA^{2*}, Alice Yoshiko TANAKA², Leandro REPETTI², Elke
SHIGEMATSU².

1: *Discentes do Curso de Tecnologia em Alimentos da Fatec Marília/SP - Faculdade de
Tecnologia Marília*

2: *Docentes do Curso de Tecnologia em Alimentos da Fatec Marília/SP - Faculdade de
Tecnologia Marília*

* *Autor para correspondência: Fatec de Marília “Estudante Rafael Almeida Camarinha”,
Av. Castro Alves, 62, Bairro: Somenzari, cep:17506-000, Marília, São Paulo, Brasil. Email:
dortafatec@gmail.com*

Resumo

Muitas pessoas no decorrer da vida tornam-se intolerantes à lactose. A enzima β -Galactosidase microbiana hidrolisa a lactose em glicose e galactose podendo, assim, obter-se alimentos com zero ou baixos teores desse dissacarídeo. Este trabalho teve o objetivo de verificar o efeito de diferentes concentrações de β -Galactosidase comercial originada da levedura *Kluyveromyces lactis* para a produção de leite integral e desnatado com baixo teor ou zero lactose em função do tempo de reação. Os experimentos foram conduzidos em triplicata e ocorreram através do meio de reação composto por 0,07; 0,21 e 1% da enzima Lactomax Super (Prozyn®) mais leite integral em pó e leite desnatado em pó, ambos reconstituídos com adição de água e padronizados para 4,8% de lactose. Cada reação enzimática foi analisada por 1, 2, 3 e 4 horas, a 35°C, e a concentração de glicose liberada foi quantificada pelo método de glicose-oxidase. A hidrólise 100% da lactose ocorreu em leite desnatado, a 0,21% da enzima, em 1 hora de reação. A β -Galactosidase comercial utilizada não mostrou alto grau de hidrólise em leite integral, chegando no máximo a 75; 74,6 e 73% para os seguintes ensaios: enzima comercial 1% em 2h de reação, a 0,21% por 2h e 0,07% por 1h, respectivamente. A enzima testada teve melhor ação em leite desnatado e por sua rápida atividade poderia ser aplicada no leite cru e

depois proceder com a pasteurização ou esterilização, desde que houvesse qualidade microbiológica na matéria prima.

Palavras-chave: Lactase, Açúcar do leite, Hidrólise

ABSTRACT

Many people in the course of their lives become lactose intolerant. The enzyme β -Galactosidase microbial hydrolyses the lactose in glucose and galactose, thus, to obtain foods with zero or low levels of this disaccharide. The objective of this work was to verify the effect of different concentrations of commercial β -Galactosidase originated from the yeast *Kluyveromyces lactis* for the production of whole milk and skim with low or zero lactose as a function of the reaction time. The experiments were conducted in triplicate and occurred through the reaction medium composed of 0.07; 0.21 and 1% of the enzyme Lactomax Super (Prozyn®) plus whole milk powder and skimmed milk powder, both reconstituted with added water and standardized to 4.8% lactose. Each enzyme reaction was analyzed for 1, 2, 3 and 4 hours at 35 ° C and the glucose concentration released was quantified by the glucose oxidase method. The 100% hydrolysis of lactose occurred in skimmed milk at 0.21% of the enzyme in 1 hour of reaction. The commercial β -Galactosidase used did not show a high degree of hydrolysis in whole milk, reaching a maximum of 75; 74.6 and 73% for the following tests: commercial enzyme 1% in 2h reaction, at 0.21% for 2h and 0.07% for 1h, respectively. The enzyme tested had better action in skim milk and because of its rapid activity could be applied in the raw milk and then proceed with the pasteurization or sterilization, provided there was microbiological quality in the raw material.

Keywords: Lactase; Milk sugar; Hydrolysis.

