

# IMPORTÂNCIA E PERSPECTIVAS DA PROTEÍNA LACTASE: UMA REVISÃO

## IMPORTANCE AND PROSPECTS OF PROTEIN LACTASE: A REVIEW

Juliana Kátia Lopes Araújo Rodrigues<sup>1</sup>, Geziella Aurea Aparecida Damasceno Souza<sup>2</sup>, Larissa Bicalho Pimenta<sup>3</sup>, Cláudia de Aguiar Menezes Fonseca<sup>4</sup>, Danielle Soares Malveira<sup>5</sup>, Ronilson Ferreira Freitas<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Graduada em Engenharia Química pela Faculdade de Ciência e Tecnologia - FACIT. Mestranda em Biotecnologia pela Universidade Estadual de Montes Claros - Unimontes, Montes Claros/MG.

<sup>2</sup>Graduada em Biomedicina pela Faculdade de Saúde e Humanidades Ibituruna - FASI. Mestranda em Produção Animal pela Universidade Federal de Minas Gerais - UFMG, Montes Claros/MG.

<sup>3</sup>Graduada em Engenharia Química pela Faculdade de Ciência e Tecnologia - FACIT, Montes Claros MG.

<sup>4</sup>Especialista em Gestão de Serviços e Sistemas de Saúde, Montes Claros MG.

<sup>5</sup>Mestre em Produção Animal Universidade Federal de Minas Gerais - UFMG, Docente nas Faculdades Integradas do Norte de Minas - Funorte, Montes Claros/MG.

<sup>6</sup>Mestre em Saúde, Sociedade e Ambiente pela UFVJM. Docente nas Faculdades Integradas do Norte de Minas e Professor Pesquisador do Centro de Educação a Distância da Unimontes. Montes Claros/ MG.

### RESUMO

A lactase, também conhecida como  $\beta$ -galactosidase, é uma proteína com função enzimática, naturalmente produzida no intestino delgado de mamíferos. Tem como função a quebra da molécula de lactose em moléculas menores de glicose e galactose. A lactose também pode ser produzida de forma industrial, sendo que apresenta ação muito similar a lactase de origem biológica. A obtenção de lactase por microrganismos é a mais utilizada industrialmente, devido à alta taxa de rendimento e reprodução comparada as outras fontes. O gene responsável por sua produção em microrganismos lácticos é clonado, recombinado em plasmídeo e inserido em células como *Escherichia coli* para expressão da enzima. Já as bactérias como *Lactobacillus* sp. são naturalmente produtoras dessa enzima e podem ser utilizadas em probióticos. A lactase apresenta diversas aplicações para indústria alimentícia e farmacêutica, sendo ainda necessário realizar novos estudos para produção de uma lactase mais termoestável, devido vários processos envolver altas temperaturas.

**Palavras-chave:** Enzimas. Lactase. Lactose.  $\beta$  galactosidase. Laticínios.

## IMPORTANCE AND PROSPECTS OF PROTEIN LACTASE: A REVIEW

### ABSTRACT

Lactase, also called  $\beta$ -galactosidase, is a protein with enzymatic function naturally produced in the small intestine of mammals. Its function is to break the lactose molecule into smaller molecules of glucose and galactose. Lactose also can be obtained by industrial production and its action is very similar to lactase of biological origin. The lactase obtained by microorganisms is the most used industrially, due to the high yield and reproduction rate compared to other sources. The gene responsible for its production in lactic microorganisms is cloned, recombinated in plasmid and inserted into cells such as *Escherichia coli* for express enzymes. Bacterias such as *Lactobacillus* sp. are naturally producing this enzyme and can be used in probiotics. Lactase has several applications for the food and pharmaceutical industry, and more studies are necessary to produce a more thermostable lactase, due to various processes involving high temperatures.

**Keywords:** Enzymes Lactase. Lactose.  $\beta$  galactosidase. Dairy products.

## INTRODUÇÃO

A  $\beta$  galactosidase é proteína com função enzimática, que degrada a lactose e apresenta a capacidade de catalisar oligossacarídeos. Quando ocorre a quebra da lactose ocorre a geração de dois produtos, a glicose e a galactose (ZYCHAR E OLIVEIRA, 2017). As lactases são geralmente encontradas na natureza, distribuídas entre vegetais como: amêndoas, pêssego, damasco, maçã, em órgãos de animais, por exemplo intestino, cérebro, testículos, placenta e também são produzidas por grande quantidade de microrganismos, tais como fungos filamentosos, bactérias e leveduras (SANTIAGO, *et al* 2004).

