



Alan Mario Zuffo
(Organizador)

**A produção
do Conhecimento
nas Ciências
Agrárias e Ambientais 3**

Atena
Editora

Ano 2019

Alan Mario Zuffo
(Organizador)

**A produção do Conhecimento nas Ciências
Agrárias e Ambientais**
3

Atena Editora
2019

2019 by Atena Editora

Copyright © da Atena Editora

Editora Chefe: Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira

Diagramação e Edição de Arte: Lorena Prestes e Geraldo Alves

Revisão: Os autores

Conselho Editorial

- Prof. Dr. Alan Mario Zuffo – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
Prof. Dr. Álvaro Augusto de Borba Barreto – Universidade Federal de Pelotas
Prof. Dr. Antonio Carlos Frasson – Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Prof. Dr. Antonio Isidro-Filho – Universidade de Brasília
Profª Drª Cristina Gaio – Universidade de Lisboa
Prof. Dr. Constantino Ribeiro de Oliveira Junior – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Drª Daiane Garabeli Trojan – Universidade Norte do Paraná
Prof. Dr. Darllan Collins da Cunha e Silva – Universidade Estadual Paulista
Profª Drª Deusilene Souza Vieira Dall’Acqua – Universidade Federal de Rondônia
Prof. Dr. Eloi Rufato Junior – Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Prof. Dr. Fábio Steiner – Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul
Prof. Dr. Gianfábio Pimentel Franco – Universidade Federal de Santa Maria
Prof. Dr. Gilmei Fleck – Universidade Estadual do Oeste do Paraná
Profª Drª Girlene Santos de Souza – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
Profª Drª Ivone Goulart Lopes – Istituto Internazionele delle Figlie de Maria Ausiliatrice
Profª Drª Juliane Sant’Ana Bento – Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Prof. Dr. Julio Candido de Meirelles Junior – Universidade Federal Fluminense
Prof. Dr. Jorge González Aguilera – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
Profª Drª Lina Maria Gonçalves – Universidade Federal do Tocantins
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte
Profª Drª Paola Andressa Scortegagna – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Drª Raissa Rachel Salustriano da Silva Matos – Universidade Federal do Maranhão
Prof. Dr. Ronilson Freitas de Souza – Universidade do Estado do Pará
Prof. Dr. Takeshy Tachizawa – Faculdade de Campo Limpo Paulista
Prof. Dr. Urandi João Rodrigues Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará
Prof. Dr. Valdemar Antonio Paffaro Junior – Universidade Federal de Alfenas
Profª Drª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande
Profª Drª Vanessa Lima Gonçalves – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Prof. Dr. Willian Douglas Guilherme – Universidade Federal do Tocantins

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) (eDOC BRASIL, Belo Horizonte/MG)

P964 A produção do conhecimento nas ciências agrárias e ambientais 3
[recurso eletrônico] / Organizador Alan Mario Zuffo. – Ponta
Grossa (PR): Atena Editora, 2019. – (A Produção do
Conhecimento nas Ciências Agrárias e Ambientais; v. 3)

Formato: PDF

Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader

Modo de acesso: World Wide Web

Inclui bibliografia

ISBN 978-85-7247-286-9

DOI 10.22533/at.ed.869192604

1. Agronomia – Pesquisa – Brasil. 2. Meio ambiente – Pesquisa –
Brasil. I. Zuffo, Alan Mario. II. Série.

CDD 630

Elaborado por Maurício Amormino Júnior – CRB6/2422

O conteúdo dos artigos e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de
responsabilidade exclusiva dos autores.

2019

Permitido o download da obra e o compartilhamento desde que sejam atribuídos créditos aos
autores, mas sem a possibilidade de alterá-la de nenhuma forma ou utilizá-la para fins comerciais.

www.atenaeditora.com.br

APRESENTAÇÃO

A obra “A produção do Conhecimento nas Ciências Agrárias e Ambientais” aborda uma série de livros de publicação da Atena Editora, em seu III volume, apresenta, em seus 28 capítulos, com conhecimentos científicos nas áreas agrárias e ambientais.

Os conhecimentos nas ciências estão em constante avanços. E, as áreas das ciências agrárias e ambientais são importantes para garantir a produtividade das culturas de forma sustentável. O desenvolvimento econômico sustentável é conseguido por meio de novos conhecimentos tecnológicos. Esses campos de conhecimento são importantes no âmbito das pesquisas científicas atuais, gerando uma crescente demanda por profissionais atuantes nessas áreas.

Para alimentar as futuras gerações são necessários que aumente à quantidade da produção de alimentos, bem como a intensificação sustentável da produção de acordo como o uso mais eficiente dos recursos existentes na biodiversidade.

Este volume dedicado às áreas de conhecimento nas ciências agrárias e ambientais. As transformações tecnológicas dessas áreas são possíveis devido o aprimoramento constante, com base na produção de novos conhecimentos científicos.

Aos autores dos diversos capítulos, pela dedicação e esforços sem limites, que viabilizaram esta obra que retrata os recentes avanços científicos e tecnológicos, os agradecimentos do Organizador e da Atena Editora.

Por fim, esperamos que este livro possa colaborar e instigar mais estudantes, pesquisadores e entusiastas na constante busca de novas tecnologias para as ciências agrárias e ambientais, assim, garantir perspectivas de solução para a produção de alimentos para as futuras gerações de forma sustentável.