INTRODUÇÃO

O leite e seus derivados constituem um grupo de alimentos de grande valor nutricional, por serem fontes consideráveis de proteínas de alto valor biológico, além de vitaminas e minerais (MUNIZ; MADRUGA; ARAUJO, 2013). Em 2011, diante do cenário do setor de

laticínios, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) publicou a Instrução Normativa nº62 de 29 de dezembro de 2011, visando melhorias para a qualidade do leite no Brasil mediante padrões de manejo, armazenamento e contagem padrão em placas de micro-organismos, dos leites tipo A leite cru refrigerado e pasteurizado (PEREIRA, 2017). Há ainda o leite produzido especialmente para as pessoas que não conseguem digerir a lactose (açúcar presente no leite) (VILELA, 2002).

O principal carboidrato na alimentação infantil é a lactose devido ao alto consumo de leite, mas, com o passar dos anos, sua ingestão diminui e conseqüentemente a produção de enzimas também (FRIEDRICH, 2013). Quando ocorre à falta desta enzima, a lactose, que é uma boa fonte de energia para os micro-organismos do cólon, é fermentada a ácido láctico, metano (CH₄) e gás hidrogênio (H₂) (BARBOSA, 2011) e surgem sintomas desagradáveis como dores abdominais, gases, inchaço, desconforto e até diarreia (PORTO et al., 2005). O aparecimento de sintomas abdominais por má absorção de lactose caracteriza a intolerância à lactose (MATTAR; MAZO, 2010).

A hipótese atualmente aceita para a lactase-persistência é a de que teria ocorrido há milhares de anos, uma mutação genética favorável a tolerância à lactose, quando o leite e derivados foram introduzidos na alimentação humana (TÉO, 2002). Com a domesticação do gado, as pessoas começaram a utilizar o leite animal para substituir o leite materno para as crianças, e depois, para os adultos, com isso, ocorreram desvios genéticos possibilitando maior atividade da lactase (CUNHA et al., 2008). A persistência ou não da atividade da lactase na vida adulta é determinada geneticamente, o estado “lactase persistente” é determinado por padrão de transmissão autossômico dominante, enquanto que a “não persistência” (ou hipolactasia) tem herança autossômica recessiva (WORTMANN; SIMON; SILVEIRA, 2013). Uma alternativa para as pessoas intolerantes é o consumo de leite tratado com lactases comerciais (MOREIRA; MARCELINO; PEREIRA, 2016).

Frente à população intolerante à lactose presente no leite e seus derivados, recentemente as empresas do setor lácteo iniciaram o processamento de produtos zero lactose. Dessa forma, torna-se necessária a busca de mais informações do processo de produção destes produtos, assim como verificação da legislação vigente dos órgãos fiscalizadores do setor (RAMALHO; GANECO, 2016). Segundo a RDC nº 135 de 2017 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), para um alimento como o leite ser considerado zero lactose deverá conter de 0 a 0,1% de lactose; e baixo teor de lactose, maior que 0,1% e menor ou igual a 1% (BRASIL, 2017).

Existem dois métodos para hidrólise da lactose no leite, o método químico que baseia-se na utilização de ácidos muito fortes e não é utilizado em altas temperaturas, devido a possíveis problemas que podem ocorrer como desnaturação de proteínas, alteração de sabor e cor nos alimentos (TONETTI, 2015) e também existe outro método segundo Lima (2015), que é por co-hidrolização, onde a redução da lactose é ocasionada pela adição asséptica da lactase no produto após o tratamento térmico, de forma que a enzima continua ativa no produto final. Neste caso, é necessária a declaração da enzima na lista de ingredientes. Este método é muito utilizado para leites longa vida, pois impactam em menores alterações físico-químicas e sensoriais no produto, além de uma maior vida útil.