Existem estudos que comprovam não haver a necessidade da utilização de leite e derivados na dieta dos seres humanos adultos, pois o organismo com o passar dos anos tende a parar de produzir essa enzima, gerando a intolerância a lactose. Para solucionar esse problema, a indústria biotecnológica sintetizou a lactase em capsulas para digerir a lactose, sendo essa enzima atualmente comercializada em farmácias (TORREGROSA *et al.*, 2015).

Na indústria biotecnológica utiliza-se microrganismos para obtenção da lactase, devido à alta taxa de rendimento e reprodução comparada as outras fontes. A produção é dividida em 4 etapas, a primeira é a escolha do melhor microrganismo, a segunda determinar o meio de cultura e sua composição, na terceira a formação e condução do processo e na última a fase, conhecida *downstream* consiste em purificar e obter a recuperação do microrganismo (OLIVEIRA *et al.*, 2011).

A lactase industrial, de origem biotecnológica tem ação muito similar a lactase de origem biológica (FRANCESCONI *et al.*, 2016; BARROS *et al*, 2019). O gene responsável por sua produção em microrganismos lácticos é clonado, recombinado em plasmídeo e inserido em células como *Escherichia coli* para expressão da enzima (XU *et al.*, 2019). Já as bactérias como *Lactobacillus sp.* são naturalmente produtoras dessa enzima e podem ser utilizadas em probióticos ou culturas starters (NAWAL *et al.*, 2018).

Atualmente diversas indústrias utilizam a lactase nos seus processos, sendo principal consumidora a indústria de laticínios, que a utiliza para produção de alimentos com baixo teor de lactose (MATIOLI, 2001). Apesar do grande consumo, a lactase apresenta a desvantagem de ser pouco estável, e quando utilizada em processos

com variações térmicas e mecânicas tem sua eficácia reduzida.

Assim, esse trabalho objetivou-se realizar uma revisão de literatura sobre a enzima  $\beta$ -galactosidase, abordando sua estrutura química, sua função biológica, a forma como é produzida industrialmente e suas principais aplicações.

## REVISÃO DE LITERATURA

### Estrutura química da lactase

Conforme Lopes & Silva (2015), a  $\beta$  galactosidase popularmente conhecida como lactase, classificadas como hidrolases, é uma proteína com função enzimática que degrada o resíduo terminal  $\beta$ -galactopiranosil, lactose (C<sub>12</sub>H<sub>22</sub>O<sub>11</sub>), arabinoses, sendo capaz ainda de catalisar alguns oligossacarídeo. Vale salientar, que essa enzima é um dissacarídeo, são produzidas pelos enterócitos e secretadas pelas células da mucosa do intestino delgado (ZYCHAR E OLIVEIRA, 2017)

A enzima lactase é responsável por liberar os componentes monossacarídeos da glicose e galactose, obtendo assim, alimentos com baixos teores de lactose, melhorando a solubilidade e digestibilidade do leite e derivados lácteos, ideais para consumidores intolerantes à lactose (SANTIAGO *et al.*, 2004). Estes monossacarídeos sofrem uma absorção sanguínea e dessa forma estes componentes passam pelo sistema e são transportados pelo fígado onde a galactose é convertida em glicose (Santos *et al* 2014).

Diante do exposto, a enzima lactase é produzida pelo intestino, mais específico no o intestino delgado e que por sua vez, possui função de quebrar as ligações entre a glicose e galactose e então após esses açúcares serem reduzidos são digeridos normalmente. A partir disso, vale salientar, a importância da lactase no processo de decomposição do açúcar do leite que é a lactose tornando-as moléculas menores para então serem absorvidas. Porém, quando não absorvida a lactose é fermentada pela microbiota do cólon e com isto, resulta-se em aumento do peristaltismo da parede intestinal, ácidos orgânicos, gases bem como outros problemas causados pelo fluxo anormal do intestino (WOLF SEGAL, 2015).

