# PROJETO DE UM REATOR EM BATELADA PARA PRODUÇÃO DE LEITE SEM LACTOSE UTILIZANDO A ENZIMA β – GALACTOSIDASE

**AUTOR** 

**Geovanna Cristina DE AZEVEDO** 

Discente do Curso de Engenharia Química – UNILAGO

Gleyce Teixeira Correia DOS SANTOS

Marilia Gonçalves CATTELAN

Docente do Curso de Engenharia Química - UNILAGO

**RESUMO** 

A lactose é um carboidrato, mais conhecido como o acúcar presente no leite, muito importante em valores nutritivos para a saúde humana. Algumas pessoas possuem a intolerância a lactose, que consiste em uma deficiência em que o organismo não conseque produzir ou produz em pequenas quantidades a enzima lactase (β-galactosidase) responsável pela hidrólise da lactose em glicose e galactose. A lactose passa pelo intestino delgado, não digerida pela ausência da lactase, onde as bactérias fermentam e produzem ácidos orgânicos de cadeia curta e gases, resultando em dores, flatulência e diarreia. Para isso, foi desenvolvido métodos para remover essa lactose presente no leite, adicionando ao processo de produção de leite, uma enzima proveniente do microrganismo Kluyveromyces fragilis, durante um tempo médio de reação de 3,5 horas e temperatura e pH ótimos de 40°C e 6,5 respectivamente. Com esse propósito, foi desenvolvido um reator de batelada para que ocorra a reação de fermentação. O reator em batelada é utilizado em processos de pequenas escalas, como em teste de novos produtos. De modo geral, os reagentes são adicionados de uma só vez no reator e deixados por um tempo ótimo de reação até a retirada do produto final. A partir do balanco de massa do reator e a cinética enzimática de Michaelis-Menten, desenvolveu-se modelos matemáticos para executar simulações em programas de software e o dimensionamento para construção de um reator em batelada de bancada para fins didáticos, com um volume de 5L.

PALAVRAS - CHAVE

Leite, reator, lactose, enzima, batelada.

## 1. INTRODUÇÃO

Apesar da queda econômica em diversos setores, devido a pandemia ao COVID-19 que se iniciou em 2020 no país, a produção de leite teve um aumento de 2,8%, 734,08 milhões de litros a mais que no ano de 2019. No Brasil, a produção de leite em 2019 foi de 34,84 bilhões de litros de leite, sendo produzido em praticamente todo território nacional. Já no ano de 2020, no estado de São Paulo, houve uma produção de 2,728 bilhões de litros, equivalente a 10,7% da produção nacional. O estado de Minas Gerais foi o maior produtor de leite, aproximadamente 6,509 bilhões de litros, sendo 25,5% da produção total do Brasil (EMBRAPA, 2021).

A produção de queijo no Brasil em 2020, utilizou mais de 8,7 bilhões de litros de leite, sendo 2,8% a mais que no ano de 2019. Segundo a Embrapa (2021), a importação de queijo aumentou em 11,3%, aproximadamente a 334 milhões de litros, vindo principalmente da Argentina e Uruguai. As exportações aumentaram de 34 para 42 milhões de litros. No geral, a produção de leite apresenta um avanço em relação a um ano com pandemia do COVID-19 (EMBRAPA, 2021).

O leite possui diversos componentes nutritivos, é uma fonte de proteínas de alto valor biológico para o ser humano, principalmente para as crianças, no entanto muitas pessoas desenvolvem a intolerância a lactose ao longo da vida (SILVA; MOLITOR; ALEXANDRE, 2019).

Buscando atender este público, a indústria alimentícia tem desenvolvido uma produção de leite de baixo teor de lactose ou zero lactose. O Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), publicou um Normativo nº 62 de 29 de dezembro de 2011, tendo em vista melhorias na qualidade do leite, sendo no manejo, no armazenamento e na contagem padrão das placas de microrganismos dos leites tipo A cru e pasteurizado para a produção desse tipo de leite (PEREIRA 2017 *apud.* SILVA; MOLITOR; ALEXANDRE, 2019).

