

CINÉTICA DE HIDRÓLISE DE LACTOSE EM LEITE DE OVELHA E LEITE DE VACA

KINETICS OF LACTOSE HYDROLYSIS IN SHEEP MILK AND COW MILK

Marcela Czarnobay¹, Vandrê Barbosa Brião², Vera Maria Rodrigues², Adriana Milani³, Vinicius Castoldi³

¹Aluna do curso de Especialização em Desenvolvimento de Produtos e Gestão na Indústria de Alimentos, Universidade de Passo Fundo - UPF. Rodovia BR 285 - km 171. CEP 99052-900. Passo Fundo - RS.

E-mail: mczarnobay@gmail.com.

²Professores da Faculdade de Engenharia e Arquitetura da Universidade de Passo Fundo – UPF. Rodovia BR 285 km 171. CEP 99052-900. Passo Fundo - RS. E-mails: vandre@upf.br, veramro@upf.br.

³Alunos do curso de Engenharia de Alimentos - UPF. Rodovia BR 285 - km 171. CEP 99052-900. Passo Fundo - RS. E-mails: adrianamilani2012@gmail.com, vinicius.castoldi@htomail.com.

RESUMO

Produtos lácteos derivados de leite de ovelha apresentam características sensoriais e nutricionais diferenciadas, o que os torna produtos de alto valor agregado. Assim como no leite de outras espécies, o leite de ovelha apresenta lactose em sua composição, sendo inadequado o consumo deste leite e muitos derivados a indivíduos intolerantes à lactose sem que este carboidrato seja pré-hidrolisado pela enzima β -galactosidase. A hidrólise da lactose tem um efeito de diminuição no ponto de congelamento do leite, sendo possível estimar a porcentagem de hidrólise a partir da variação desta propriedade. O trabalho avaliou a cinética de hidrólise de lactose em leite de ovelha e leite de vaca. A composição química do leite das diferentes espécies foi determinada. Iniciada a reação, o tempo foi controlado e a crioscopia foi determinada em intervalos específicos, sendo possível estimar o grau de hidrólise através de equação de correlação. Os dados foram plotados ao longo do tempo e a reação dividida em intervalos conforme comportamento dos dados. Foi determinada a ordem da reação e os coeficientes cinéticos em cada intervalo. As reações apresentaram mesmas ordens de reação para os diferentes intervalos, sendo de ordem zero no intervalo inicial e, posteriormente, reações de segunda ordem. O índice crioscópico teve maior variação no leite de ovelha, o que pode indicar que a equação de correlação entre grau de hidrólise e variação de índice crioscópico, adequada ao controle da reação em leite de vaca não é aplicável ao leite de ovelha.

Palavras-chave: hidrólise de lactose, cinética enzimática, leite de ovelha.

ABSTRACT

Dairy products made of sheep milk have differentiated organoleptic and nutritional characteristics, making them high added value products. As in milk from other species, sheep milk presents lactose in its composition, making the consume of milk and many of its products unsuitable to lactose intolerant individuals without the pre-hydrolysis of this carbohydrate by the β -galactosidase enzyme. The lactose hydrolysis has the effect of decreasing the milk's freezing point, making possible to estimate the hydrolysis percentage by the variation of this propriety. The study aimed to evaluate the kinetics of lactose hydrolysis in sheep milk and cow milk. The chemical composition of the milk from different species was evaluated. As the reaction start, the time was controlled and the cryoscopy was evaluated at specific intervals, making it possible to estimate the hydrolysis degree using the correlation equation. The data were plotted over the time and the reaction was divided in intervals according to the behavior of the data. The order of the reaction and the kinetics coefficients were determined in each interval. The reactions presented the same reaction orders to the different intervals, being of zero order on the initial interval and, thereafter, second order reactions. The cryoscopic index had greater variation in the sheep milk, which may indicate that the correlation equation between hydrolysis degree and cryoscopic index, adequate to control the reaction in cow milk is not applicable to the sheep milk.

Keywords: lactose hydrolysis, cryoscopic index, enzymatic kinetics, sheep milk.

1. INTRODUÇÃO

O mercado de produtos lácteos vem apresentando crescimento contínuo baseado na diferenciação de produtos. Estas diferenças vão desde o uso de novas tecnologias, ao desenvolvimento de produtos para consumidores com necessidades nutricionais específicas e a produção de derivados de leite de diferentes espécies. Nesse contexto, a produção de lácteos a partir de leite de ovelha apresenta-se como uma alternativa, atendendo a um nicho de mercado específico.