Alan Mario Zuffo

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1	1
ECONOMIC VIABILITY OF A CITRUS PRODUCTION UNIT IN THE CITY OF LIBERATO SALZANO IN RIO GRANDE DO SUL STATE, BRAZIL	
<i>Paulo de Tarso Lima Teixeira</i> <i>Luis Pedro Hillesheim</i>	
DOI 10.22533/at.ed.8691926041	
CAPÍTULO 2	9
EDUCAÇÃO AMBIENTAL E A FORMAÇÃO DE EDUCADORES AMBIENTAIS: OFICINAS E QUESTIONÁRIOS	
<i>Ananda Helena Nunes Cunha</i> <i>Eliana Paula Fernandes Brasil</i> <i>Thayná Rodrigues Mota</i>	
DOI 10.22533/at.ed.8691926042	
CAPÍTULO 3	18
EFEITO DA CO-INOCULAÇÃO ASSOCIADA A DIFERENTES DOSES DE ADUBAÇÃO NITROGENADA NO CRESCIMENTO VEGETATIVO DO FEIJOEIRO	
<i>Laís Gertrudes Fontana Silva</i> <i>Jairo Câmara de Souza</i> <i>Bianca de Barros</i> <i>Hellysa Gabryella Rubin Felberg</i> <i>Marta Cristina Teixeira Leite</i> <i>Robson Ferreira de Almeida</i> <i>Evandro Chaves de Oliveira</i>	
DOI 10.22533/at.ed.8691926043	
CAPÍTULO 4	26
EFEITO DA FARINHA DE BABAÇU NAS CARACTERÍSTICA FÍSICO-QUÍMICAS E SENSORIAS DO BISCOITO SEQUILHO	
<i>Eloneida Aparecida Camili</i> <i>Priscila Copini</i> <i>Thais Hernandez</i> <i>Luciane Yuri Yoshiara</i> <i>Priscila Becker Siquiera</i>	
DOI 10.22533/at.ed.8691926044	
CAPÍTULO 5	39
EFEITO DE DOSES DE ADUBAÇÃO NK SOBRE CRESCIMENTO VEGETATIVO E FRUTIFICAÇÃO DE PINHEIRA EM DIFERENTES ÉPOCAS DO ANO NO SUDOESTE DA BAHIA	
<i>Ivan Vilas Bôas Souza</i> <i>Abel Rebouças São José</i> <i>John Silva Porto</i> <i>José Carlson Gusmão da Silva</i> <i>Bismark Lopes Bahia</i> <i>Danielle Suene de Jesus Nolasco</i>	
DOI 10.22533/at.ed.8691926045	

CAPÍTULO 6	60
EFFECT OF SOIL NUTRIENTS ON POLYPHENOL COMPOSITION OF JABUTICABA WINE	
<i>Danielle Mitze Muller Franco</i>	
<i>Gustavo Amorim Santos</i>	
<i>Luciane Dias Pereira</i>	
<i>Pedro Henrique Ferri</i>	
<i>Suzana da Costa Santos</i>	
DOI 10.22533/at.ed.8691926046	
CAPÍTULO 7	75
EFICIÊNCIA DE QUITINAS DE CAMARÕES MARINHOS E DE ÁGUA DOCE NA ADSORÇÃO DE NH ₄ ⁺ DE EFLUENTES AQUÍCOLAS SINTÉTICOS	
<i>Fernanda Bernardi</i>	
<i>Izabel Volkweis Zadinelo</i>	
<i>Luana Cagol</i>	
<i>Helton José Alves</i>	
<i>Lilian Dena dos Santos</i>	
DOI 10.22533/at.ed.8691926047	
CAPÍTULO 8	80
ELABORAÇÃO DA TABELA NUTRICIONAL DE ACEROLAS PRODUZIDAS EM SISTEMA DE AGRICULTURA FAMILIAR NA REGIÃO DE ITARARÉ – SÃO PAULO	
<i>Rafaela Rocha Cavallin</i>	
<i>Júlia Nunes Júlio</i>	
<i>Gisele Kirchbaner Contini</i>	
<i>Fabielli Priscila Oliveira</i>	
<i>Carolina Tomaz Rosa</i>	
<i>Juliana Dordetto</i>	
<i>Katielle Rosalva Voncik Córdova</i>	
DOI 10.22533/at.ed.8691926048	
CAPÍTULO 9	90
ELABORAÇÃO E AVALIAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E SENSORIAL DE BOLO DE FUBÁ ELABORADO COM ÓLEO DE POLPA DE ABACATE <i>Persea americana</i>	
<i>Vinícius Lopes Lessa</i>	
<i>Maria Clara Coutinho Macedo</i>	
<i>Aline Cristina Arruda Gonçalves</i>	
<i>Christiano Vieira Pires</i>	
DOI 10.22533/at.ed.8691926049	
CAPÍTULO 10	102
ESPÉCIES DO SUBGÊNERO <i>Decaloba</i> (<i>Passiflora</i> , <i>Passifloraceae</i>) COMO FONTES DE RESISTÊNCIA AO ATAQUE DE LAGARTAS	
<i>Tamara Esteves Ferreira</i>	
<i>Fábio Gelape Faleiro</i>	
<i>Jamile Silva Oliveira</i>	
<i>Alexandre Specht</i>	
DOI 10.22533/at.ed.86919260410	

CAPÍTULO 11 116

ESPECTROSCOPIA DE REFLECTÂNCIA NO INFRAVERMELHO PROXIMAL (NIRS)
NA ANÁLISE DA COMPOSIÇÃO BROMATOLÓGICA DO CAPIM MARANDU

Rosemary Laís Galati
Jefferson Darlan Costa Braga
Alessandra Schaphauser Rosseto Fonseca
Lilian Chambó Rondena Pesqueira Silva
Edimar Barbosa de Oliveira

DOI 10.22533/at.ed.86919260411

CAPÍTULO 12 127

ESTUDO COMPARATIVO DOS EFEITOS DA DEXMEDETOMIDINA E XILAZINA EM
BOVINOS SUBMETIDOS A LAVADO BRONCOSCÓPICO

Desiree Vera Pontarolo
Sharlenne Leite da Silva Monteiro
Heloisa Godoi Bertagnon
Alessandra Mayer Coelho
Bruna Artner
Natalí Regina Schllemer

DOI 10.22533/at.ed.86919260412

CAPÍTULO 13 136

ESTUDO DA DORMÊNCIA TEGUMENTAR EM SEMENTES DE *Schinopsis brasiliensis*
Engl

Ailton Batista Oliveira Junior
Aderlaine Carla de Jesus Costa
Matheus Oliva Tolentino
Sabrina Gonçalves Vieira de Castro
Ronaldo dos Reis Farias
Luiz Henrique Arimura Figueiredo
Cristiane Alves Fogaça

DOI 10.22533/at.ed.86919260413

CAPÍTULO 14 143

ESTUDO DA EFICIÊNCIA ENERGÉTICA DOS MATERIAIS UTILIZADOS NA
CONSTRUÇÃO DE MORADIAS RURAIS

Felipo Lovatto
Rodrigo Couto Santos
Rafael Zucca
Juliano Lovatto
Rodrigo Aparecido Jordan

DOI 10.22533/at.ed.86919260414

CAPÍTULO 15 149

ESTUDO DA MELHOR EFICIÊNCIA PRODUTIVA PROPORCIONADA PELO USO
DE ÍNDICE DE CONFORTO AMBIENTAL ADEQUADO

Mauricio Battilani
Rodrigo Couto Santos
Ana Paula Cassaro Favarim
Juliano Lovatto
Luciano Oliveira Geisenhoff
Rafaela Silva Cesca