A lactose é o açúcar do leite, um dissacarídeo formado por moléculas de glicose e galactose em uma ligação β (1,4). Corresponde a 52% dos sólidos gordurosos do leite, 70% do soro e 90% dos sólidos presentes no leite ultrafiltrado (PERRONE, *et al.* 2016 *apud.* RIBEIRO; CUBO; SALEM, 2019). O principal carboidrato da alimentação infantil é a lactose, e com o passar dos anos, as pessoas passam a consumir menos leite, que faz com que o organismo de algumas pessoas produza menos lactase, na maioria dos casos acabam desenvolvendo a intolerância a lactose. Por sua vez, organismo produz em menor quantidade a enzima responsável pela hidrólise da lactose, (FRIEDRICH, 2013 *apud* SILVA; MOLITOR; ALEXANDRE, 2019), que ocasionalmente será fermentada no intestino delgado pelos microrganismos ali presente, gerando ácido láctico, metano (CH<sub>4</sub>) e hidrogênio (H<sub>2</sub>) ((BARBOSA, 2011 *apud* SILVA; MOLITOR; ALEXANDRE, 2019), causando dores abdominais, gases e diarreia (PORTO et al., 2005 *apud* SILVA; MOLITOR; ALEXANDRE, 2019).

Geralmente, em produções de pequenas escalas e testes industriais é utilizado o Reator em Batelada, onde o processo é feito em "lotes", em que os reagentes são adicionados instantaneamente. O tempo ótimo de reação é aguardado e, então, o produto obtido é recuperado (SCHMAL, 2010). O uso de reatores de bancada é uma importante ferramenta de estudo na busca de novas tecnologias que poderão vir a ser escalonadas para a indústria, tais reatores tornam o processo mais didático, de fácil compreensão de funcionamento, podendo ser utilizado para determinação de parâmetros importantes, como tempo de reação, por exemplo. Estes reatores podem ser utilizados como uma ferramenta didática no ensino prático, facilitando o aprendizado da teoria a respeito equipamentos e processos estudados, facilitando a visualização e aumentando a qualidade do ensino (DE MELO & DUTRA, 2021).

O presente trabalho teve como objetivo o desenvolvimento do projeto de um reator em batelada, para produção de leite com baixo teor de lactose, a ser utilizado futuramente como ferramenta didática.

#### 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 2.1 LACTOSE

A lactose é um carboidrato presente no leite dos mamíferos, um dissacarídeo que possui a forma molecular  $C_{12}H_{22}O_{11}$  e de nomenclatura, segundo a IUPAC, 4-O- $\beta$ -D-galacto-piranosil- $\alpha$ -D-glucopiranose. É constituída de dois monossacarídeos  $\alpha$ -D-glicose e  $\beta$ -D-galactose, através de uma ligação glicosídica  $\beta$  (1,4) de desidratação conforme a Figura 1.

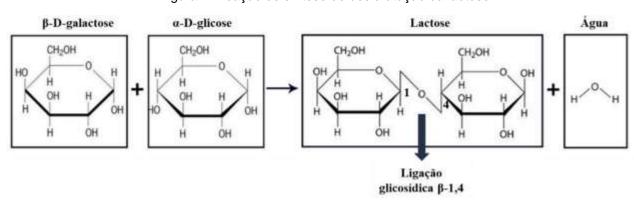


Figura 1: Reação de síntese de desidratação da lactose.

Fonte: BIRNER, 2004 apud LUPINO, 2021.

Com o desenvolvimento de novas tecnologias, as indústrias passaram a utilizar a hidrolise da lactose como uma alternativa para o consumo de produtos lácteos por aqueles que possuem a intolerância a esse carboidrato e, consequentemente uma otimização do processo, diminuindo a cristalização e aumento do poder adoçante. Essa cristalização se dá pelo fato de a lactose ser dez vezes menos solúvel que a sacarose, por exemplo, ocasionando problemas nas indústrias de laticínios (FISHER, 2010 *apud* LUPINO, 2021).