A hidrólise pelo método enzimático é catalisada pela enzima lactase (β -Galactosidase). A vantagem desse método reside no fato de que a reação se processa à temperatura relativamente baixa, numa faixa que pode variar de 4°C a 40°C, sendo a temperatura ótima de 30°C a 40°C, permitindo uma maior economia energética, além de não se formarem produtos colaterais (FAEDO et al., 2013). Sua importância é ressaltada pela atuação na produção de derivados lácteos destinados a pessoas intolerantes à lactose, além de evitar a cristalização desse dissacarídeo nesses produtos (HEIDTMANN et al., 2012). Esta enzima pode ser extraída de diversas fontes como animais, bactérias, bolores, leveduras e vegetais como brotam de alfafa, pêsego e rosas selvagens. Entretanto, nem todas as lactases podem ser utilizadas. Enzimas extraídas de *Aspergillus niger*, *Aspergillus oryzae* e *Kluyveromyces spp.* (*lactisou fragilis*) são consideradas seguras, devido ao histórico de suas aplicações e aos numerosos estudos realizados (CARMINATTI, 2001). A levedura *Kluyveromyces lactis* é tradicionalmente conhecida como fonte de β -Galactosidase para a indústria de alimentos e tem seu emprego seguro em aplicações destinadas a indústria alimentícia e farmacêutica (LIMA, 2012).

Uma nova alternativa para redução do teor de lactose em produtos lácteos é o método da ultrafiltração (UF) que se utiliza tecnologia de membranas para separação da lactose (PEREIRA et al., 2012). A utilização da ultrafiltração por membrana na indústria de laticínios possibilita o desenvolvimento de novos produtos e o aproveitamento total e seletivo de todos os componentes do leite (FONTES et al., 2015), sendo possível se obter um coeficiente de remoção de até 100% da lactose presente, tanto para leite integral quanto para leite desnatado. Nesta técnica utilizam-se membranas como meio filtrante, glóbulos de gordura e a fração proteica são retidos na superfície e compõe assim o concentrado, sendo esta a parte de interesse, enquanto os sais minerais, nitrogênio não proteico, a molécula de lactose e diversos outros componentes com tamanhos menores permeiam através da membrana, são eliminados junto a água, sendo então chamados de permeado (SILVA, 2015).

Este trabalho teve o objetivo de verificar o efeito de diferentes concentrações de β -Galactosidase comercial (Lactomax Super) para a produção de leite integral e desnatado com baixo teor ou zero lactose em temperatura de 35°C.

MATERIAL E MÉTODOS

Materiais

Para realização deste trabalho, foi utilizado o leite integral em pó (Italac), o leite desnatado em pó (Molico) e a enzima β -Galactosidase Lactomax Super (Prozyn®) proveniente da levedura *Kluyveromyces lactis*.

Métodos

A atividade enzimática foi determinada através do meio de reação composto por 0,07; 0,21 e 1% da enzima Lactomax Super (Prozyn®) mais leite integral em pó e leite desnatado em pó reconstituídos separadamente com água e padronizados para 4,8% de lactose, os quais foram previamente esterilizados sob vapor fluente por 10 minutos. A reação ocorreu a 35°C, em Incubadora Shaker (Marconi MA-420) com a rotação de 150rpm, sendo que cada amostra foi composta por 200 ml de leite em Erlenmeyers de 500 ml com tampão algodão. Os tempos de reação enzimática foram 1, 2, 3 e 4 horas. A β -Galactosidase foi inativada após retirada de alíquotas amostrais em tubos de ensaio e estes tratados banho a 95°C por 5 minutos. As amostras foram armazenadas congeladas para futuras análises.

A determinação da glicose liberada após hidrólise enzimática da lactose do leite foi realizada utilizando-se o Kit Glicose Liquiform (Labtest®), que se baseia na oxidação da glicose para ácido glicônico e peróxido de hidrogênio através da glicose oxidase. A absorbância foi medida em 505 nm em Espectrofotômetro. Os resultados foram calculados em mg/dl e expressos em porcentagem.