No ano de 2010, foram produzidos mais de 10 ton de leite ovino, o que representa em torno de 1,4% do total de leite produzido, considerando as demais espécies. Nos últimos 10 anos, esta produção teve um crescimento de mais de 20% (FAOSTAT, 2010).

O leite de ovelha difere do leite das demais espécies, principalmente, por sua maior concentração de sólidos (FAVA, 2012), apresentando maior teor de gordura, sólidos desengordurados, proteína e cinzas em comparação com leite caprino, bovino e humano (JANDAL, 2006). Isso torna o leite de ovelha um alimento de alto valor nutricional (FAVA, 2012) e uma excelente matéria-prima para transformação em bebidas fermentadas e queijos (MOLIK et al., 2008), com elevado rendimento industrial.

Produtos lácteos derivados de leite ovino costumam atingir altos preços no mercado devido suas características organolépticas únicas (BENCINI, 2002), as quais aliadas ao elevado valor nutricionais têm levado a um aumento no interesse do mercado por produtos lácteos derivados de leite de ovelha.

Assim como no leite de demais mamíferos, a lactose é o principal carboidrato do leite de ovelha. Para ser absorvida, a lactose é hidrolisada no intestino delgado pela enzima β -galactosidase em glicose e galactose (VESA et al., 2000; MATTAR; MAZO, 2010). É comum indivíduos apresentarem queda de atividade da enzima β -galactosidase na mucosa intestinal, o que leva à má absorção de lactose, podendo ocasionar a intolerância a este carboidrato.

A má absorção da lactose consiste na incapacidade de digestão e absorção de lactose, enquanto que a intolerância à lactose é definida como sintomas clínicos causados pela ingestão de lactose (AURICCHIO; TRONCONE, 2000 apud BULHÕES et al., 2007).

Os sintomas comumente encontrados em intolerantes à lactose são gerados em diversos mecanismos no sistema digestivo: a lactose não absorvida, passando através do cólon, tem uma alta carga osmótica capaz de atrair água e eletrólitos para o intestino, diminuindo a consistência das fezes e aumentando a velocidade do trânsito intestinal. Após, a lactose não absorvida é hidrolisada em galactose e glicose pela β -galactosidase bacteriana presente em bactérias lácticas. Estes monossacarídeos ficam disponíveis para a fermentação bacteriana pela flora do íleo e cólon em ácidos graxos de cadeia curta com subprodutos hidrogênio e dióxido de carbono, causando inchaço no intestino delgado e flatulências no cólon. Em terceiro lugar, a redução do dióxido de carbono por certas cepas bacterianas em metano poderia, teoricamente, levar à constipação pela redução em complexos migratórios maiores do intestino delgado (LOMER et al., 2008).

A intolerância à lactose ocorre em cerca de 25% da população brasileira (BVSMS, 2005), e o tratamento inicial destes pacientes é a restrição temporária de leite e produtos lácteos da dieta (MATTAR; MAZO, 2010), o que leva a uma diminuição no aporte de nutrientes importantes. Segundo Moriwaki e Mاتيoli (2000), a redução ou eliminação de produtos do leite da dieta de crianças com má absorção de lactose pode comprometer a absorção de proteínas e cálcio.

Uma solução para o problema de suplementação de lácteos a indivíduos com má absorção de lactose é a produção de leite com baixo teor ou sem lactose (TURNER et al., 1976). Existe uma série de preparações de enzima β -galactosidase disponíveis comercialmente, utilizada para hidrolisar a lactose no leite, reduzindo sintomas em indivíduos intolerantes (SOLOMONS et al., 1985).

Conforme o Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade de Alimentos para Fins Especiais (BRASIL, 1998), alimentos especialmente formulados para atender às necessidades de portadores de intolerância à ingestão de dissacarídeos e ou portadores de erros inatos do metabolismo

de carboidratos podem conter no máximo 0,5 g do nutriente em referência, por 100 g ou 100 ml do produto final a ser consumido. Assim, alimentos voltados a intolerantes à lactose podem conter no máximo 0,5 g de lactose não hidrolisada a cada 100 g de produto, o que significa um grau de aproximadamente 90% de redução de lactose em leite de vaca. Esta redução deve ser controlada para garantir o atendimento à legislação dos produtos destinados a dietas com restrição de lactose