A intolerância a lactose é uma deficiência no organismo que não produz ou produz em baixa quantidade a enzima lactase (β-galactosidase), responsável pela hidrólise da lactose. A lactose passa pelo intestino delgado, não digerida pela ausência da lactase, onde as bactérias fermentam e produzem ácidos orgânicos de cadeia curta e gases, resultando em dores, flatulência e diarreia (TÉO, 2002 *apud.* RIBEIRO; CUBO; SALEM, 2019). É importante ressaltar que a intolerância a lactose é diferente da alergia a lactose, sendo alergia a proteínas do leite, onde a pessoa que possui só poderá consumir o leite de origem vegetal.

Segundo Fisher (2010), existem dois métodos utilizados pela indústria para a hidrólise da lactose, ácido e o enzimático. O ácido é constituído por reações rápidas de ácidos fortes diluídos (sulfúrico e clorídrico) a temperaturas entre 100 e 150°C e pH entre 1 e 2, o que pode ocasionar desnaturação das proteínas, alteração no sabor e formação de produtos indesejados, sendo pouco utilizado pela indústria. No entanto, o método enzimático é o mais utilizado, visto que não é necessário o tratamento da enzima antes do uso no processo. Para tal, é empregada a enzima β-galactosidase, conhecida como lactase, com pH e temperaturas mais moderadas entre 30 e 40°C, o que não possibilita alterações dos compostos do leite.

## 2.2 ENZIMA β-GALACTOSIDASE

As enzimas são catalisadores biológicos, de alta velocidade, muito específicas, que atuam em pH, temperatura e pressão mais amenas. Além disso, sintetizam na própria célula, tendo como resultado um produto mais limpo (BORZANI et al., 2001; MOFFAT et al., 1994 apud LUPINO, 2021).

Segundo Borzani et al. (2001), a velocidade da reação é explicada pela teoria das colisões, dito que para ocorrer a reação química, as moléculas colidem uma com as outras de forma apropriada, necessitando de uma energia mínima, para chegar ao estado de transição (estado reativo), tendo em vista é preciso uma quantidade de energia conhecida como energia de ativação, que vem a ser a barreira entre os reagentes e produtos. A velocidade da reação pode ser maior pelo aumento da concentração dos reagentes, aumento das colisões das moléculas ou a diminuição da energia de ativação. Conforme mostra a Figura 2, pode-se diminuir a energia de ativação com a presença de catalisadores, sem alterar a proporção entre reagentes e produtos e sem serem consumidos durante o processo.

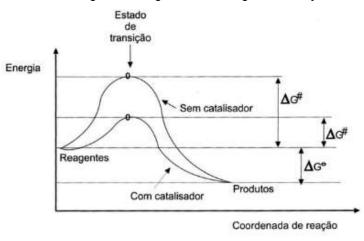


Figura 2: Diagrama de energia de ativação.

Fonte: BORZANI et. al., 2001.

A enzima β-galactosidase é uma proteína responsável pela catálise da reação de hidrólise da lactose em β-D-galactose e α-D-glicose (ANDRADE, 2005; OLIVEIRA, 2005; WANG *et al.*, 2010; FALLEIROS, 2012 *apud* CARIAS, 2018). Essa enzima de grande importância na indústria, no setor de laticínios, é utilizada para evitar que ocorra a cristalização da lactose, para alterar lácteos para a produção de derivados do leite e também, para fabricar alimentos para pessoas intolerantes a lactose (FELLOWS, 2006; BON et al., 2008 *apud* CARIAS, 2018).

Segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), resolução nº 53/2014, a β-galactosidase pode ser encontrada na natureza, isolada através de origem vegetal em pêssegos e amêndoas, no intestino e cérebro de animais e produzida por microrganismos como *Kluyveromyces lactis* que possuem pH ótimo de 6-7 e temperatura ótima de 35°C , *Kluyveromyces fragilis*, com temperatura e pH ótimos de 40°C e 6,5 respectivamente, e *Aspergillus niger*, *Aspergillus oryzae* com temperatura ótima de 50°C e pH ótimo de 4,8, e podem ser consumidos pelo ser humano.

A enzima β-galactosidase pode ser aplicada na sua forma livre em processos em batelada ou na sua forma imobilizada em processos contínuos. Na forma imobilizada, é possível a reutilização da enzima no processo possibilitando um menor custo de produção e mantém a enzima com maior estabilidade (LÓPEZ-GALLEGO *et al.*, 2005 *apud* LUPINO, 2021).

# 2.3 PRODUÇÃO DE LEITE ZERO LACTOSE

A produção de leite se inicia na ordenha do gado de leite em propriedades rurais, sendo posteriormente armazenado em tanques com agitação mecânica a uma temperatura entre 3 e 4°C para inibir a multiplicação dos microrganismos presentes no leite até que sejam recolhidos e transportados por caminhões para os laticínios,

conforme a Instrução Normativa nº 62 do MAPA. Esses tanques geralmente são feitos de aço inoxidável, principal material utilizado nas indústrias de alimentos, pois são mais resistentes a corrosão. Em seguida, o leite é destinado as suas respectivas operações dentro da indústria, de acordo com o produto final (VIDAL & NETTO, 2018).

O leite cru é recepcionado e adicionado a ele as enzimas, sendo elas livres ou imobilizadas que são mantidas a um controle de temperatura e um tempo específico de reação para determinada enzima utilizada. Após esse tempo, o leite já hidrolisado é direcionado a próximas operações unitárias de purificação biotecnológica, até o momento do envase para comercialização (VIDAL & NETTO, 2018).

Ordenha Refrigeração 4°C Adição de enzima 3 a 4 horas Recepção do leite cru 30 a 50° C (depende da enzima utilizada) Filtração Refrigeração Clarificação e/ou padronização Desnatado/semidesnatado/padronizado Homogeinização Pasteurização 73 a 75°C 15 a 20s **Tratamento UAT** 130 a 150 °C 2 a 4s Resfriamento Envase 32°C

Fluxograma 1: Produção de leite zero lactose.

Fonte: Autoria própria, 2022.

#### 2.4 REATOR EM BATELADA

Uma das classificações dos reatores é em relação ao número de fases, sendo homogêneo os sistemas de única fase e heterogêneo aqueles com duas ou mais fases. Também são classificados quanto ao modo de operação (contínuo/descontínuo), abrangendo os três principais reatores ideais: Reator em Batelada ou Descontínuo (BSTR – Batch Stirred Tank Reactor), Reator de Mistura Completa (CSTR – Contínuos-Stirred Tank Reactor) e o Reator Tubular ou Reator de Fluxo Pistonado (PFR – Plug Flow Reactor) (LEVENSPIEL, 2000).

O Reator em Batelada geralmente é utilizado em processos de pequena escala, em testes de novos produtos e processos, em fabricação de produtos de alto custo e quando a operação em processos contínuos possui uma dificuldade maior. De modo geral, o reator em batelada (Figura 3) é alimentado com todos os reagentes, deixados por um período de tempo de reação dentro do reator e o produto final é retirado ao final desse período. Por conta disso, possui uma alta conversão, obtida através dos longos períodos de tempo em que os reagentes podem ficar no reator. Possuem uma desvantagem em relação ao alto custo de operação e por não ser adequado para produções em larga escala (FOGLER, 2018).