Todos os experimentos foram realizados em triplicata e para a comparação dos dados utilizou-se o ANOVA complementado com o Teste de Tukey, no nível de 5% de significância (BUSSAB; MORETTIN, 2011) e o *software* utilizado o BioEstat (AYRES et al., 2007).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A concentração de lactose dos leites integral e desnatado foi de 4,8%, portanto se 100% desta fosse hidrolisada pela β -Galactosidase microbiana, a concentração máxima de glicose

liberada seria de 2,4%. A porcentagem de glicose obtida nos experimentos é mostrada na Figura 1. A concentração máxima desse monossacarídeo (2,4%) foi obtida a 0,21% de enzima, em apenas 1 hora de reação, para o leite desnatado (LD), mostrando diferença significativa (Tukey, $p < 0,05$) quando comparada as outras concentrações usadas de Lactomax Super. Fixando o parâmetro concentração 0,21%, a glicose tendeu a diminuir no decorrer do tempo de reação, mas sem diferenças significativas entre as médias obtidas (Tukey, $p > 0,05$). Quanto menor o tempo de reação, menor custo e chance de deterioração em processos não assépticos de obtenção desta bebida sem lactose

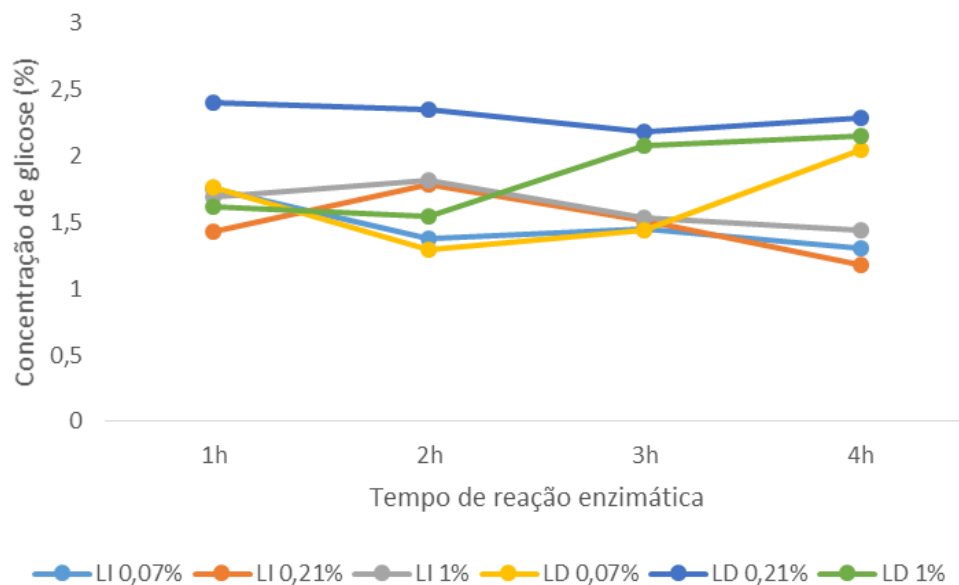


Figura 1 - Concentração de glicose (%) obtida após ação de β -Galactosidase (0,07; 0,21 e 1% Lactomax Super) sobre lactose de leite integral (LI) e leite desnatado (LD), a 35°C por 4 horas de reação.

No leite integral (LI), a concentração de glicose chegou no máximo a 1,82% (1% de enzima, 2h de reação), representando redução de 24% da almejada, indicando que a gordura presente no leite interferiu na reação enzimática. A enzima comercial a 0,07% mostrou-se mais vantajosa para o leite integral, pois em apenas uma hora de reação liberou 1,74% de glicose, representando diminuição de apenas 4% quando comparado com a porcentagem 1,82%, sendo que neste último experimento concentrou-se a enzima em 14x e necessitou do dobro do tempo.

Campos et al. (2009) ao utilizarem 0,08% de β -Galactosidase de *K. lactis* (Maxlact-500) em leite UHT integral obteve até 2,16% de glicose em 3 e 4 h de incubação, utilizando 30 e 40°C como temperaturas de incubação. Giraldi (2014) ao estudar a hidrólise da lactose com enzima β -Galactosidase em leite integral, mostrou que o teor de glicose aumentou para 2,35%.