DOI 10.22533/at.ed.86919260415

CAPÍTULO 16 155

ESTUDO DA PRODUÇÃO DO PORTA-ENXERTO DE CITROS DA COMUNIDADE SANTA LUZIA DO INDUÁ, CAPITÃO POÇO/PA

Letícia do Socorro Cunha
Luane Laíse Oliveira Ribeiro
Lucila Elizabeth Fragozo Monfort
Wanderson Cunha Pereira
Felipe Cunha do Rego
Francisco Rodrigo Cunha do Rego
Paulo Henrique Amaral Araújo de Sousa

DOI 10.22533/at.ed.86919260416

CAPÍTULO 17 163

EXTRAÇÃO VIA ULTRASSOM DA BETA-GALACTOSIDASE DE *Saccharomyces fragilis* IZ 275 CULTIVADA EM SORO COM POTENCIAL PARA HIDRÓLISE DA LACTOSE

Ariane Bachega
Ana Caroline Iglecias Setti
Alessandra Bosso
Samuel Guemra
Hélio Hiroshi Suguimoto
Luiz Rodrigo Ito Morioka

DOI 10.22533/at.ed.86919260417

CAPÍTULO 18 174

FERTIRRIGAÇÃO DE BERTALHA (*Basella alba* L.) CULTIVADA SOB MANEJO ORGÂNICO UTILIZANDO ÁGUA RESIDUÁRIA DE BOVINOCULTURA DE LEITE

Rafaela Silva Correa
Tadeu Augusto van Tol de Castro
Rafael Gomes da Mota Gonçalves
Erinaldo Gomes Pereira
Leonardo Duarte Batista da Silva

DOI 10.22533/at.ed.86919260418

CAPÍTULO 19 188

GENÔMICA COMO FERRAMENTA PARA GESTÃO PESQUEIRA?

Daiane Machado Souza
Suzane Fonseca Freitas
Welinton Schröder Reinke
Rodrigo Ribeiro Bezerra de Oliveira
Paulo Leonardo Silva Oliveira
Deivid Luan Roloff Retzlaff
Luana Lemes Mendes
Heden Luiz Maques Moreira
Carla Giovane Ávila Moreira
Rafael Aldrighi Tavares
Juvêncio Luis Osório Fernandes Pouey

DOI 10.22533/at.ed.86919260419

CAPÍTULO 20 194

GEOQUÍMICA AMBIENTAL APLICADA NA AVALIAÇÃO DOS SOLOS DE UM
ATERRO SANITÁRIO DESATIVADO NO MUNICÍPIO DE LAGES-SC

Vitor Rodolfo Becegato
Valter Antonio Becegato
Indianara Fernanda Barcarolli
Gilmar Conte
Camila Angélica Baum
Lais Lavnitcki
Alexandre Tadeu Paulino

DOI 10.22533/at.ed.86919260420

CAPÍTULO 21 212

GEOTECNOLOGIAS LIVRES E GRATUITAS NA AVALIAÇÃO DA IMPLANTAÇÃO
DE SISTEMA DE DRENAGEM URBANA SUSTENTÁVEL

Guilherme Henrique Cavazzana
Daniel Pache Silva
Fernanda Pereira Pinto
Fernando Jorge Corrêa Magalhães Filho
Vinícius de Oliveira Ribeiro

DOI 10.22533/at.ed.86919260421

CAPÍTULO 22 228

GERMINAÇÃO DE SEMENTES E DESENVOLVIMENTO PÓS-SEMINAL DE
Peltophorum dubium SPRENG. CULTIVADAS EM DIFERENTES SUBSTRATOS

Elisa Regina da Silva
Kelly Nery Bighi
Ingridh Medeiros Simões
Maricélia Moreira dos Santos
José Carlos Lopes
Rodrigo Sobreira Alexandre

DOI 10.22533/at.ed.86919260422

CAPÍTULO 23 236

GERMINAÇÃO *IN VITRO* DE GRÃOS DE PÓLEN DE PITAIA SUBMETIDOS A
DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE ÁCIDO BÓRICO

Nathália Vállery Tostes
Miriã Cristina Pereira Fagundes
José Darlan Ramos
Verônica Andrade dos Santos
Letícia Gabriela Ferreira de Almeida
Fábio Oseias dos Reis Silva
José Carlos Moraes Rufini
Alexandre Dias da Silva
Iago Reinaldo Cometti
Renata Amato Moreira

DOI 10.22533/at.ed.86919260423

CAPÍTULO 24	242
IDENTIFICAÇÃO DE NÍVEIS DE RESISTÊNCIA AO NEMATOIDE DE CISTO EM LINHAGENS DE SOJA	
<i>Antônio Sérgio de Souza</i>	
<i>Rafaela Lanusse de Bessa Lima</i>	
<i>Pedro Ivo Vieira Good</i>	
<i>Vinicius Ribeiro Faria</i>	
DOI 10.22533/at.ed.86919260424	
CAPÍTULO 25	247
IDENTIFICAÇÃO DO EFEITO CORROSIVO DA PRESENÇA DE H ₂ S NO BIOGÁS DESTINADO A GERAÇÃO DISTRIBUÍDA	
<i>Yuri Ferruzzi</i>	
<i>Samuel Nelson Melegari de Souza</i>	
<i>Estor Gnoatto</i>	
<i>Dirceu de Melo</i>	
<i>Alberto Noboru Miyadaira</i>	
DOI 10.22533/at.ed.86919260425	
CAPÍTULO 26	253
INCERTEZAS NA DEFINIÇÃO DA DISTRIBUIÇÃO DE PROBABILIDADE PARA A OBTENÇÃO DA CHUVA DE PROJETO	
<i>Viviane Rodrigues Dorneles</i>	
<i>Rita de Cássia Fraga Damé</i>	
<i>Claudia Fernanda Almeida Teixeira-Gandra</i>	
<i>Marcia Aparecida Simonete</i>	
<i>Letícia Burkert Mélo</i>	
<i>Patrick Moraes Veber</i>	
<i>Maria Clotilde Carré Chagas Neta</i>	
DOI 10.22533/at.ed.86919260426	
CAPÍTULO 27	260
INFLUÊNCIA DA PRESSÃO NO PROCESSO DE ULTRAFILTRAÇÃO DO SORO DE LEITE	
<i>Aline Brum Argenta</i>	
<i>Matheus Lavado dos Santos</i>	
<i>Alessandro Nogueira</i>	
<i>Agnes de Paula Scheer</i>	
DOI 10.22533/at.ed.86919260427	
CAPÍTULO 28	270
INFLUÊNCIA DO ETIL-TRINEXAPAC NAS CARACTERÍSTICAS AGRONÔMICAS DO ARROZ DE TERRAS ALTAS IRRIGADO POR ASPERSÃO	
<i>Juliana Trindade Martins</i>	
<i>Orivaldo Arf</i>	
<i>Eduardo Henrique Marcandalli Boleta</i>	
<i>Flávia Constantino Meirelles</i>	
<i>Anne Caroline da Rocha Silva</i>	
<i>Flávia Mendes dos Santos Lourenço</i>	
DOI 10.22533/at.ed.86919260428	
SOBRE O ORGANIZADOR	281