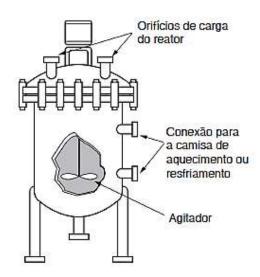


Figura 3: Reator homogêneo em batelada simples

Fonte: Fogler, 2018

O Balanço de Massa de um reator é representado pela equação 1 (FOGLER, 2018)

Eq. 1

No Balanço de Massa de um reator em batelada é considerado que não há entrada e nem saída de reagentes e produtos durante o processo, considerando apenas a taxa de acúmulo igual a taxa de consumo, assumindo a equação 2 (FOGLER, 2018)

$$\frac{dC_A}{dt} = -r_A$$
 Eq. 2

Onde Ca é a concentração do reagente, t é o tempo de reação e rA é a velocidade específica da reação.

Abordando uma reação enzimática, podemos adotar Michaelis e Menten, na equação 2, dada pela equação

3

$$r_A = \frac{kC_{enz}C_A}{K_m + C_A}$$
 Eq. 3

ou pela equação 4

$$\frac{dC_A}{dt} = -\frac{kC_{enz}C_A}{K_m + C_A}$$
 Eq. 4

#### 3. METODOLOGIA

#### 3.1 PROJETO

Foi adotado como parâmetro inicial proporcional a um reator de bancada, um volume (V) de reator equivalente a 5 L e utilizada a enzima β-galactosidase, proveniente do microrganismo *Kluyveromyces fragilis*, com temperatura ótima de 40°C e pH ótimo de 6,5. A Fração mássica de lactose (X<sub>AO</sub>) é de 0,042, a massa molar da lactose (MM<sub>a</sub>) é 342,3 g mol<sup>-1</sup> e a massa específica do leite (ρ) é igual a 1030 g L<sup>-1</sup> (VENTURINI *et al*, 2007). A concentração de lactose no leite é, em média, de 4,84% (MÜLLER, 2018), correspondente a concentração de 0,249 mol L<sup>-1</sup> de lactose inicial (C<sub>AO</sub>). Pode considerar isento de lactose concentrações abaixo de 100 g L<sup>-1</sup>, segundo Brasil (2020) ou adotando uma conversão de 97%, temos uma concentração molar desejada de 0,007 mol <sup>L-1</sup>. De acordo com Lupino (2021), a concentração média de β-galactosidase (C<sub>enz</sub>) utilizada pode ser de 5 mg L<sup>-1</sup> e um tempo médio de reação de 210 min.

Conforme a Tabela 1 pode ser visto os parâmetros cinéticos K e  $K_m$  da enzima proveniente do microrganismo citado anteriormente.

Tabela 1: Parâmetros cinéticos da enzima livre utilizada, sem inibição.

Parâmetro cinéticos	Sem inibição
k [mol/(mg enzima min)]	$4,9 \times 10^{-4}$
$K_M \text{ (mol/L)}$	$7,7 \times 10^{-2}$
$K_i  (\text{mol/L})$	

Fonte: SANTOS et. al., 1998.

Conforme visto anteriormente, partindo das equações 3 e 4, pode-se utilizar a equação de Michaelis-Menten em conjunto com a equação balanço de massa de batelada, formando uma equação diferencial ordinária (EDO) de primeira ordem (equação 5), para enzima livre sem inibição.

$$\begin{cases} \frac{dC_A}{dt} = -\frac{kC_{enz}C_A}{K_m + C_A} \\ C_A(t=0) = C_{A0} \end{cases}$$

Eq. 5

A partir da equação 5, há possibilidade de simular em programas de software, como o Scilab, para a resolução dos problemas, calculando a variáveis possibilidades e corrigindo os erros apresentados.

#### 3.2 DIMENSIONAMENTO DO REATOR

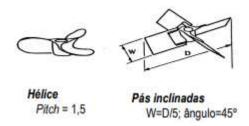
A entrada dos reagentes é de modo automatizado, em um erlenmeyer contendo uma bomba que direciona os reagentes até o reator, fazendo com que haja um controle do processo e uma menor contaminação. Para o controle de temperatura, é necessário o revestimento do reator de material de aço inoxidável, que possui uma alta condutividade térmica e troca de calor com o ambiente. Pode ser adaptado um reator encamisado por uma malha de isopor, considerando que a temperatura a ser controlada é próxima da temperatura ambiente (em torno de 35°C) (Figura 4).