A Figura 2 mostra que em leite desnatado com concentração enzimática de 0,21%, resultou nos maiores valores de hidrólise da lactose, os quais foram superiores a 90%, e na primeira hora de reação chegou a 100%. Estes resultados quando comparados com outras variáveis amostrais como concentração enzimática (0,07 e 1%) para leite desnatado ou quando fixada concentração 0,21% e comparado com leite integral, em sua maioria tiveram diferenças consideradas significativas ($p < 0,05$). Uma rápida hidrólise da lactose é imprescindível para que a enzima reaja a 35°C em leite não esterilizado e não haja tempo suficiente para uma elevação significativa de carga microbiana contaminante do processo. A mesma não mostrou total hidrólise da lactose, independente da concentração aplicada em leite integral, chegando no máximo a 75; 74,6 e 73% para 1% de Lactomax Super (2h), 0,21% (2h) e 0,07% (1h), respectivamente.

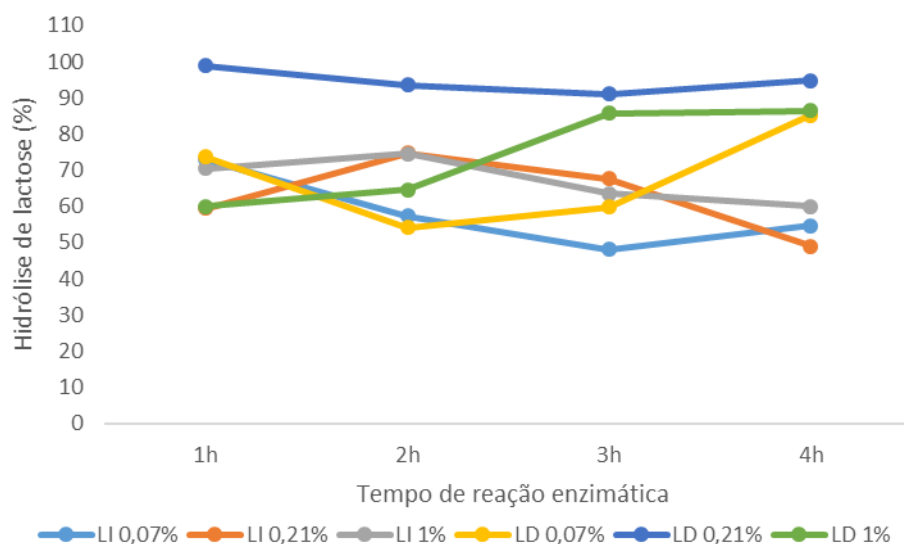


Figura 2- Lactose hidrolisada (%) após ação de β -Galactosidase (0,07; 0,21 e 1% Lactomax Super) sobre lactose de leite integral (LI) e leite desnatado (LD), a 35°C por 4h de reação.

Segundo Pereira et al. (2012), leites com redução de até 90% de lactose, também chamados de leites de alta digestibilidade ou deslactosado, são alternativas disponíveis no mercado. Os resultados obtidos neste trabalho, principalmente para LD, podem ser considerados satisfatórios, pois segundo Gennari et al. (2016) a redução da concentração de lactose de 70 a 80% em produtos lácteos é suficiente para a maioria das pessoas que apresentam intolerância a lactose. Moriwaki e Matioli (2000) consideram satisfatório para intolerantes a lactose uma hidrólise de 90% de lactose. Já em condições industriais, consideram como sendo ótimo uma hidrólise de 75-85%.

Verifica-se ainda na Figura 2 que no decorrer do tempo de reação, para algumas variáveis amostrais há uma tendência de diminuição da hidrólise. Segundo Giraldi (2014), dentre ausência de uma acentuada melhora na hidrólise da lactose com o aumento do tempo de incubação pode ser atribuído à inibição pelos produtos formados. A galactose, um dos produtos finais da hidrólise da lactose, é um forte inibidor competitivo da enzima β -Galactosidase, o efeito inibidor é acentuado principalmente em altas concentrações desse monossacarídeo.