EXTRAÇÃO VIA ULTRASSOM DA BETA-GALACTOSIDASE DE *Saccharomyces fragilis* IZ 275 CULTIVADA EM SORO COM POTENCIAL PARA HIDRÓLISE DA LACTOSE

Ariane Bachega

Universidade Pitágoras Unopar, Mestrado em
Ciência e Tecnologia de Leite e Derivados,
Londrina - Paraná

Ana Caroline Iglecias Setti

Universidade Pitágoras Unopar, Mestrado em
Ciência e Tecnologia de Leite e Derivados,
Londrina - Paraná

Alessandra Bosso

Universidade Pitágoras Unopar, Mestrado em
Ciência e Tecnologia de Leite e Derivados,
Londrina - Paraná

Samuel Guemra

Universidade Pitágoras Unopar, Mestrado em
Ciência e Tecnologia de Leite e Derivados,
Londrina - Paraná

Hélio Hiroshi Suguimoto

Universidade Pitágoras Unopar, Mestrado em
Ciência e Tecnologia de Leite e Derivados,
Londrina - Paraná

Luiz Rodrigo Ito Morioka

Universidade Pitágoras Unopar, Mestrado em
Ciência e Tecnologia de Leite e Derivados,
Londrina - Paraná

galactosidase de *Saccharomyces fragilis* IZ 275 cultivada em soro de queijo por ultrassom através da metodologia de superfície de resposta. Foi realizada a fermentação utilizando a levedura *Saccharomyces fragilis* IZ 275 em soro de queijo *in natura*, as condições de cultivo foram 35°C, 150 rpm e 24 horas de fermentação. Em seguida foi realizado o processo de extração por ondas ultrassônicas utilizando 40 mL do meio de fermentação seguindo delineamento estatístico Box-Benheken com 9 corridas, tendo como variáveis independentes e níveis o tempo (3, 6 e 9 minutos) e potência (75, 223 e 372 w/cm²). Após a extração a suspensão celular foi centrifugada a 3500 rpm, 4°C por 20 minutos. Em seguida 1 e 10% (v/v) do sobrenadante contendo a enzima extraída foi adicionado em 10 mL de solução de lactose 5% (p/v), incubadas em estufa a 37°C por 2 horas. Após 2 horas, as amostras foram aquecidas a 95°C durante 10 minutos para a inativação da atividade enzimática. A determinação da atividade enzimática foi através da quantificação da glicose produzida via hidrólise da lactose pela beta-galactosidase, sendo realizada pelo método glicose-oxidase. Baseado no delineamento de Box-Benhenk a máxima hidrólise com 1% de enzima foi no ensaio 9 com 5,66% nas condições de extração de 9 minutos e potência de 372 w/cm². A máxima hidrólise com 10% de enzima foi o ensaio 7 com 66,47%,

RESUMO: A beta-galactosidase tem por função a hidrólise da lactose em dois monossacarídeos, glicose e galactose, possíveis de serem metabolizados por indivíduos com intolerância à lactose. O objetivo do trabalho foi verificar a condição de extração da enzima beta-

nas condições de 3 minutos e potência de 372 w/cm² de extração.

PALAVRAS-CHAVE: Hidrólise, enzima, beta-galactosidade, ultrassom

ABSTRACT: Beta-galactose functions as the hydrolysis of lactose in two monosaccharides, glucose and galactose, which can be metabolised by individuals with lactose intolerance. The objective of this work was to verify the extraction condition of the enzyme beta-galactosidase from *Saccharomyces fragilis* IZ 275 cultured in cheese serum by ultrasound using the response surface methodology. The fermentation was carried out using *Saccharomyces fragilis* IZ 275 yeast in fresh cheese serum, culture conditions were 35 ° C, 150 rpm and 24 hours fermentation. Then, the ultrasonic wave extraction process was performed using 40 mL of the fermentation medium followed by a 9-race Box-Benheken statistical design, with independent variables and time (3, 6 and 9 minutes) and power (75, 223 and 372 w / cm²). After extraction the cell suspension was centrifuged at 3500 rpm, 4 ° C for 20 minutes. Then 1 and 10% (v / v) of the supernatant containing the extracted enzyme was added in 10 mL of 5% (w / v) lactose solution, incubated in an oven at 37 ° C for 2 hours. After 2 hours, the samples were heated at 95 ° C for 10 minutes to inactivate the enzymatic activity. The determination of the enzymatic activity was through the quantification of the glucose produced by hydrolysis of lactose by beta-galactosidase, being carried out by the glucose oxidase method. Based on the Box-Benhken design the maximum hydrolysis with 1% of enzyme was in assay 9 with 5.66% in the extraction conditions of 9 minutes and power of 372 w / cm². The maximum hydrolysis with 10% of enzyme was assay 7 with 66.47%, in the conditions of 3 minutes and power of 372 w / cm² of extraction.

KEYWORDS: Hydrolysis, enzyme, beta-galactosidase, ultrasound

1 | INTRODUÇÃO

A beta-galactosidase tem despertado grande interesse industrial tendo em vista a alta incidência de intolerância à lactose pela população. Estima-se que 70% da população mundial são acometidas pela intolerância à lactose (LULE et al., 2016), uma deficiência total ou parcial na produção da enzima beta-galactosidase (MATTAR et al., 2010), que causa sintomas como dores e inchaços abdominais, náuseas, flatulência e diarreia (SAVAIANO; BOUSHEY; MCCABE, 2006).

