



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE ENGENHARIA QUÍMICA
CURSO DE GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA



**PROCESSAMENTO E QUALIDADE DOS PRODUTOS COM BAIXO
TEOR DE LACTOSE**

LETÍCIA DOS REIS ARAUJO

Uberlândia – MG

2017



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE ENGENHARIA QUÍMICA
CURSO DE GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA



Processamento e qualidade dos produtos com baixo teor de lactose

Letícia dos Reis Araujo

Monografia de graduação apresentada à
Universidade Federal de Uberlândia como
parte dos requisitos necessários para a
aprovação na disciplina de Trabalho de
Conclusão de Curso do curso de Engenharia
Química

Uberlândia – MG

2017

MEMBROS DA BANCA EXAMINADORA DA MONOGRAFIA DA DISCIPLINA
TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO DE LETÍCIA DOS REIS ARAUJO
APRESENTADA À UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA, EM 05
DEZEMBRO DE 2017.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Larissa Nayhara Soares Santana Falleiros
Orientador (FEQ/UFU)

Prof. Eloízio Júlio Ribeiro
FEQ/UFU

Carla Cristina de Sousa
FEQ/UFU

DEDICATÓRIA

Dedico esse trabalho sobretudo aos meus pais Lázaro e Marina que sempre foram os meus maiores incentivadores, as minhas irmãs Laila e Luana por todo apoio e compreensão. E ao meu noivo Willian por todo carinho e incentivo.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por essa conquista, por não me deixar desanimar nos momentos de dificuldade...

Aos meus pais Lázaro e Marina agradeço pelo amor incondicional e por serem sempre meu alicerce...

As minhas irmãs Laila e Luana por serem minha inspiração e me incentivarem e apoiarem sempre...

Ao meu noivo Willian por toda compreensão e apoio nas dificuldades pelo caminho até aqui...

A toda minha família por sempre acreditarem e torcerem por mim...

Aos meus amigos tanto de Patos, mesmo que de longe, quanto de Uberlândia que foram parte fundamental dessa conquista...

À minha orientadora Larissa por toda ajuda, amizade e apoio...

À banca examinadora por terem aceitado o convite e contribuírem com o enriquecimento do trabalho...

À Faculdade de Engenharia Química...

Ao curso de Engenharia de Alimentos - campus Patos de Minas, especialmente à professora Michele e à mestrande Lara pelo auxílio nos ensaios experimentais...

Aos amigos e voluntários que participaram das análises sensoriais...

Enfim, agradeço a todos que contribuíram para a conclusão desta etapa, que seja apenas uma de várias vitórias...

EPÍGRAFE

“Por vezes sentimos que aquilo que fazemos não é senão uma gota de água no mar. Mas o mar seria menor se lhe faltasse uma gota” (Madre Teresa de Calcutá).

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	i
LISTA DE FIGURAS	ii
RESUMO	iii
 CAPÍTULO 1 - INTRODUÇÃO	 1
 CAPÍTULO 2 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	 3
2.1 Leite	3
2.2 Lactose	3
2.3 Intolerância a lactose.....	4
2.4 Hidrólise da lactose	5
2.5 Enzima β -galactosidase.....	6
2.6 Imobilização de enzimas.....	8
2.7 Reações de Maillard.....	9
2.8 Produtos livres ou com baixo teor de lactose	10
 CAPÍTULO 3 – PROCESSOS PARA OBTENÇÃO PRODUTOS COM BAIXO TEOR DE LACTOSE	 12
3.1 Processos por hidrólise enzimática	12
3.3 Processos por separação.....	14
3.3 Processos por combinação de métodos.....	15
3.4 Processo de obtenção de iogurte e queijos	17
 CAPÍTULO 4 – MATERIAL E MÉTODOS	 19
4.1 Material	19
4.2 Métodos.....	19
 CAPÍTULO 5 – RESULTADOS E DISCUSSÃO	 24
 CAPÍTULO 6 – CONCLUSÕES	 28
 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	 29