Bosso et al. (2016) mostraram resultados diferentes, ao empregarem enzima de *K. lactis* (Maxilact LX5000) a 35° C, obtiveram 100% de hidrólise no leite integral UHT e 92,49% no leite desnatado. Quinn et al. (2001) *apud* Balieiro (2015) testou a ação de β -Galactosidase de *K. lactis* (imobilizada) para hidrólise de leite desnatado e obtiveram uma conversão de 90% de lactose em 15 min.

A RDC nº 135 de 2017, ANVISA, estabelece os valores de 0 a 0,1% de lactose para considerar o leite zero lactose, acima de 0,1% e abaixo de 1%, baixo teor de lactose e de 1% ou mais, contém lactose (BRASIL, 2017). A Tabela 1 mostra que no leite desnatado com a concentração de 0,21% de enzima em 1 hora de reação, obteve-se 0,06% de lactose residual, ou seja, este produto pode ser considerado zero lactose. Este resultado foi significativamente menor (Tukey, $p < 0,05$) quando comparado com os experimentos 0,21% de enzima em leite integral, e com 0,07 e 1% de enzima em leite desnatado em 1 hora de reação. Seis variáveis experimentais com leite desnatado mostraram resultados que se enquadram como “baixo teor de lactose”. Para o leite integral todas as variáveis amostrais apresentaram classificação “contém lactose”, indicando que a enzima e ou metodologia empregada foram insuficientes para uma maior hidrólise.

Tabela 1 - Concentração de lactose residual (%) após reação de β -Galactosidase (0,07; 0,21 e 1% Lactomax Super) sobre lactose de leite integral (LI) e leite desnatado (LD), a 35°C por 4h

	LI 0,07%	LI 0,21%	LI 1%	LD 0,07%	LD 0,21%	LD 1%
h	1,3±0,50 ^{aAα}	1,95±0,53 ^{aBα}	1,54±0,98 ^{aAα}	1,26±0,5 ^{bAα}	0,06±0,11 ^{aAα}	,57±1,28 ^{bAα}
h	2,05±0,52 ^{aAα}	1,21±0,29 ^{aAα}	1,37±0,62 ^{aAα}	2,2±1,18 ^{aAα}	0,31±0,53 ^{aAα}	1,7±1,64 ^{aAα}
h	2,57±0,79 ^{aAα}	1,55±0,31 ^{aAα}	1,73±0,33 ^{aAα}	1,93±0,51 ^{aAα}	0,42±0,37 ^{aAα}	,69±0,57 ^{aAα}

h $2,18 \pm 0,33^{aA\alpha}$ $2,43 \pm 0,20^{aA\alpha}$ $1,92 \pm 0,48^{aA\alpha}$ $0,71 \pm 0,24^{aA\alpha}$ $0,26 \pm 0,43^{aA\alpha}$ $0,79 \pm 0,46^{aA\alpha}$

(1) Médias seguidas de mesma letra minúscula não diferem entre si na comparação de concentrações de enzimas, fixados leites e tempos.

(2) Médias seguidas de mesma letra maiúscula não diferem entre si na comparação de leites, fixados concentrações de enzimas e tempos

(3) Médias seguidas de mesma letra grega não diferem entre si na comparação de tempos, fixados leites e concentrações de enzima

Fonte: Dados dos Autores

CONCLUSÃO

A enzima comercial empregada a 0,21% em uma hora de reação no leite desnatado mostrou total eficiência na tecnologia de produção de leite zero lactose, podendo ser aplicada na bebida crua por atuar rapidamente e diminuir chance de deterioração microbiana antes de sua pasteurização.

Os dados obtidos para o leite integral mostraram que este não obteve hidrólise suficiente para ser classificado com baixo teor de lactose.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AYRES, M.; AYRES Jr., M.; AYRES, D. L.; SANTOS, A. A. S. BioEstat: aplicações estatísticas nas áreas das ciências biológicas e médicas. Belém; Sociedade Civil Mamirauá: MCT-CNPq, 2007.

BALIEIRO, A. L. Obtenção de leite com baixo teor de lactose utilizando matrizes hidrofóbicas. 165f. Tese (Doutorado em Engenharia de Processos), Aracaju; Universidade Tiradentes, 2015.