De acordo com Mattar (2010), em sua forma maturada possui dois sítios ativos, um é a  $\beta$  galactosidase capaz de hidrolisar a lactose, o

ntito-fenil- $\beta$  glicopiranosida, o nitro-fenil- $\beta$ -galactopiranosida e celobiose já a porção florizina hidrolase (LPH) é capaz de hidrolisar a m-nitro-fenil- $\beta$  glicopiranosida e florizina.

## Função Biológica e Importância da Lactase

A lactase apresenta a função de digerir/quebrar a molécula de lactose proveniente da alimentação em moléculas menores de glicose e galactose. Essa quebra acontece na ligação glicosídica e os monômeros de glicose e galactose resultantes dessa reação são absorvidos no intestino, caindo na corrente sanguínea (COLUCCIA *et al.*, 2019). A glicose será utilizada como fonte de energia pelas células e a galactose com ação de outras enzimas, além do fornecimento de energia, poderá ser utilizada para múltiplas funções incluindo estruturação de moléculas usadas nas comunicações intercelulares, no sistema imune e nos epitélios (SZILAGYI; ISHAYEK, 2018).

Em recém-nascidos, cuja alimentação é exclusiva do leite materno, a lactase é primordial. O leite humano apresenta lactose como o principal carboidrato, aproximadamente 6,7% (SHI *et al.*, 2011). No leite do bovino esse percentual está em torno de 4,5% (CZARNOBAY *et al.*, 2017). Na fase adulta, quando o ser humano está apto a manter uma dieta variada, a produção de lactase é reduzida, somente em indivíduos com genótipo persistente mantém sua produção elevada semelhante a infância (TORREGROSA *et al.*, 2015).

Há uma controvérsia quanto ao consumo de leite e laticínios - as maiores fontes de lactose, de diferentes espécies animais por seres humanos adultos, uma vez que, como os demais mamíferos, seria esperado o consumo de leite da mesma espécie e somente nas fases iniciais do desenvolvimento. É possível uma dieta balanceada sem ingestão de leite para algumas pessoas, mas não seria viável para toda a população (SANTOS; ROCHA; SANTANA, 2019). A fome e a subnutrição ainda existem, o leite e derivados constitui fonte de nutrientes essenciais de baixo custo. Por outro lado, alternativas para amenizar o impacto ambiental e o desconforto animal na agropecuária vem sendo cada dia desenvolvidas. Embora muitas delas também prometem maior lucratividade e impacto positivo na produção, requerem investimento e ainda não são uma realidade para todos os animais de produção.

## Deficiências na Produção de Lactase Intestinal

Aproximadamente 65% da população mundial é afetada por algum tipo de deficiência na produção da lactase (TORREGROSA *et al.*, 2014), sendo este percentual variável de uma região para outra e também entre etnias (TORRES *et al.*, 2014). Essas deficiências podem ser congênita, primária ou secundária. A deficiência primária pode acontecer com o envelhecimento, a diminuição ou incapacidade de produção da enzima levando a intolerância a lactose; secundária quando por alguma doença, infecção na mucosa intestinal, cirurgia ou injúria, o intestino perde a capacidade de produção dessa enzima; e congênita quando o indivíduo já nasce com essa incapacidade, na maioria das vezes por problemas genéticos. Alactasia se refere a deficiência total na produção da lactase (TORREGROSA *et al.*, 2015).

Na falta da enzima lactase, a lactose não é digerida, nem absorvida no intestino delgado. Isso provoca a drenagem de água para o lúmen intestinal, resultando em diarreia. No intestino grosso, a lactose é fermentada por bactérias lácticas da própria microbiota que produzem gases gerando dor, distensão abdominal (TORREGROSA *et al.*, 2015; COLUCCIA *et al.*, 2019). Entre os sintomas também está incluído vômito (MATTAR; MAZO, 2010) e enxaqueca (COLUCCIA *et al.*, 2019).

Algumas pessoas podem sentir mal-estar ao tomar leite, mas não apresentarem sintomas aparentes ao ingerir laticínios como queijos maturados e iogurtes processados (SANTOS; ROCHA; SANTANA, 2019). Torregrosa e colaboradores (2015) diferem o termo “má digestão da lactose” de “hipolactasia primária tipo adulto”. O primeiro caso se trata de uma condição independente e permanente, já o segundo, circunstancial e dependente da quantidade de lactose ingerida. Ambos os termos também são abordados nos estudos de Szilagyí e Ishayek (2018).