Figura 4: Reator em batelada de mistura.

Fonte: Autoria própria, 2022.

Quanto ao agitador, por se tratar de um líquido de baixa viscosidade, em torno de 2,2 Pa.s (EMBRAPA, 1998), podemos utilizar hélices ou pás inclinadas (Figura 5) como impulsores. Esse impulsor é instalado em um eixo e acionado por um sistema de motor.

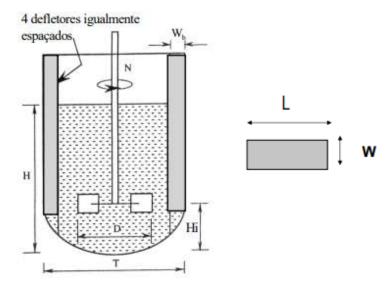
Figura 5: Tipos de agitadores



Fonte: TADINI et. al., 2016

As dimensões características do reator são apresentadas na Figura 6.

Figura 6: Dimensões do Reator



Fonte: TADINI et. al., 2016

Onde, H = altura de líquido no tanque, T = diâmetro do reator, D = diâmetro do impulsor, N = número de revoluções, Hi = distância do fundo ao impulsor, Wb = largura dos defletores, w = altura das pás do impulsor, L = largura das pás do impulsor.

Dimensões padrões, de acordo com as equações 6, 7, 8, 9 e 10 respectivamente (TADINI, *et al.*, 2016), considerando 4 defletores.

$$\frac{D}{T} = \frac{1}{3}$$
;  $\frac{Hi}{D} = 1$ ;  $\frac{H}{T} = 1$ ;  $\frac{Wb}{T} = \frac{1}{10}$ 

$$\frac{W}{L} = 0.25$$
 para pás.

Considerando então que H = T = D na equação, temos

$$V = \frac{\pi D^2}{4} H_L$$
 Eq. 11

Rearranjando a equação, temos:

$$V = \frac{\pi (H_L^2)}{4} H_L$$

Eq. 12 
$$H_L = \sqrt[3]{\frac{V*4}{\pi}}$$

Levando em consideração que o projeto foi desenvolvido para um volume de reação de 5L = 0,005 m³, podemos ter como altura do liquido H na equação 12

$$H = \sqrt[3]{\frac{0,005 * 4}{\pi}} = 0,18m$$

Deste modo temos que H = T = 0.18m.

Adotando nas dimensões padrões, temos:

$$\frac{D}{T} = \frac{1}{3} = \frac{D}{0.18} = \frac{1}{3}$$

Portanto D = 0.06m.

$$\frac{Hi}{D} = 1 = \frac{Hi}{0.06} = 1$$

Temos  $H_i = 0.06m$ .

$$\frac{Wb}{T} = \frac{1}{10} = \frac{Wb}{0.18} = \frac{1}{10}$$

Dessa maneira, temos W<sub>b</sub> = 0,018m.

Se utilizado o impulsor do tipo pás inclinadas, vemos que

$$W = \frac{D}{5} = W = \frac{0,06}{5}$$

Logo, W = 0.012m

Adotando na equação 9, a largura das pás pode ser vista como

$$\frac{W}{I} = 0.25 = \frac{0.012}{I} = 0.25$$

Assim sendo, L = 0.048m.

## 4. CONCLUSÃO

Podemos considerar que há como simular e determinar as variáveis dentro do processo desejado. Para um projeto futuro, deseja-se fazer as simulações para melhor determinação da concentração da enzima utilizada e/ou o tempo de reação necessário. Há também uma possibilidade de construção desse reator para fins didáticos.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BORZANI, W. et al. Biotecnologia Industrial. Fundamentos. 1 ed. v. 1. São Paulo: Blucher, 2001.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Resolução RDC nº 460, de 21 de dezembro de 2020. Dispõe sobre os requisitos sanitários das fórmulas dietoterápicas para erros inatos do metabolismo**. Brasília: Diário Oficial da República Federativa do Brasil, 2020. <a href="https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/resolucao-dediretoria-colegiada-rdc-n-460-de-21-de-dezembro-de-2020-295779608">https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/resolucao-dediretoria-colegiada-rdc-n-460-de-21-de-dezembro-de-2020-295779608</a> Acesso em: 10 mai. 2022.