BARBOSA, C. R. Intolerância a lactose e suas consequências no metabolismo do cálcio. Revista Saúde e Pesquisa, Maringá, v. 4, n.1, p. 81-86, jan./abr., 2011.

BOSSO, A.; MORIOKA, L. R. I.; SANTOS, L. F.; SUGUIMOTO, H. H. Potencial de hidrólise da lactose e estabilidade térmica da β -galactosidase comercial em leite UHT e desnatado. Food Sci. Technol., Campinas, v. 36, n. 1, p. 159-165, 2016.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução- RDC N° 135, de 8 de fevereiro de 2017. Portaria SVS/MS nº 29, de 13 de janeiro de 1998, Diário Oficial da União, Brasília, 9 fev., 2017.

BUSSAB, W.O.; MORETTIN, P.A. Estatística básica. 7. ed. São Paulo: Saraiva, 2011. 540 p.

CAMPOS, T. C. A. S.; ALMEIDA, W. K.; ALEGRO, L. C. A.; ROIG, S. M.; SUGUIMOTO, H. H. Utilização da β -galactosidase na Hidrólise da lactose do leite em baixa temperatura. UNOPAR Cient., Ciênc. Biol. Saúde, Londrina, v. 11, n. 4, 2009.

CARMINATTI, A. C. Ensaio de hidrólise enzimática da lactose em reator a membrana utilizando Beta-Galactosidase *Kluyveromices lactis*. 66 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química), Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina, 2001.

CUNHA, M. E. T.; SUGUIMOTO, H. H.; OLIVEIRA, A. N.; SIVIERI, K.; COSTA, M. R. Intolerância à lactose e alternativas tecnológicas. Journal of Health Sciences, v. 10, n. 2, 2008.

FAEDO, R.; BRIÃO, V. B.; CASTOLDI, S.; GIRARDELLI, L.; MILANI, A. Obtenção de leite com baixo teor de lactose por processos de separação por membranas associadas a hidrólise enzimática. Revista de Ciências Exatas Aplicadas e Tecnológicas da Universidade de Passo Fundo - CIATEC-UPF, Passo Fundo, v.5, n.1, 2013.

FONTES, E. A. F.; ALVES, Y. P. C.; FONTES, P. R.; MINIM, V. P. R. Bebida eletrolítica a base de permeado da ultrafiltração de leite: avaliação física, química e microbiológica durante o armazenamento. Cienc. Rural, Santa Maria, v.45 n. 2, fev. 2015.

FRIEDRICH, M. L. A diversidade do gene LCT e a persistência da lactase na população brasileira. 106 f. Tese (Doutorado em Biologia Molecular), Porto Alegre: Instituto de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2013.

GENNARI, A.; ROSOLEN, M. D.; VOLPATO, G.; SOUZA, C. F. V. Estudo da hidrólise enzimática da lactose em soros lácteos utilizando β -galactosidases microbianas. In: SEMINARIO BRASILEIRO DE TECNOLOGIA ENZIMATICA, 12., Porto Alegre. In: Anais... Porto Alegre, 2016.

GIRALDI, C. Aplicação de concentrado proteico de soro de leite com lactose hidrolisada em iogurte com baixo teor de lactose. 70 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos), Medianeira: Universidade Tecnológica Federal do Paraná, 2014.

HEIDTMANN, R. B.; DUARTE, S. H.; PEREIRA, L. P.; BRAGA, A. R. C.; KALIL, S. J. Caracterização cinética e termodinâmica de β -galactosidase de *Kluyveromyces marxianus* CCT 7082 fracionada com sulfato de amônio. Braz. J. Food. Technol., Campinas, v. 15, n.1, p.41-49, jan./mar., 2012.

LIMA, A. F. Imobilização de uma β -galactosidase produzida por *Kluyveromyces lactis* NRRL Y-1564 cultivada em soro de leite. 100 f. Tese (Doutorado em Biotecnologia), Fortaleza: Universidade Federal do Ceará, 2012.