A beta-galactosidase também conhecida como lactase, é responsável pela hidrólise da lactose (MATTHEWS, 2005). São produzidas principalmente por microrganismos, dentre eles bactérias, leveduras e fungos filamentosos, que são geralmente reconhecidos como seguros (GRAS) para o consumo (OLIVEIRA et al., 2011; SAQIB et al., 2017). A importância da beta-galactosidase está na sua utilização na indústria de alimentos, especialmente em laticínios (LUKITO et al., 2015), tendo como principal aplicação a hidrólise da lactose de produtos lácteos com a formação dos monossacarídeos, glicose e galactose, produzindo lácteos com teores menores

de lactose, permitindo que os acometidos pela intolerância possam consumi-los. Outra aplicação da beta-galactosidase é a síntese de oligossacarídeos a partir da glicose e galactose, tais como glicooligossacarídeos e galactooligossacarídeos, respectivamente, que são importantes prebióticos (TOMAL et al., 2010; HSU; YU; CHOU, 2005; HUSAIN, 2010).

A *Saccharomyces fragilis* é uma levedura que tem a capacidade de assimilar a lactose como açúcar e utiliza-la como fonte de carbono (COLOGNESI et al., 2017), devido a presença do gene Lac Z.

A enzima beta-galactosidase quando obtida por *Saccharomyces fragilis* é intracelular. Assim, para acessarmos a enzima é necessário que haja o rompimento celular, sem causar a desnaturação da enzima (SANTIAGO et al., 2004). A parede celular pode ser parcialmente ou totalmente rompida, para assim permitir que a enzima seja liberada para o meio extracelular (PESSOA; KILIKIAN, 2005).

A extração de compostos bioativos intracelulares como a enzima beta-galactosidase pode ser realizado por métodos mecânicos (moinho de esferas, homogeneizador de alta pressão e ultrassom) e não mecânico (eletroporação, química e enzimática) (LIU et al., 2016).

Diante desse contexto, o objetivo do trabalho foi verificar a condição de extração da enzima beta-galactosidase por ultrassom através da metodologia de superfície de resposta.

2 | MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram realizados na Universidade Pitágoras Unopar, Londrina, PR, nos laboratórios do programa de Mestrado em Ciência e Tecnologia de Leite e Derivados.

2.1 Soro de queijo

O soro de queijo foi a base para o meio de cultivo da levedura. O soro de queijo foi desproteinizado através de filtrações em fluxo tangencial em membranas específicas. A concentração do soro de queijo foi pré-estabelecida de acordo com o experimento. A desproteinização do soro de queijo foi realizada através de filtrações em fluxo tangencial. Inicialmente o soro de queijo foi microfiltrado em unidade de membrana de filtração em fluxo tangencial com porosidade de 0,22 μm (TIA – Tecnologia Industrial Aplicada Ltda, Brasil), para a retirada das sujidades e de microrganismos residuais. Em seguida o permeado foi ultrafiltrado em unidade de membrana de filtração em fluxo tangencial com porosidade de 20 KDa (TIA – Tecnologia Industrial Aplicada Ltda, Brasil) para separação das proteínas do soro de queijo. As proteínas do soro de queijo foram coletadas e armazenadas sob refrigeração. O permeado que é constituído de água, sais minerais e lactose será a base para os meios de cultivos da levedura.

2.2 Microorganismo e inóculo

Para a fermentação foi utilizada a levedura *Saccharomyces fragilis* IZ 275 obtida da Fundação André Tosello – Coleção de Culturas Tropicais (CCT), mantidas em tubos de ensaio contendo PDA (Potato Dextrose Ágar, Acumedia®, Brasil) inclinado a 4°C.

Para ativação das leveduras foram transferidas três alçadas de colônias de leveduras em Erlenmeyer 250 mL contendo 100mL de extrato de malte (15 g/L) e extrato de levedura (0,5 g/L) em pH 5,0 previamente esterilizado por 15 minutos a 121°C e incubado em agitador orbital (TECNAL®, TE-420, Brasil) a 150 rpm, 35°C por 24h. Sendo que o inóculo foi padronizado a uma D.O. (densidade óptica) igual a 0,6.

2.3 Condições de Cultivo

A *Saccharomyces fragilis* IZ 275 foi cultivada em soro de queijo desproteínizado com uma concentração inicial de 5% (p/v), com pH 5,0 e 5% (v/v) de inóculo, a 35°C, 150 rpm, durante 18-24 horas. Ao final da fermentação a cultura foi centrifugada para a obtenção da biomassa e do sobrenadante que serão utilizados para a padronização da atividade enzimática.

2.4 Determinação da atividade enzimática via hidrólise da lactose

Para a hidrólise da lactose foi utilizado a enzima beta-galactosidase obtida da extração das células da levedura a fim de determinar a atividade enzimática através da quebra da lactose em glicose e galactose. Para avaliação da atividade enzimática foi empregado o método das velocidades iniciais. Em um erlenmeyer de 125 mL com 50 mL de solução de lactose 5% (p/v) em pH 6,5 foi acondicionado em um banho-maria a 37°C. O nível de água do banho deve ser superior ao nível do conteúdo nos tubos. Foi adicionado 5 a 10% (v/v) da enzima extraída na solução de lactose 5% (p/v), durante 2 horas de incubação. Após este tempo de hidrólise, amostras de 2 mL foram retiradas e colocadas em tubos de ensaio com tampa e levado a água fervente por 10 minutos para inativação da enzima. A glicose foi quantificada pelo método da glicose-oxidase, utilizando-se o kit de determinação da glicose pelo método enzimático-colorimétrico (Bioliquid, Brasil) de acordo com as orientações do fabricante, como mostra a Tabela 1. As amostras foram feitas em triplicatas.

	Branco	Teste	Padrão
Amostra	----	10 µL	----
Padrão	----	----	10 µL
Reagente de cor	1000 µL	1000 µL	1000 µL

Tabela 1. Teste para a atividade enzimática.

Dessa forma, para o cálculo da concentração de glicose (mg/dL) será utilizado a seguinte equação:

$$\text{Glicose (mg / dL)} = \frac{\text{AbsAmostras}}{\text{abspadrão}} \times 100$$

Equação 1.

Onde:

Abs Amostra = Absorvância da amostra

Abs padrão = Absorvância do padrão de glicose (100 mg/mL)

A unidade da atividade enzimática (U) pode ser definida como micromoles de glicose produzida por hora a 37°C, pH 6,5 e concentração inicial de lactose (5%).