A maneira mais rápida e eficiente para estimar o grau de hidrólise de lactose durante uma reação é a medida do índice crioscópico do leite. O princípio deste método baseia-se nas mudanças das propriedades físicas do leite quanto ao abaixamento do ponto de congelamento, à pressão osmótica e à rotação ótica pela ação da enzima β -galactosidase sobre a lactose com produção de monossacarídeos (MAHONEY, 1985 apud MOREIRA et al, 2009). Durante uma reação de hidrólise, a temperatura necessária para congelar o leite tratado enzimaticamente diminui conforme o avanço da reação, e existem equações para correlacionar a variação do índice crioscópico com a porcentagem de hidrólise de lactose, aplicáveis à reação em leite de vaca.

O índice crioscópico do leite de ovelha difere do leite de vaca, devido à sua rica composição de sólidos. Estas diferenças na composição e no ponto de congelamento podem causar alterações no andamento da reação de hidrólise e na variação do ponto de congelamento durante a reação. Consequentemente, o controle da hidrólise da lactose em leite de ovelha através do acompanhamento do índice crioscópico pode exigir equações diferenciadas. O objetivo do presente trabalho foi comparar a hidrólise enzimática da lactose no leite de ovelha e no leite de vaca através da avaliação da cinética da reação no leite das duas espécies, assim como verificar a aplicabilidade de equação de correlação entre variação de crioscopia e hidrólise de lactose, indicada para o acompanhamento da reação em leite de vaca, para o leite de ovelha.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Coleta e tratamento das amostras de leite

Amostras de leite de vaca e leite de ovelha foram coletadas. A amostra de leite de ovelha proveio de tanque de mistura de cinco rebanhos da raça Lacaune, em propriedades localizadas na região serrana do RS. A amostra de leite de vaca proveio de rebanho da raça Holandesa de uma propriedade, localizada na mesma região.

As amostras foram tratadas termicamente à temperatura de 80°C por 10 min em banho-maria, para que a carga microbiana do leite cru fosse reduzida. O leite foi encaminhado à refrigeração e assim mantido até a realização das análises. O binômio tempo/temperatura foi escolhido de maneira a simular o processo utilizado na indústria.

2.2 Composição química das amostras

Alíquotas de cada amostra de leite cru resfriado foram acondicionadas em frascos contendo Bronopol (2-bromo-2-nitropropano-1,3-diol) como conservante e enviadas em caixa isotérmica ao laboratório do Serviço de Análise de Rebanhos Leiteiros, no Centro de Pesquisa em Alimentação da Universidade de Passo Fundo, para determinação da composição química do leite em equipamento de radiação infravermelha de marca Bentley.

2.3 Reação de hidrólise da lactose e acompanhamento

O ponto de congelamento do leite de vaca e leite de ovelha foi determinado em crioscópio eletrônico digital marca ITR, modelo TK540, no laboratório de análises físico-químicas da Universidade de Passo Fundo, em graus Hortvet (°H).

Após a determinação da crioscopia inicial, as amostras foram aquecidas até a temperatura de 38°C e mantidas em banho-maria nesta temperatura. A enzima β -galactosidase, distribuída pela empresa Granolab com atividade de 6500 LAU (lactase activity unit), foi adicionada na concentração indicada pelo fabricante (0,8 mL.L⁻¹). As amostras adicionadas da enzima foram agitadas e iniciaram-se as coletas de alíquotas para análise de crioscopia: 10 mL de cada tipo de leite eram coletados em tubos de ensaio que imediatamente eram imersos em banho-maria na temperatura de 90°C durante um minuto, para que ocorresse a inativação enzimática. As coletas eram feitas em intervalos de 5 min durante os primeiros 60 min de reação, de 15 em 15 min dos 60 aos 120 min e uma coleta foi realizada aos 165 min após a adição da enzima ao leite.

A crioscopia de cada amostra foi determinada. O efeito da adição da enzima lactase no ponto de congelamento antes do início da hidrólise foi determinado pela crioscopia da solução de enzima β -galactosidase em água destilada na mesma concentração utilizada no experimento. A partir disso, os valores de crioscopia após a adição da enzima foram corrigidos e para facilitar o entendimento os mesmos valores foram transformados de negativos para positivos.