BRITO, J. R. F.; BRITO, M. A. V. P. Qualidade Higiênica do Leite. Juiz de Fora: Embrapa, 1998.

CARIAS, D. C. **Métodos de imobilização da enzima β-galactosidase**. 2018. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Engenharia de Alimentos) – Universidade Federal de Uberlândia – Faculdade de Engenharia Química, Patos de Minas, 2018.

CARVALHO, G.R.; ROCHA, D. T. Cresce a oferta de leite em tempos de pandemia. **Anuário do Leite 2021,** São Paulo: Embrapa, 2021.

CARVALHO, G.R.; ROCHA, D. T. Leite inspecionado: Minas Gerais mantém a liderança. **Anuário do Leite 2021.** São Paulo: Embrapa, 2021.

CARVALHO, G.R.; ROCHA, D. T. Queijos: produção e consumo em meio a pandemia. **Anuário do Leite 2021.** São Paulo: Embrapa, 2021.

DE MELO, J. C.; DUTRA, R. Projeto e Construção de um Reator Químico Batelada para a utilização como ferramenta didática. Foz do Iguaçu, 2021.

FOGLER, H. S. **Elementos de Engenharia das Reações Químicas**. 4 ed. 1939. Traduzido em Rio de Janeiro: LTC, 2018.

HOTT, M. C.; ANDRADE, R. G.; MAGALHÃES JUNIOR, W. C. P. Distribuição da produção de leite por estados e mesorregiões. **Anuário do Leite 2021**. São Paulo: Embrapa, 2021.

LEVENSPIEL, O. Engenharia das Reações Químicas. 3 ed. 1999. Traduzido em São Paulo: Blucher, 2000.

LUPINO, J. H. B. Simulação de um reator batelada para a produção de leite sem lactose utilizando enzima β-galactosidase livre e imobilizada. 2021. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado e Engenharia Química) – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho – Instituto de Química, Araraquara, 2022.

MÜLLER, N. P. Avaliação da concentração da enzima, temperatura e tempo na reação de hidrólise enzimática da lactose. 2018. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) – curso de Tecnologia em Biotecnologia, Universidade Federal do Paraná, Palotina, 2018.

RIBEIRO, E.; CUBO, M. F.; SALEM, R. D. S. Desenvolvimento e caracterização físico-química de iogurte sem lactose adicionado de chia (*Salvia hispanica L.*). Ponta grossa, 2019.

SANTOS, A.; LADERO, M.; GARCÍA-OCHOA, F. **Kinetic modeling of lactose hydrolysis by β-galactosidase from Kluyveromyces fragilis.** Enzyme and Microbial Techonology, v.22, 1998.

SCHMAL, M. Cinética e Reatores: Aplicação na Engenharia Química. Rio de Janeiro: Synergia, 2010.

SILVA, C. C. N.; MOLITOR, L.R.; ALEXANDRE, L. **Ação da beta-galactosidase comercial na redução do teor de lactose em leite integral e desnatado.** Marília, 2019.

TADINI, C.C., TELIS, V.R.N., MEIRELLES, A.J.A., PESSOA FILHO, P.A. **Operações Unitárias na Indústria de Alimentos**. 1 ed., Rio de Janeiro: LTC Editora, 2016.

VENTURINI, K. S.; SARCINELLI, M. F.; SILVA, L. C. da. **Características do leite**. Boletim Técnico, PIE-UFES, n. 01007, Ed. 26 ago. 2007.