Existem testes genéticos para identificar mutações no gene LCT responsável pela produção da lactase e também dosagens respirométricas (COLUCCIA *et al.*, 2019). Sinais e sintomas devem ser levados em consideração (TORREGROSA *et al.*, 2015). Além da administração da enzima, outras alternativas de tratamento incluem dieta restrita, uso de probióticos e antibióticos (SANTOS; ROCHA; SANTANA, 2019). O acompanhamento clínico é fundamental.

## Produção de lactase

A  $\beta$ -galactosidase pode ser produzida de forma endocelular, no interior das células de animais e plantas ou exocelular quando são secretadas de células de microrganismos (SPIER, 2005). A obtenção de lactase por microrganismos é a mais utilizada industrialmente, devido à alta taxa de rendimento e reprodução comparada as outras fontes (RINGS *et al.*, 1994). A sua produção é influenciada por vários fatores, como o tipo de microrganismos, o meio fermentativo, as condições de pH, temperatura, tempo de incubação e velocidade de agitação (JURADO, *et al.*, 2004).

A lactase é produzida atualmente por diferentes fontes de microrganismos, como bactéria, fungos filamentosos e leveduras. Comercialmente lactases são produzidas a partir de leveduras, como *Kluyveromyces fragilis* e *Kluyveromyces lactis*, bolores, como *Aspergillus oryzae* e *Aspergillus niger* (SEYIS, AKSOZ, 2004) e bactérias como *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* (TRUISE *et al.*, 2017). Este maior índice de utilização se deve ao maior rendimento do processo. Além disso, estes microrganismos não geram subprodutos tóxicos para os seres humanos (OLIVEIRA; GUIMARÃES; DOMINGUES, 2011).

A produção da  $\beta$ -galactosidase ou mais conhecida como lactase depende de 4 etapas sequenciais. Na primeira etapa ocorre à seleção do microrganismo a ser utilizado. A etapa seguinte envolve o meio de cultura e sua composição nutricional, como fonte de carbono, nitrogênio, aminoácidos, sais minerais e vitaminas. Como fonte de carbono, visando à produção da lactase, a lactose é frequentemente empregada. A quantidade deste substrato no meio é variada, e esta variação acarreta em diferentes quantidades de produção da enzima (OLIVEIRA *et al.*, 2011). A terceira etapa compreende a forma de condução do processo, sendo necessário definir temperatura, pH, tempo de fermentação, aeração e agitação do processo, bem como o tipo de reator a ser utilizado. A última etapa é a fase downstream do processo, ao qual, será definido as estratégias de purificação do produto e recuperação do microrganismo para reutilização (SCHMIDELL *et al.*, 2001).

Atualmente é de grande interesse econômico descobrir novos microrganismos produtores de lactases, com características de processamento da enzima aprimoradas, apresentando maior estabilidade de temperatura, pH. Sabe-se que apenas 0,1-1% das espécies bacterianas

são cultiváveis usando métodos convencionais (ERICH *et al.*, 2015). Portanto, uma fonte alternativa para encontrar novas lactases com propriedades industrialmente desejáveis é o metagenoma, que irá isolar apenas o DNA das amostras ambientais, em seguida irá utilizar a técnica do DNA recombinante, ao qual, irá cortar o DNA e clonar em vetores permitindo a expressão de enzimas de organismos não cultiváveis. Essa abordagem é eficiente para descobertas de novos biocatalisadores que produzam enzimas com alta estabilidade (GANS; WOLINSKY; DUNBAR, 2005; ERICH *et al.*, 2015).

## Aplicações da lactase na indústria e perspectivas para o futuro industrial

Nos últimos tempos tem-se observado um aumento significativo na oferta de produtos lácteos e derivados que contenham quantidade reduzida ou não contenham o carboidrato lactose. Sendo esse um dissacarídeo formado por glicose e galactose, é de muita importância para a indústria de alimentos, em especial, a de laticínios. A partir da fermentação da lactose, por microrganismos específicos, torna-se possível a obtenção do ácido láctico, subproduto para seguimento de processos de produção de iogurtes, leite fermentado, queijos, bebidas lácteas, dentre outros (MATHIÚS *et al.*, 2016).