O experimento foi realizado em duplicata para cada tipo de leite. Através dos valores médios das repetições da crioscopia, obteve-se o cálculo da porcentagem de hidrólise da lactose para cada tempo de reação, utilizando a Equação 1 segundo Prozyn (2007).

$$\% \text{ de Hidrólise alcançada} = 350,877 \cdot (\text{Crioscopia final}) - \frac{(\text{Crioscopia inicial})}{0,00285} \quad (1)$$

2.4 Cinética enzimática

As médias dos valores de crioscopia para leite de vaca e leite de ovelha foram plotadas ao longo do tempo. A velocidade inicial da reação para leite de vaca e leite de ovelha foi determinada pela variação da crioscopia entre o início e os primeiros 5 min de reação. Buscou-se então determinar-se a ordem global das reações. Como não existiu um modelo de ordem única que ajustou-se às reações, estas foram divididas em intervalos de tempo conforme o comportamento dos dados plotados, para se determinar a constante cinética de cada intervalo de tempo. Para a ordem global da reação de hidrólise, a mesma foi considerada elementar, segundo modelo geral citado por Levenspiel (2000). Para isso utilizou-se a Equação 2 :

$$\frac{d(C)}{dt} = k(C)^n \quad (2)$$

A Equação 2 foi integrada para n=0, n=1 e n=2 (reações de ordem zero, primeira ordem e segunda ordem, respectivamente), obtendo-se:

$$\text{para } n=0 \quad C = k \cdot t \quad (3)$$

$$\text{para } n=1 \quad \ln C = k \cdot t \quad (4)$$

$$\text{para } n=2 \quad -\frac{1}{C} = k \cdot t \quad (5)$$

Sendo:

C= valor de crioscopia

k = constante cinética da reação

t = tempo

As diferentes ordens de reação foram testadas para os intervalos de tempo através de regressão linear realizada no aplicativo Microsoft Excel 2007, sendo determinada a ordem do intervalo da reação pelo melhor coeficiente de correlação (R^2). As constantes cinéticas para os intervalos de reação em leite de vaca e leite de ovelha foram comparadas, assim como a velocidade inicial das reações.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Tabela 1 apresenta a composição química das amostras de leite de ovelha e leite de vaca utilizadas no experimento.

Tabela 1. Composição química das amostras de leite de ovelha e leite de vaca utilizadas no experimento.

Amostra	Gordura (%)	Proteína (%)	Lactose (%)	Sólidos Totais (%)	Sólidos Desengordurados (%)
Leite de ovelha	6,03	4,97	4,71	16,50	10,47
Leite de vaca	3,81	2,87	4,52	12,16	8,35

A composição química do leite de ovelha amostrado foi semelhante à encontrada por Brito et al. (2006) que, ao estudar a influência do período de lactação na composição do leite de ovelhas Lacaune da região serrana do RS, obteve valores médios 5,79% para gordura, 4,76% para lactose, 4,46% para proteína e extrato seco total de 16,25%. O leite de vaca atendeu o teor mínimo de gordura de 3,0% estabelecido pela Instrução Normativa nº 62 (BRASIL, 2011), enquanto que os teores de proteína e sólidos não gordurosos ficaram pouco abaixo dos padrões estabelecidos de 2,9% e 8,4%, respectivamente. A legislação não determina percentual mínimo de lactose, mas o teor de lactose do leite de vaca amostrado assemelha-se ao encontrado por Oliveira e Timm (2006) de 4,3% e por Gonzalez et al. (2004), de 4,44%.

A lactose, portanto, foi o único componente sólido dos leites das duas espécies que apresentou percentuais semelhantes, enquanto que o leite de ovelha apresentou percentuais bem maiores que o leite de vaca para gordura e proteína. A crioscopia inicial dos leites foi $-0,581^{\circ}\text{H}$ para leite de ovelha e $-0,545^{\circ}\text{H}$ para leite de vaca. A crioscopia do leite ao longo da reação de hidrólise de lactose para leite de ovelha e leite de vaca é apresentada na Figura 1. Os intervalos de tempo entre 5 e 40 min, 40 e 90 min e 90 a 165 min foram marcados na Figura 1 como t_1 , t_2 e t_3 , respectivamente