A porcentagem de hidrólise será calculada de acordo com a equação 2:

$$\text{Hidrólise} = (\text{CG} \times 2 \div 1000) \div \text{LI} \times 100 \quad \text{Equação 2.}$$

Onde:

% de hidrólise = Porcentagem de hidrólise de lactose.

CG = Concentração de Glicose da amostra.

LI = Concentração de Lactose Inicial.

2.5 Determinação da condição para a extração por ultrassom

Após a fermentação, amostras de 40 mL da cultura serão coletadas para a execução do experimento conforme mostra a Tabela 1. As amostras serão colocadas no equipamento de ultrassom (Unique - DES500, Brasil) para que haja o rompimento celular e conseqüente extração da beta-galactosidase. Após a amostra será centrifugada a 3500 rpm, 10 minutos sob refrigeração. O sobrenadante será coletado e a biomassa descartada. O sobrenadante será utilizado para a determinação da atividade enzimática via hidrólise da lactose.

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

A verificação das condições para a extração da enzima beta-galactosidase por ultrassom foi realizada a fim de encontrar os valores ótimos para as variáveis independentes testadas, potência (w/cm^2) e tempo (minutos), a fim de obter uma maior porcentagem de hidrólise da lactose.

De acordo com os resultados preliminares através da análise do delineamento estatístico de Box-Benken, observou-se que entre as variáveis e os níveis testados

a porcentagem de hidrólise da lactose 5% (p/v) variou de 0,74 a 5,66% de hidrólise, utilizando 1% de enzima extraída. A maior porcentagem de hidrólise da lactose de 5,66 % foi na condição de 372 w/cm² por 9 minutos.

Corridas	Potência (w/cm ²)	Tempo (minutos)	Porcentagem de hidrólise da lactose (%)	
			1% de enzima extraída	10% de enzima extraída
1	-1	-1	2,33	28,09
2	-1	0	0,74	22,67
3	-1	1	1,28	51,14
4	0	-1	1,37	66,19
5	0	0	1,48	44,17
6	0	1	1,32	23,05
7	1	-1	2,26	66,47
8	1	0	1,56	56,19
9	1	1	5,66	52,38

Níveis	X ₁	X ₂
	Potência	Tempo
	(w/cm ²)	(minutos)
- 1	75	3
0	223	6
1	372	9

Tabela 1. Matriz do delineamento de Box-Benhken para condição de extração da beta-galactosidase de *Saccharomyces fragilis* IZ 275.

O efeito de cada variável testada na atividade enzimática via hidrólise da lactose com 1% de enzima extraída, pode ser observado na Figura 1. Todas as variáveis testadas apresentaram efeito linear positivo não significativo ($p > 0,05$), isto significa que, dentro dos níveis das variáveis testadas, ao passar do nível -1 (menor nível) para o nível +1 (maior nível), pode haver um aumento na hidrólise da lactose pela beta-galactosidase extraída. Neste sentido, entre as variáveis testadas, a potência (w/cm²) apresentou o maior efeito sobre a hidrólise da lactose do que o tempo (minutos). A interação linear 1L/2L (potência/tempo) apresentou um elevado efeito linear positivo não significativo em relação à variação da resposta.

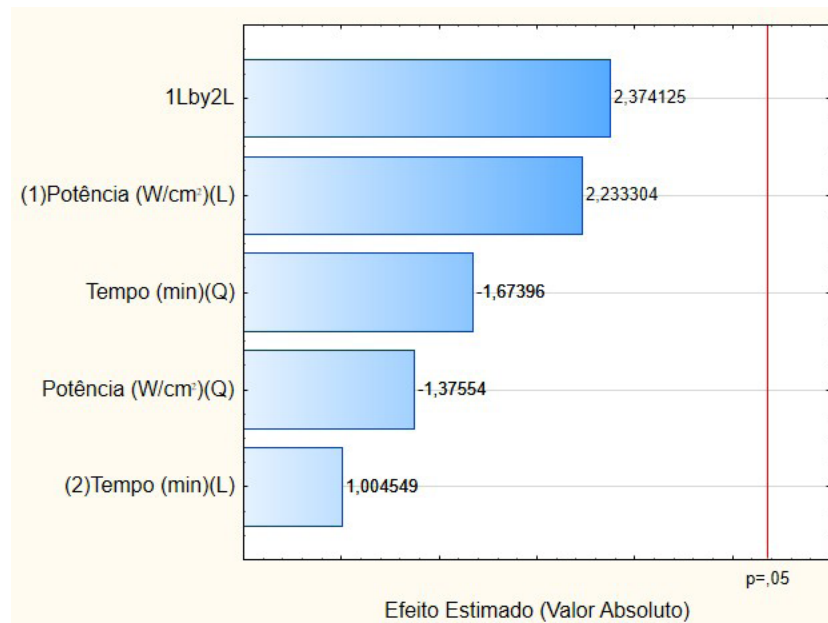


Figura 1. Estimativa dos efeitos para potência (w/cm^2) e tempo (minutos) para a extração enzimática através do delineamento de Box- Benhken na hidrólise com 1% de extrato enzimático.

A metodologia de superfície de resposta utilizada para definir a condição para a extração da beta-galactosidase de *Saccharomyces fragilis* IZ 275 é mostrada na Figura 2. De acordo com os resultados obtidos, para a porcentagem de hidrólise da lactose com 1% de enzima, o coeficiente de determinação R^2 foi de 0,84482 que significa 84,48% da variação da resposta é explicada pelo modelo do delineamento escolhido, sendo este valor aceitável para sistemas biológicos.

A Figura 2 mostra a superfície de resposta para 1% de enzima extraída sobre a hidrólise da lactose de modo que a potência acima de $300 w/cm^2$ com um tempo acima de 9 minutos apresentam valores acima de 5% de hidrólise da lactose. Segundo Sarvazyan (1983), os efeitos da ação do ultrassom são dependentes de fatores físicos, como intensidade e tempo de exposição e influenciam no resultado do processo.