Face à alta incidência de pessoas que por diversos razões não podem consumir ou ter contato com produtos que contenham esse dissacarídeo, a indústria química, farmacêutica e alimentícia precisaram buscar alternativas para conquistar mercados com necessidades específicas e com um público que, por essas motivações, se torna fiel à produtos que atendem suas prementes necessidades (PEREIRA *et al.*, 2012).

A lactose é um carboidrato encontrado naturalmente em leites e derivados, mas pode ser encontrada isolada, onde é muito utilizada para fins industriais (MATTAR E MAZO, 2010). A lactose é adicionada a formulações alimentícias de leite após processos de pasteurização ou qualquer outro processo que atinja uma temperatura de ruptura do dissacarídeo. Essa adição é importante para evitar que a glicose e sacarose que são adicionadas nos produtos de derivados de leite não cristalizem e concebam aspecto grumoso ao produto (JUSTINA; JUSTINA; SKORONSKY, 2018). A lactose é utilizada ainda pela indústria alimentícia e farmacêutica como um edulcorante,

componente que confere sabor adocicado a formulações. Dentre os medicamentos que utiliza a lactose está a dipirona sódica, medicamento largamente usado pela população brasileira como analgésico e antitérmico. É considerado pela ANVISA, um medicamento de venda livre, ou seja, não é necessário a prescrição médica para ser vendida ao consumidor final (SILVA; FONSECA; ARRAIS; FRANCELINO, 2008).

A indústria de laticínios, principal consumidor direto da enzima lactase ( $\beta$ -galactosidase) tem um benefício interessante em seus produtos com baixo teor de lactose ou sem lactose, tais produtos possuem um sabor mais adocicado, conferido pelo alto teor de açúcares mais simples como a glicose e galactose. Outrossim, indústrias de sorvetes, iogurtes e sobremesas congeladas adicionam a lactase em suas formulações para melhorar aspectos de cremosidade, poder edulcorante e digestibilidade desses produtos. Um outro benefício da aplicação de leite hidrolisado (sem lactose) é que queijos feitos com essa matéria-prima passam pelo processo de maturação mais rápido, fazendo com que cheguem mais rápido ao consumidor final e dinamize o processo industrial desse alimento (NEELAKANTAN; MOHANTY; KAUSHIK, 1999).

Mesmo sendo de grande importância para a indústria, em sua maior parte, para a alimentícia, a lactase é uma enzima de baixa estabilidade quando utilizada em processos com variações térmicas e mecânicas, conferindo aos processos e produtos uma eficiência reduzida. Com o intuito de tornar essa enzima mais estável aos processos industriais, um recente estudo propôs o encapsulamento da lactase em gotículas de alginato de cálcio. Sendo esse particulado um polímero barato, alta biocompatibilidade e resistência à contaminação, mas que em tratamentos físicos não obteve muito sucesso. Outros excipientes utilizados como encapsulamento da lactase são a goma Guar, goma arábica, que são matérias-primas de extenso uso na indústria alimentícia, farmacêutica e cosmética (TRAFFANO-SCHIFFO et al., 2017).

Os desafios atuais da indústria de alimentos, fármacos e correlatos é estabelecer uma maior estabilidade para a utilização de biomacromoléculas como a lactase em seus produtos. Dessa forma, a médio e longo prazo, esforços serão necessários para desenvolvimento de mecanismos que fomentem a utilização de modo mais abrangente da lactase nos processos industriais como um todo e que garantam que a aplicação de forma segura e eficaz, desde sua

manipulação até sua eficácia na formulação (TRAFFANO-SCHIFFO et al., 2017).

É indubitável que o uso da lactase na indústria seja de grande cupidez e até mesmo necessidade, haja vista a grande parcela da população mundial que seja acometida de alguma deficiência dessa enzima no organismo. Durante esse estudo, verificou-se uma incipiente bibliografia acerca dos processos e produtos que possam utilizar a enzima lactase, e além disso, pesquisas mais aprofundadas sobre o tratamento dessa enzima para conferir maior estabilidade também são limitados e insuficientes, portanto, é preciso considerar novos estudos e aprofundamento científico para tais questões.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Nos últimos anos percebeu-se um crescente aumento na demanda de alimentos que combinem necessidades específicas, mas que mantenham as características organolépticas iguais ou parecidas, esse é o caso de produtos alimentícios sem lactose.