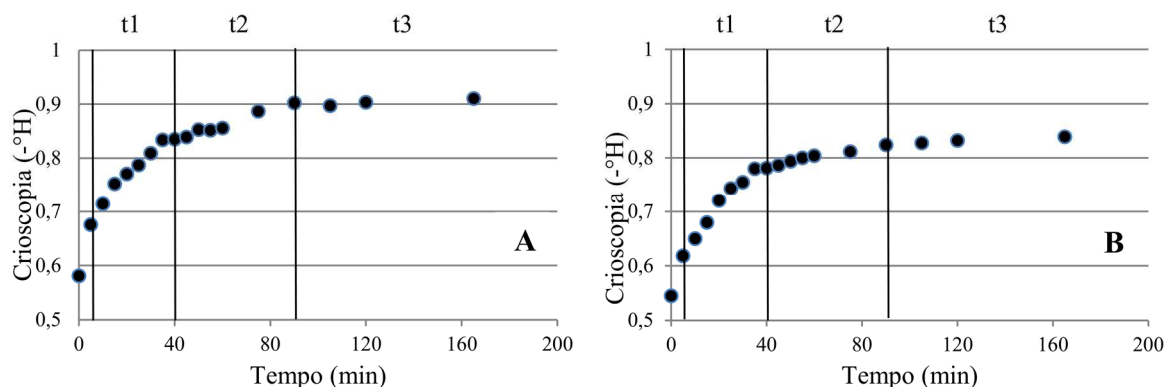


Figura 1. Evolução da crioscopia para leite de ovelha (A) e leite de vaca (B) em função do tempo de reação de hidrólise da lactose e divisão da reação de acordo com o comportamento dos dados.

Observa-se que as curvas de crioscopia durante a hidrólise da lactose do leite de ambas as espécies foi semelhante, apesar dos diferentes valores de crioscopia. Os coeficientes de correlação para definir a ordem da reação em cada intervalo de tempo estão apresentados na Tabela 2.

Tabela 2. Coeficientes de correlação calculados nos diferentes intervalos de tempo nas reações de hidrólise de lactose de leite de ovelha e de leite de vaca.

Intervalos de tempo de reação	Coeficientes de correlação (R^2)					
	Ordem 0		1ª ordem		2ª ordem	
	Ovelha	Vaca	Ovelha	Vaca	Ovelha	Vaca
5 a 40 min (t1)	0,968	0,940	0,962	0,836	0,954	0,917
40 a 90 min (t2)	-	-	0,983	0,951	0,985	0,954
90 a 165 min (t3)	-	-	0,026	0,931	0,026	0,931

A hidrólise da lactose do leite de ovelha e de vaca apresentou o mesmo comportamento no início da reação (intervalo t1): ordem zero. Assim, em t1, todos os sítios ativos da enzima lactase encontravam-se ligados às moléculas de lactose, sendo a velocidade da reação independente da concentração de substrato. Como a reação estava iniciando, não havia produtos formados que pudessem inibir o andamento da hidrólise. A possibilidade de as reações nos intervalos t2 e t3 serem de ordem zero foi excluída pelo comportamento dos dados (Figura 1) mostrar diminuição da velocidade da reação, o que indica inibição enzimática.

Em t2, os valores de R^2 para reações de primeira ordem e segunda ordem apresentam-se semelhantes, deixando margens para a possibilidade das reações terem ocorrido em primeira ou segunda ordem. Desta maneira, a velocidade da reação pode ter sofrido alteração devido à diminuição na concentração de substrato (os sítios ativos da enzima não encontravam-se saturados de substrato, em uma reação de primeira ordem), pois uma parte da lactose já tinha sido hidrolisada no momento inicial. Pode haver ainda a inibição causada pelos produtos da reação, glicose e galactose (em uma reação de segunda ordem), pois a concentração destes produtos aumenta com o andamento da reação. Além disso, há a possibilidade da formação de lactooligossacarídeos, os quais podem inibir a reação de hidrólise ou mesmo mascarar a crioscopia medida.

De acordo com Santos et al. (1998) apud Martins e Burkert (2009), a partir do início da formação da galactose, esta irá competir com a lactose pelos sítios ativos da enzima, fazendo com que a cinética da reação responda a um modelo de inibição competitiva, ou de segunda ordem. Dermirhan et al. (2006), utilizando dados de lactose residual em função do tempo de processamento em diferentes condições de processo, chegaram a uma expressão cinética de segunda ordem. Assim, a reação de hidrólise em t2 provavelmente ocorreu em segunda ordem, com inibição causada pela galactose.

No final da reação (intervalo t3), o valor de R^2 para a reação em leite de ovelha, considerando primeira e segunda ordem, foi muito próximo de zero, não sendo possível ajustar um modelo de reação de qualquer ordem para este intervalo. Assim, a estabilidade da crioscopia demonstra que a hidrólise da lactose estabilizou a partir de 90 min. Para a reação em leite de vaca o valor de R^2 (0,931) indica que esta ocorreu em primeira ou segunda ordem.