LIMA, J. Enzima permite a fabricação de produtos lácteos com zero lactose e menos açúcar. Aditivos Ingredientes, São Paulo, 2015.

MATTAR, R.; MAZO, D. F. C. Intolerância à lactose: mudança de paradigmas com a biologia molecular. Rev. Assoc. Med. Bras., São Paulo, v. 56, n.2, 2010.

MOREIRA, A. L. G; MARCELINO, C. H; PEREIRA, C. S. Teor de lactose em leites UHT que declaram ser zero lactose. 18 f. (Trabalho de Conclusão de Curso-Tecnologia dos Processos Químicos), Lins: Centro Universitário de Lins, Unilins, 2016.

MORIWAKI, C.; MATIOLI, G. Influência de B-galactosidase na Tecnologia do Leite e na Má Digestão da Lactose. Arq. Cienc. Saúde Unipar, Maringá, v. 4, n. 3, p. 283- 290,2000.

MUNIZ, L. C.; MADRUGA, S. K.; ARAUJO, C. L. Consumo de leite e derivados entre adultos e idosos no Sul do Brasil: um estudo de base populacional. Ciênc. saúde coletiva, Rio de Janeiro, v.18, n. 12, 2013.

PEREIRA, M. C. S.; BRUMANO, L. P.; KAMIYAMA, C. M.; PEREIRA, J. P. F.; RODARTE, M. P.; PINTO, M. A. O. Lácteos com baixo teor de lactose: uma necessidade

para portadores de má digestão da lactose e um nicho de mercado. Rev. Inst. Latic. “Cândido Tostes”, Juiz de Fora, n. 389, v. 67, p.57-65, nov./dez. 2012.

PEREIRA, N. S. Determinação da presença de bactérias psicrotróficas no leite cru produzido em região do interior do Rio Grande do Sul e sua correlação com o índice de acidez. 40f. Monografia (Graduação em Farmácia), Lajeado: Centro Universitário UNIVATES, 2017.

PORTO, C. P. C.; THOFEHM, M. B.; SOUSA, A. S.; CECAGNO, D. Experiência vivenciada por mães de crianças com intolerância a lactose. Fam. Saúde Desenv, Curitiba, v.7, n.3, p.250-256, set./dez. 2005.

QUINN, N. Z. K.; ZHOU, X. D. C., Effects of temperature and pH on the catalytic activity of the immobilized-galactosidase from *Kluyveromyces lactis*. Biochemical Engineering Journal, 9, 33-40, 2001.

RAMALHO, M. E. O; GANECO, A. G. Intolerância a lactose e o processamento dos produtos zero lactose. Revista Interface Tecnológica, Taquaritinga, v. 13, n. 1, p. 15, dez. 2016.

SILVA, L. O. M. Apresentação de propostas para a produção de sorvetes com baixo teor de lactose a partir de processos de separação por membranas (PSM). 54 f. TCC (Graduação em Engenharia de Alimentos), Uberlândia: Universidade Federal de Uberlândia, 2015.

TÉO, C. R. P. A. Intolerância à Lactose: uma breve revisão para o cuidado nutricional. Arq. Cien. Saúde Unipar, Umuarama, v. 6, n. 3, set./dez, 2002.

TONETTI, D. Leite semi-desnatado ultrapasteurizado com teor reduzido de lactose através do método enzimático. 35 f. TCC (Especialização em Tecnologia de Alimentos), Francisco Beltrão: Universidade Tecnológica Federal do Paraná, 2015.

VILELA, D. A importância econômica, social e nutricional do leite. Revista Batavo, Maringá, n. 111, janeiro 2002.

WORTMANN, A. C; SIMON, D; SILVEIRA, T. R. Análise molecular da hipolactasia primária do tipo adulto: uma nova visão do diagnóstico de um problema antigo e frequente. Revista da AMRIGS, Porto Alegre, v. 57, n. 4, p. 335-343, out./dez. 2013.