A lactose é um dissacarídeo muito comum em produtos laticínios e seus derivados. O homem possui em seu organismo uma proteína com ação enzimática, a lactase ou  $\beta$  galactosidase, que funciona como um agente que auxilia no catabolismo do dissacarídeo em dois monossacarídeos, glicose e a galactose, forma de açúcar que são mais facilmente utilizadas em ciclos metabólicos e geração de energia celular.

A deficiência em produção dessa enzima, leva o indivíduo a ter distúrbios orgânicos, pois não consegue degradar a lactose. Dada à essa necessidade, a indústria biotecnológica desenvolveu métodos de obtenção e isolamento da enzima  $\beta$  galactosidase. O processo de recombinação gênica gerou uma proteína com ação muito similar e que vem sendo utilizada em forma de capsulas, comprimidos e pós para uso comercial ou industrial.

Esse processo industrial foi aprimorado dada à grande incidência de pessoas portadoras de alguma dificuldade em digerir a lactose, estima-se que 65% da população mundial é acometida por alguma deficiência em produzir a lactase. Tendo esse percentual, investimentos na obtenção, sintetização e comercialização de alimentos, medicamentos e insumos que suprem essa necessidade tem aumentado muito nos últimos anos.

Para o processo de obtenção da lactase, utiliza-se microorganismos, bactérias, fungos ou leveduras e tem-se 4 etapas sequenciais. O primeiro passo é a seleção do microrganismo, em seguida a escolha do meio de cultura e sua composição nutricional. A terceira etapa compreende a forma de condução do processo, sendo necessário definir temperatura, pH, tempo de fermentação, aeração e agitação do processo, bem como o tipo de reator a ser utilizado. A última etapa é a fase downstream do processo, ao qual, será definido as estratégias de purificação do produto e recuperação do microrganismo para reutilização. Esse processo biotecnológico é muito usado hoje devido ao seu alto rendimento processual, o que é um ganho em termos industriais e comerciais.

Contudo, o grande desafio da indústria biotecnológica hoje é descobrir novos microrganismos que conduzam processos mais estáveis sem oscilações ou oscilações mínimas de temperatura e pH, aumentando ainda mais seu rendimento e reduzindo as variáveis que podem interferir na obtenção de uma enzima eficaz. Tem-se nesse viés, um grande desafio para a pesquisa e desenvolvimento das indústrias biotecnológicas. Dessa forma, a médio e longo prazo, esforços serão necessários para desenvolvimento de mecanismos que fomentem a utilização de modo mais abrangente da lactase nos processos industriais como um todo e que garantam que a aplicação de forma segura e eficaz, desde sua manipulação até sua eficácia na formulação.

Tendo em vista todo o estudo conduzido nessa revisão, vê-se ainda uma incipiente bibliografia acerca dos processos e produtos que possam utilizar a enzima lactase, e além disso, pesquisas mais aprofundadas sobre o tratamento dessa enzima para conferir maior estabilidade também são limitados e insuficientes, portanto, sugere-se considerar novos estudos e aprofundamento científico para tais questões.

## REFERÊNCIAS

BARROS, R.F.; *et al.* Lactose hydrolysis and organic acids production in yogurt prepared with different onset temperatures of enzymatic action and fermentation. **Ciênc. anim. bras.**, Goiânia, v. 20, e43549, 2019. Available from: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1809-68912019000100600&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1809-68912019000100600&lng=en&nrm=iso)>. access on 20 Aug. 2019. Epub Mar 18, 2019. <http://dx.doi.org/10.1590/1809-6891v20e-43549>.

COLUCCIA, E.; IARDINO, P.; PAPPALARDO, D.; *et al.* Congruency of Genetic Predisposition to Lactase Persistence and Lactose Breath Test. **Nutrients** 2019, 11(6), 1383; <https://doi.org/10.3390/nu11061383>.