A Tabela 3 apresenta a velocidade inicial das reações ocorridas em leite de ovelha e leite de vaca, assim como as constantes cinéticas para cada intervalo de tempo de reação segundo a ordem de reação obedecida. A velocidade inicial da reação foi aproximadamente 60% maior no leite de ovelha, porém no intervalo t1, a constante cinética para a reação em leite de vaca é aproximadamente 29% superior à constante na reação em leite de ovelha. Em t2, a constante cinética volta a ser maior no leite de ovelha: 52% considerando reação de primeira ordem e 42% considerando reação de segunda ordem. No intervalo t3, a constante cinética da reação para leite de vaca é aproximadamente 80% menor do que a constante em t2, para reação de primeira e segunda ordem. Cabe ressaltar que as

diferenças por porcentagem vão se tornando menos significativas com o avanço dos intervalos de reação, uma vez que as constantes cinéticas vão diminuindo com o avanço da hidrólise.

Tabela 3. Velocidade inicial da reação e constantes cinéticas nos intervalos de tempo para leite de vaca e leite de ovelha.

Intervalos de tempo de reação	Velocidade inicial ($^{\circ}\text{Hmin}^{-1}$)		Constantes cinéticas					
			ordem 0		1ª ordem (min^{-1})		2ª ordem ($\text{mol}^{-1}.\text{min}^{-1}$)	
	Ovelha	Vaca	Ovelha	Vaca	Ovelha	Vaca	Ovelha	Vaca
0 a 5 min	0,02420	0,01460	-	-	-	-	-	-
5 a 40 min (t1)	-	-	0,00390	0,00500	-	-	-	-
40 a 90 min (t2)	-	-	-	-	0,00167	0,00110	0,00193	0,00136
90 a 165 min (t3)	-	-	-	-	-	0,00023	-	0,00027

Para ilustrar a variação da velocidade das reações e neutralizar o efeito da diferença de crioscopia inicial, a Figura 2 apresenta a porcentagem de hidrólise da lactose ao longo do tempo para leite de ovelha e leite de vaca.

É possível perceber que o ponto de congelamento do leite de ovelha obteve uma variação maior nos primeiros minutos da reação, conforme a velocidade inicial apresentada na Tabela 3. Essa diferença diminui no intervalo de tempo t1, já que a cinética da reação para o leite de vaca foi maior, e voltou a acontecer no intervalo t2, devido ao maior valor de constante cinética para o leite de ovelha.

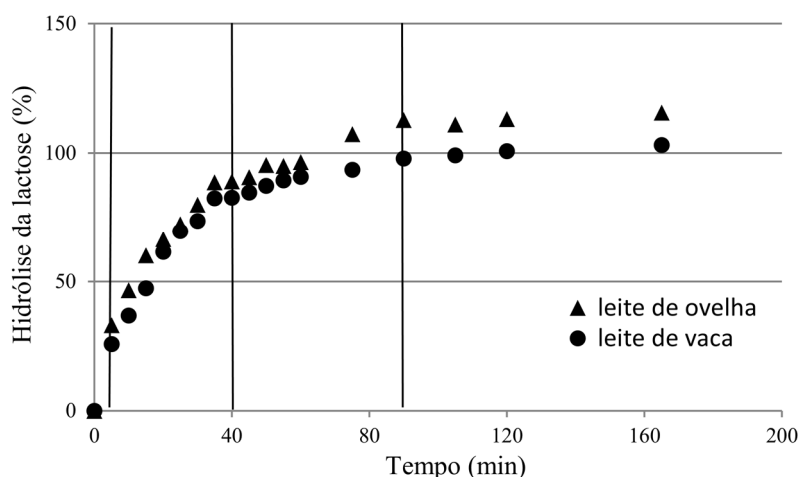


Figura 2. Porcentagem de hidrólise de lactose em leite de ovelha e leite de vaca em função do tempo de reação.