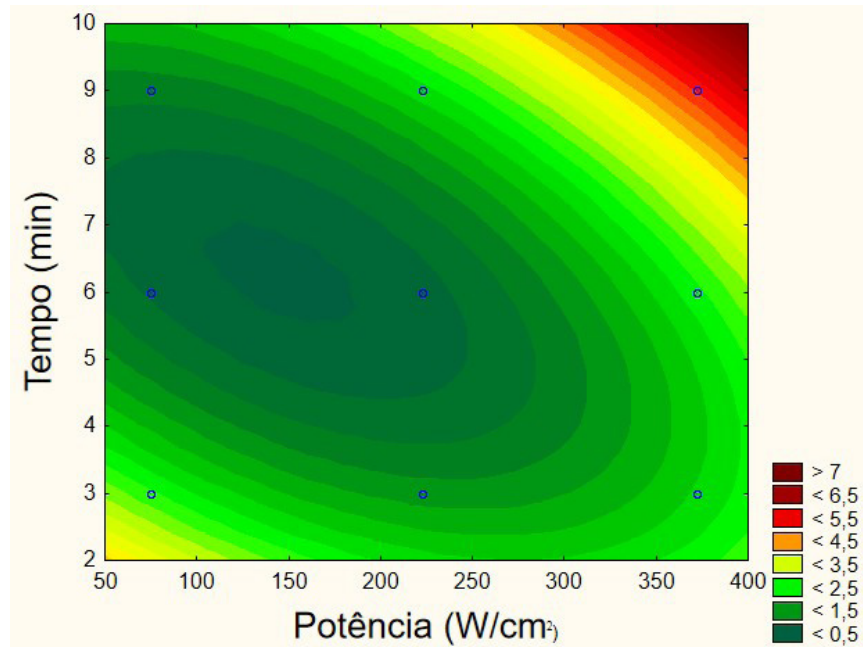


Figura 2. Superfície de resposta para a hidrólise da lactose com 1% de enzima extraída de *Saccharomyces fragilis* IZ 275.

Já com 10% de enzima extraída, a porcentagem de hidrólise da lactose variou de 22,67 a 66,47%. A condição estabelecida com 66,47% de hidrólise foi 372 w/cm² por 3 minutos.

Observou-se, na Figura 3, o efeito de cada variável testada na atividade enzimática via hidrólise da lactose com 10% de enzima extraída. As variáveis testadas apresentaram efeito não significativo ($p > 0,05$), sendo a variável potência (w/cm²) apresentou um efeito linear positivo, e o tempo (minutos) um efeito linear negativo, significando que, dentro dos níveis das variáveis potência, ao passar do nível -1 (menor nível) para o nível +1 (maior nível), a hidrólise da lactose pela beta-galactosidase extraída poderia aumentar e na variável tempo, ao passar do nível -1 (menor nível) para o nível +1 (maior nível) a hidrólise poderia diminuir. Neste caso, a potência (w/cm²) apresentou um efeito benéfico sobre a hidrólise da lactose em contrapartida o tempo não. A interação linear 1L/2L (potência/tempo) apresentou um elevado efeito linear negativo não significativo em relação à variação da resposta.

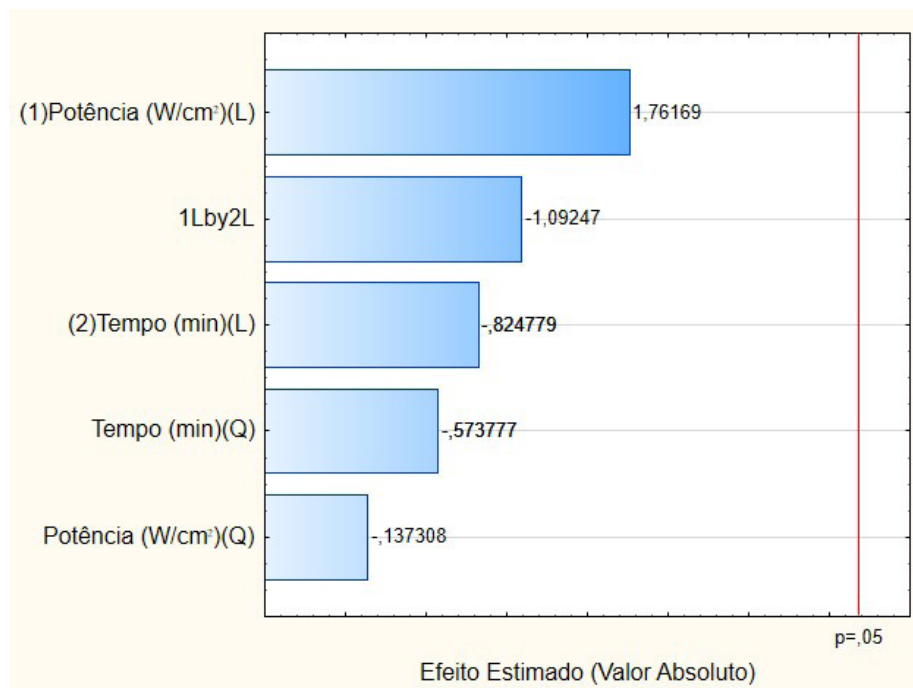


Figura 3. Estimativa dos efeitos para potência (w/cm^2) e tempo (minutos) para a extração enzimática através do delineamento de Box- Benhken na hidrólise com 10% de extrato enzimático.

Para definir a condição para a extração da beta-galactosidase de *Saccharomyces fragilis* IZ 275 analisou-se a superfície de resposta, representada na Figura 4. Observa-se que, para a porcentagem de hidrólise da lactose com 10% de enzima, o coeficiente de determinação R^2 foi de 0,63959 significando que 63,95% da variação da resposta é explicada pelo modelo do delineamento escolhido, sendo este valor aceitável para sistemas biológicos.

A Figura 4 apresenta a superfície de resposta para 10% de enzima extraída sobre hidrólise da lactose de modo que a potência acima de $300 w/cm^2$ com um tempo menor que 6 minutos apresentam valores acima de 66% de hidrólise da lactose.