CZARNOBAY, M.; Vandré B.; Rodrigues, V M; MILANI, A; castoldi, v. Cinética de hidrólise de lactose em leite de ovelha e leite de vaca. **Revista CIATEC - UPF**. vol.9 (1), p.p.15-24, 2017.

ERICH, S., *et al.* Novel high-performance metagenome -galactosidases for lactose hydrolysis in the dairy industry. **Journal of Biotechnology**. Zwingenberg, Germany. v. 210, p. 27-37, 2015.

FRANCESCONI, C.F.M.; *et al.* Oral administration of exogenous lactase in tablets for patients diagnosed with lactose intolerance due to primary hypolactasia. **Arq. Gastroenterol.**, São Paulo, v. 53,n. 4,p. 228-234, Dec. 2016. Available from <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S000428032016000400228&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S000428032016000400228&lng=en&nrm=iso)>. access on 20 Aug. 2019.

GANS, J., WOLINSKY, M., DUNBAR, J., 2005. Computational improvements reveal great bacterial diversity and high metal toxicity in soil. **Science**, Los Alamos, EUA, v. 309, p. 1387-1390, 2005.

ISIL SEYIS, NILUFER AKSOZ. Production of Lactase by *Trichoderma* sp. **Beytepe Food Technol. Biotechnol.** Ankara, Turquia v. 42, p. 121-124, 2004.

JURADO, E. *et al.* Kinetic models of activity for  $\beta$ -galactosidases influence of pH, ionic concentration and temperature. **Enzyme and Microbial Technology**, Uberlândia, Brasil. v. 34, p. 33- 40, 2004.

JUSTINA, Maciel Dela; JUSTINA, Mariléia Buss Dela; SKORONSKI, Everton. Uso das enzimas na indústria de laticínios: uma breve revisão. **Rev. Inst. Laticínios Cândido Tostes**. Juiz de Fora, v. 73, nº 3, p. 172-184. Jul/Set 2018.

MATHIÚS, Lais Adrielli; MONTANHOLI, Cássia Helena dos Santos; OLIVEIRA, Luis Carlos Nobre de; BERNARDES, Daniele Navarro D'Almeida; PIRES, Ariadine; HERNANDEZ, Fabiana Maciel de Oliveira. Aspectos atuais da intolerância à lactose. **Revista Odontológica de Araçatuba**, v. 37, n. 1, p. 46-52. Janeiro/Abril, 2016.

Mattar R, Mazo DFC. Intolerância a Lactose: mudança de paradigma com a biologia molecular. **Revista da Associação Médica Brasileira**. Vol. 56, n. 2, p. 230-236, 2010.

Nawal, B; Abdelmalek, C; Choukri, T.; Aurélia, B.; Philippe, G; Nabil, B; Yassine, N; Elisabeth, G-N; Ali, R; **South Asian Journal of Experimental Biology**, 2018, Vol.8 (4), p.154-162

NEELAKANTAN, S; MOHANTY, AK; KAUSHIK, Jai K. Production and use of microbial enzymes for dairy processing. **Current Science**. v. 77, n. 1. India, 1999.

OLIVEIRA, C.; GUIMARÃES, P. M. R.; DOMINGUES, L. Recombinant microbial systems for improves  $\beta$ -galactosidase production and biotechnological applications. **Biotechnology Advances**. Braga, Portugal, v. 29, p. 600-609, 2011.

PEREIRA, MCS; BRUMANO, LP; KAMIYAMA, CM; PEREIRA, JPF; RODARTE, MP; PINTO, MAO. Lacteos com baixo teor de lactose: uma necessidade para portadores de má digestão da lactose e um nicho de mercado. **Rev. Inst. Latic."Cândido Tostes"**. 2012; 389 (67): 57-65.

RINGS, E. *et al.* Lactase: Origin, gene expression, localization, and function. **Nutrition Research**. v. 14, n. 5, p. 775-797, 1994.

SANTIAGO, Patrícia; *et al.* Estudo da produção de  $\beta$ -galactosidase por fermentação de soro de queijo com *Kluyveromyces marxianus*. **Ciênc. Tecnol. Aliment.** Campinas, 2004. P. 567- 572

SANTOS, Geisa J.; ROCHA, Raquel; SANTA-NA, Genoile O. Lactose intolerance: what is a correct management?. **Rev. Assoc. Med. Bras.**, São Paulo, v. 65, n. 2, p. 270-275, Feb. 2019. Available from <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0104-42302019000200270&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0104-42302019000200270&lng=en&nrm=iso)>. access on 20 Aug. 2019. <http://dx.doi.org/10.1590/1806-9282.65.2.270>.