No final de t2 e em t3, a variação da crioscopia no leite de ovelha foi maior do que nos demais intervalos, e a hidrólise atingiu valores superiores a 100%, o que não ocorreu no leite de vaca. Isso indica que a fórmula de correlação de variação de crioscopia em porcentagem de hidrólise aplicada ao leite de vaca pode não ser adequada para leite de ovelha, ou este tipo de leite é mais susceptível à formação de galacto-oligossacarídeos durante a reação de hidrólise de lactose. De acordo com Mahoney (1998) a hidrólise enzimática da lactose pode produzir, por reações de transgalactosidação, galacto-oligossacarídeos, que são compostos de 2 a 30 moléculas de galactose e 1 molécula de glicose

(OTIENO, 2010). Sendo compostos de alto peso molecular, a formação de galacto-oligosacarídeos pode alterar a crioscopia do leite submetido à hidrólise de lactose.

A fórmula de correlação também não leva em conta o teor de lactose inicial do leite, já que quanto maior o teor de lactose, maior será a variação da crioscopia. O leite de ovelha apresentou 0,19% mais lactose que o leite de vaca (Tabela 1) o que pode ter influenciado o comportamento da crioscopia.

4. CONCLUSÃO

A hidrólise enzimática da lactose no leite de vaca e de ovelha foi semelhante, e o comportamento do índice crioscópico foi semelhante em ambos os produtos.

A hidrólise da lactose de leite de vaca e de ovelha foi de ordem zero no intervalo inicial, sendo independente da concentração de lactose até 40 min de reação.

Após 40 minutos a hidrólise da lactose ocorreu em segunda ordem, e a partir de 90 min do início da reação, não foi possível ajustar um modelo para a hidrólise no leite de ovelha, indicando que a reação não mais aconteceu, enquanto no leite de vaca ocorreu reação de primeira ou segunda ordem.

A variação do índice crioscópico durante a reação de hidrólise foi maior no leite de ovelha. Desta maneira, a equação de correlação de variação de índice crioscópico e porcentagem de hidrólise de lactose utilizada no presente trabalho e aplicada a leite de vaca não é adequada para estimar este parâmetro em leite de ovelha. Esta variação maior na crioscopia do leite de ovelha explica os maiores valores de constante cinética no tempo inicial da reação e no intervalo de 40 a 90 min.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AURICCHIO, S; TRONCONE, R. Genetically determined disaccharidase deficiencies. In: WALKER, W.A.; DURIE, P.; HAMILTON, J.R.; WALKER-SMITH, J.A.; WATKINS, J.B. (Eds), Pediatric gastrointestinal disease. Ontario: BC Decker Inc., 2000. p. 677-700.

BENCINI, R. Factors affecting the clotting properties of sheep milk. Journal of the Science of Food and Agriculture, v. 82, p. 705-719 2002.

BRASIL, Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Portaria n. 29, de 13 de janeiro de 1998. Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade de Alimentos para Fins Especiais, Brasília, 1998. Disponível em: http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/2a1d950047458eca97dbd73fbc4c6735/PORTARIA_29_1998.pdf?MOD=AJPERES. Acesso em 20 out. 2012.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa N° 62, de 29 de dezembro de 2011, Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite Cru Refrigerado, Brasília, 2011. Disponível em: <http://sistemasweb.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=consultarLegislacaoFederal>. Acesso em 13 abr. 2013.

BULHÕES, A.C.; GOLDANI, H.A.S.; OLIVEIRA, F.S.; MATTE, U.S.; MAZZUCA, R.B.; SILVEIRA, T.R. Correlation between lactose absorption and the C/T-13910 and G/A-22018 mutations of the lactase-phlorizin hydrolase (LCT) gene in adult-type hypolactasia. Brazilian Journal of Medical and Biological Research, v. 40, p.1441-1446, 2007.

BVSMS, Biblioteca Virtual em Saúde do Ministério da Saúde. Intolerância à lactose. In: Dicas em Saúde. 2005. Disponível em: <http://bvsms.saude.gov.br/bvs/dicas/88lactose.html>. Acesso em 25 out. 2012.

BRITO, M.A., GONZÁLEZ, F.D., RIBEIRO, L.A., CAMPOS, R., LACERDA, L., BARBOSA, P.R., BERGMAN, G. Composição do sangue e do leite em ovinos leiteiros do sul do Brasil: variações na gestação e na lactação. *Ciência Rural*, Santa Maria, 36(3), 942 – 948, 2006.

DEMIRHAN, E.; APAR, D.K; ÖZBEK, B. A modelling study on hydrolysis of whey lactose and stability of β -galactosidase. *Korean Journal of Chemical, Engineering*, v. 27, n. 2, p. 536-545, MARCH 2010.