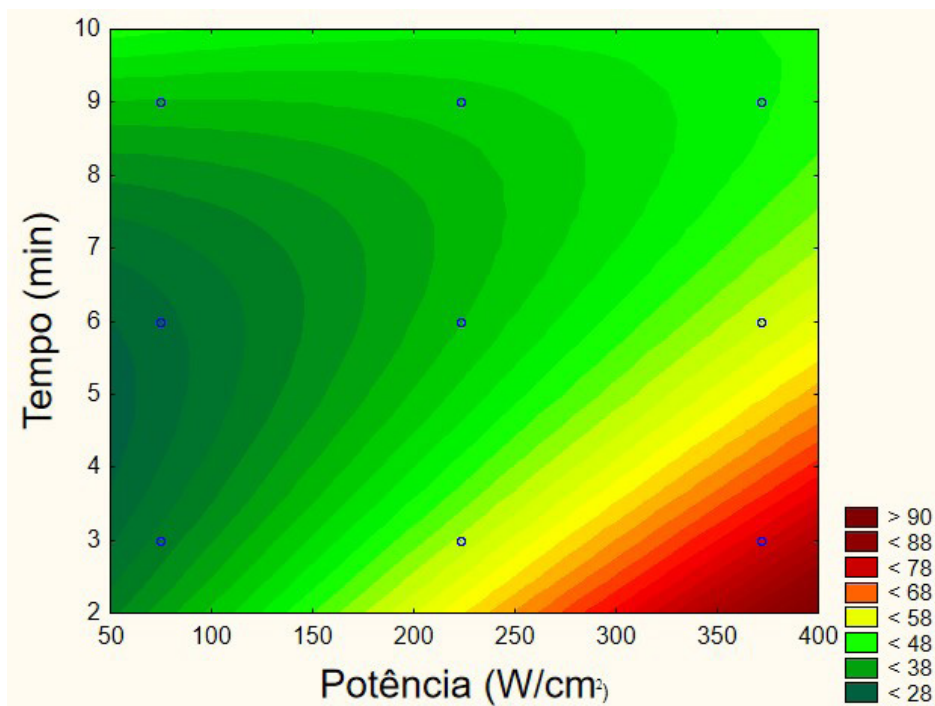


Figura 4. Superfície de resposta para a hidrólise da lactose com 10% de enzima extraída de *Saccharomyces fragilis* IZ 275.

4 | CONCLUSÃO

Com base no modelo Box-Benhken, a hidrólise máxima com 1% de enzima foi no ensaio 9 com 5,66% em condições de extração de 9 minutos e potência de 372 w/cm². A hidrólise máxima com 10% de enzima foi no ensaio 7 com 66,47%, sob condições de 3 minutos e potência de 372 w/cm² de extração.

Analisando-se as figuras de superfície e resposta para os ensaios com 1% e 10% sugere-se uma alteração na potência (w/cm²) e no tempo (minutos), conforme sugerido pelos gráficos, para que os novos valores das variáveis independentes tenham um efeito positivo sobre a hidrólise da lactose.

REFERÊNCIAS

- COLOGNESI, G. O. S; PEDRINHO, R. D; GARCIA, S; MORIOKA, L R. I; SUGUIMOTO, H. H. Fermentation of deproteinized cheese whey by *Saccharomyces fragilis* IZ 275 for ethanol production on pilot scale. **African Journal of Biotechnology**, v. 16, n. 42, p. 2043-2049, 2017.
- HSU, C. A.; YU, R. C.; CHOU, C. Production of betagalactosidase by *Bifidobacteria* as influenced by various culture conditions. **International Journal Food Microbiology**, v. 104, p. 197– 206, 2005.
- HUSAIN, Q. B -Galactosidases and their potential applications: A review. **Critical Reviews in Biotechnology**, v. 30, n.1, p. 41 – 62, 2010.
- LIU, D.; L.; SUN, J.; VOROBIEV, E. Yeast cell disruption strategies for recovery of intracellular bio-active compounds -A review. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 36, p. 181-192, 2016.

LUKITO W; MALIK S. G; SURONO I. S.; WAHLQVIST M. L. From 'lactose intolerance' to 'lactose nutrition'. **Asia Pacific Journal Clinical Nutrition**, v. 24, p. S1– S8, 2015.

LULE, V. K.; GARG, S.; TOMAR, S. K.; KHEDKAR, C. D.; NALAGE, D. N. Food Intolerance: Lactose Intolerance. **Encyclopedia of Food and Health**, p. 43-48, 2016.

MATTAR, R.; MAZO, D. F. C. Intolerância a lactose: mudança de paradigmas com a biologia molecular. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 56, n. 12, p. 250-256, 2010.

MATTHEWS, B.W. The structure of E. coli β -galactosidase. **Competes Rendus Biologies**, v. 328, n. 6, p. 549-56, 2005.

OLIVEIRA, C.; GUIMARÃES, P. M.; DOMINGUES, L. Recombinant microbial systems for improved b-galactosidase production and bio-technological applications. **Biotechnology Advances**, v. 29, n. 6, p. 600 – 609, 2011.

PESSOA, A. JR.; KILIKIAN, B. V. **Purificação de produtos biotecnológicos**. Editora Manole, 2005.

SANTIAGO, P. A. et al. Estudo da produção de β -galactosidase por fermentação de soro de queijo com *Kluyveromyces marxianus*. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 24, p. 567-572, 2004.

SAVAIANO, D. A.; BOUSHEY, C.J.; MCCABE, G.P. Lactose Intolerance Symptoms Assessed by Meta-Analysis: A Grain of Truth That Leads to Exaggeration. **American Society for Nutrition**, p. 1107-113, 2006.

SARVAZYAN, A. P. Some general problems action of ultrasound. **IEEE Transactions on Sonica and Ultrasonic**, v. 30, n. 1, p. 2-12, 1983.

SHAIMA SAQIB, S.; ATTIYA AKRAM, A.; HALIM, A. S.; Tassaduq, R. Sources of b-galactosidase and its applications in food industry. **Biotechnology**, p. 1-7(79), 2017.

TOMAL, A. A. B.; CUNHA, M. E. T.; BOSSO, A.; YOUSSEF, E. Y.; SUGUIMOTO, H. H. Avanços tecnológicos na obtenção, purificação e identificação de galactooligossacarídeos e estudo de suas propriedades prebióticas. **Científica, Ciências biológicas e da saúde**, v. 12, n. 4, p. 41-49, 2010.

SOBRE O ORGANIZADOR

Alan Mario Zuffo - Engenheiro Agrônomo (Universidade do Estado de Mato Grosso – UNEMAT/2010), Mestre em Agronomia – Produção Vegetal (Universidade Federal do Piauí – UFPI/2013), Doutor em Agronomia – Produção Vegetal (Universidade Federal de Lavras – UFLA/2016). Atualmente, é professor visitante na Universidade Federal do Mato Grosso do Sul – UFMS no Campus Chapadão do Sul. Tem experiência na área de Agronomia – Agricultura, com ênfase em fisiologia das plantas cultivadas e manejo da fertilidade do solo, atuando principalmente nas culturas de soja, milho, feijão, arroz, milheto, sorgo, plantas de cobertura e integração lavoura pecuária. E-mail para contato: alan_zuffo@hotmail.com

Agência Brasileira do ISBN
ISBN 978-85-7247-286-9