SCHMIDELL, W. Microrganismos e meios de cultura para utilização industrial. **Biotecnologia Industrial**. São Paulo: Edgard Blucher Ltda, cap. 2, v. 2, p. 5-18, 2001.

SHI, Yu-dong; SUN, Guo-qing; Zhang, Zhi-guo, *et al.* The chemical composition of human milk from Inner Mongolia of China. **Food Chemistry** 127 (2011), 1193-1198.

SILVA, Antônio Vinícios Alves da Silva; FONSECA, Said Gonçalves da Cruz; ARRAIS, Paulo Sérgio Dourado; FRANCELINO, Eudiana Vale. Presença de excipientes com potencial para indução de reações adversas em medicamentos comercializados no Brasil. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, vol. 44, n. 3. Jul/Set, 2008.

SILVA, Gustavo Gonçalves, LOPES, LEONARDO DE ARAÚJO. INTOLERÂNCIA A LACTOSE E GALACTOSEMIA: IMPORTÂNCIA DOS PROCESSOS METABÓLICOS. **Brazilian Journal of Surgery and Clinical Research - BJSCR**. Vol.11, n.4, p.57-62. 2015.

SPIER, M. **Produção de enzimas amilolíticas fúngicas  $\alpha$ -amilase e amiloglucosidase por fermentação no estado sólido**, 2005, 178f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal do Pará, Curitiba, 2005.

SZILAGYI, Andrew; ISHAYEK, Norma. Lactose Intolerance, Dairy Avoidance, and Treatment Options. **Nutrients**. v. 10, 1994; doi:10.3390/nu10121994

TORREGROSA, Daniel Villanueva *et al.* Bases conceptuales del diagnóstico de intolerancia a lactosa, hipolactasia y mala digestión de lactosa. **Salud, Barranquilla**, v. 31, n. 1, p. 101-117, Jan. 2015. Available from <[http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0120-55522015000100012&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-55522015000100012&lng=en&nrm=iso)>. access on 20 Aug. 2019.

TORRES, Evelyn Mendonza *et al.* Análisis de los polimorfismos europeos en el gen Lactasa entre grupos étnicos del Caribe Colombiano. **Acta bioquím. clín. latinoam.**, La Plata, v. 48, n. 4, p. 457-463, dic. 2014. Disponible en <[http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0325-29572014000400008&lng=es&nrm=iso](http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0325-29572014000400008&lng=es&nrm=iso)>. accedido en 20 agosto 2019.

TRAFFANO-SCHIFFO, Maria Victória; CALVO, Tatiana Rocio Aguirre, GIRALDEZ, Marta Castro; FITO, Pedro José; SANTAGAPITA, Patricio R. Alginate beads containing lactase: stability and microstructure. **Biomacromolecules**, vol. 18, n. 6, p. 1785-1792, 2017.

TROISE A. *et al.* The quality of low lactose milk is affected by the side proteolytic activity of the lactase used in the production process. **Food Research International**. Portici, NA, Italy. v. 89, p. 514-525, 2017.

WOLFF, Cláudio H.; SEGAL, Fábio; WOLFF, Fernando. Intolerância à lactose. In: **Equipe ABC da Saúde**. 2008. Disponível em < <http://www.abcdasaude.com.br/artigo.php?269>>. Acesso em setembro. 2019.

XU, Xinxin; FAN, Xiaohu; FAN, Chao, et al. Production Optimization of an Active  $\beta$ -Galactosidase of *Bifidobacterium animalis* in Heterologous Expression Systems. **BioMed Research International**. Volume 2019, Article ID 8010635, 10 pages <https://doi.org/10.1155/2019/8010635>

Zychar, Cestari Bianca. Oliveira, Araújo Beatriz. Fatores Desencadeantes da intolerância a lactose: Metabolismo Enzimático, Diagnóstico e Tratamento. Vol. 5, n.1, p. 35-46. 2017