FAOSTAT - FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS Livestock Primary, 2010. Disponível em: <http://faostat3.fao.org/home/index.html#DOWNLOAD>. Acesso em 13 out. 2012.

FAVA, L.W.; Caracterização físico-química do leite de leite de ovelhas da raça lacaune e análise do rendimento da coalhada com caracterização física do soro obtido. 2012. Dissertação (mestrado) – Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 73p.

GONZALEZ, H.L., FISCHER, V.; RIBEIRO, M.E.R.; GOMES, J.F.; STUMPF JR, WALDYR, SILVA, M.A.. Avaliação da qualidade do leite na bacia leiteira de Pelotas, RS. Efeito dos meses do ano. *R. Bras. Zootec.*, v.33, n.6, p. 1531-1543, 2004.

JANDAL, J. M. Comparative aspects of goat and sheep milk. *Small Ruminant Research*, v.22, n.2, p.177-185, 1996.

LEVENSPIEL, Ocatve. Engenharia das reações químicas. 3. ed. São Paulo: Edgard Blücher, 2000.

LOMER, M.C.E.; PARKES, G.C.; SANDERSON, J.D. Review article: lactose intolerance in clinical practice – myths and realities. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*, v. 27, p. 93-103, 2008.

MAHONEY, R. R. Galactosyl-oligosaccharide formation during lactose hydrolysis: a review. *Food Chemistry*, Oxford, v. 63, n. 2, p. 147-154, 1998.

MAHONEY, R. R. Modification of lactose and lactose-containing dairy products with β -galactosidase. In: FOX, P. F. *Developments in dairy chemistry*. London: Elsevier, 1985. p. 69-107.

MARTINS, A.R.; BURKERT, C.A.V. Galacto-oligossacarídeos (GOS) e seus efeitos prebióticos e bifidogênicos. *Brazilian Journal of Food Technology*, v. 12, n. 3, p. 230-240, jul/set. 2009.

MATTAR, R.; MAZO, D. F. C. Intolerância à lactose: mudança de paradigmas com a biologia molecular. *Revista da Associação Médica Brasileira*, v. 56, n. 2, São Paulo, 2010.

MOLIK, E.; MURAWSKI, M.; BONCZAR, G.; WIERCHOS, E. Effect of genotype on yield and chemical composition of sheep milk. *Animal Science Papers and Reports*, v. 26, n. 3, p. 211-218, 2008.

MOREIRA, K.M.M., COELHO, L.H.; PERINI, C.C.; RAPACCI, M.; KARAM, L.B..Produção de doce de leite com teor reduzido de lactose por β -galactosidase. Revista Acadêmica Ciências Agrárias e Ambientais, Curitiba, v. 7, n. 4, p. 375-382, out./dez. 2009.

MORIWAKI, C; MATIOLI, G; Influência de β -galactosidase na tecnologia do leite e má digestão de lactose. Arquivos de Ciência da Saúde Unipar, v. 4, n.3, p. 283-290, set-dez 2000.

OLIVEIRA, D.S.; TIMM, C.D. Composição do leite com instabilidade à caseína. Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas, v. 26 n. 2 p. 259-253, abr.-jun.2006.

OTIENO, D.O. Synthesis of β -Galactooligosaccharides from Lactose Using Microbial β -Galactosidases. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety. Vol. 9, p, 471-482, 2010.

PROZYN . Prozyn lactase. São Paulo, 2007. 5p. Informação técnica.

SANTOS, A.; LADERO, M.; GARCÍA-OCHOA, F. Kinetic modeling of lactose hydrolysis by a β -galactosidase from *Kluyveromyces fragilis*. Enzyme and Microbial Technology, Oxford, v. 22, n. 7, p. 558-567, 1998.

SOLOMONS, N.W.; GUERRRO, A.M.; TORUN, B. Effective in vivo hydrolysis of milk lactose by beta-galactosidases in the presence of solid foods. The American Journal of clinical Nutrition, v. 41, p. 222-227, Feb. 1985.

TURNER, S.J.; DALY, T.; HOURIGAN J.A.; RAND, A.G.; THAYER, W.R. Utilization of a low lactose milk. The American Journal of Clinical Nutrition, v. 29, p. 739-744, July 1979.

VESA, T.H.; MARTEAU, P.; KORPELA, R. Lactose Intolerance. Journal of the American College of Nutrition, v. 19, n. 2, p. 165S-175S, 2000.