LISTA DE TABELAS

Tabela 2.1 – Propriedades da β -galactosidase conforme a fonte.....	7
Tabela 2.2 – Classificação dos alimentos quanto ao teor de lactose	10
Tabela 4.1 – Relação de produtos com códigos	21
Tabela 4.2 – Aleatorização das amostras de leite.....	21
Tabela 4.3 – Aleatorização das amostras de leite condensado	22
Tabela 5.1 – Resultados de média e variância para as amostras de leite.....	26
Tabela 5.2 – Resultados ANOVA para amostras de leite	26
Tabela 5.3 – Resultados de média e variância para as amostras de leite condensado.....	27
Tabela 5.4 – Resultados ANOVA para amostras de leite condensado.....	27

LISTA DE FIGURAS

Figura 2.1 – Reação de hidrólise enzimática da lactose	6
Figura 3.1 – Processo de hidrólise enzimática do leite na embalagem	13
Figura 3.2 – Processo de hidrólise enzimática do leite em tanques	13
Figura 3.3 – Aplicação do processo de separação por membranas em função do tamanho dos componentes	15
Figura 3.4 – Fluxograma de remoção da lactose por membranas e hidrólise enzimática	16
Figura 3.5 – Processo utilizando combinação de métodos para compor o leite na forma desejada	17
Figura 4.1 – Amostras de leite.....	20
Figura 4.2 – Amostras de leite condensado	20
Figura 4.3 – Ficha fornecida aos provadores na análise sensorial	23
Figura 5.1 – Amostra de leite tradicional á esquerda e leite zero lactose á direita.....	24
Figura 5.2 – Amostra de leite condensado zero lactose á esquerda e leite condensado tradicional á direita	24
Figura 5.3 – Quantidade de provadores por valor atribuído as amostras de leite zero lactose em relação ao controle.....	25
Figura 5.4 – Quantidade de provadores por valor atribuído as amostras de leite condensado zero lactose em relação ao controle	26

RESUMO

O leite assim como os seus derivados são considerados alimentos completos e são a maior fonte de cálcio absorvível para o ser humano. Entretanto grande parte da população não pode fazer o uso desse alimento devido a algum grau de intolerância a lactose. Além disso, a lactose é um dissacarídeo que tem baixa aplicabilidade industrial devido a sua baixa solubilidade e baixo poder adoçante. Dessa forma a hidrólise da lactose, bem como os processos de remoção da lactose, tem se tornados promissores para a indústria de alimentos. A hidrólise enzimática vem sendo amplamente utilizada na indústria de alimentos, pois consegue características organolépticas desejadas e aumenta a doçura do alimento. Contudo a atividade da enzima β -galactosidase, responsável por catalisar a reação de hidrólise, depende de diversos fatores. Além do que os produtos da hidrólise favorecem as reações de escurecimento de Maillard. Neste trabalho foram estudados diferentes processos para obtenção de produtos com baixo teor de lactose como: métodos enzimáticos com enzima na forma livre e imobilizada, métodos de separação e métodos de combinação. Além disso, com objetivo de comparar a qualidade dos produtos com baixo teor de lactose frente aos tradicionais, foi realizada análise sensorial com teste de diferença do controle. As amostras comparadas foram leite semidesnatado tradicional com leite semidesnatado zero lactose e leite condensado tradicional com leite condensado zero lactose. Concluiu-se que a hidrólise da lactose provoca alteração das características organolépticas dos produtos, entretanto essas novas características são bem aceitas pelo consumidor. Sendo assim o método de hidrólise por ser simples e barato quando comparado aos demais se mostra bastante efetivo.

Palavras-chave: lactose, intolerância a lactose, zero lactose, processos de redução da lactose.

CAPÍTULO 1

INTRODUÇÃO

A produção de leite brasileira atingiu 35 bilhões de litros em 2015 sendo o 3º maior produtor mundial (IBGE, 2015). O leite é um alimento básico da dieta, especialmente para as crianças. É considerado a primeira fonte de nutrientes para os mamíferos e a maior fonte de cálcio absorvível à disposição do homem. Graças a ele e a seus derivados, obtém-se o aporte mais importante de cálcio para o organismo. O leite é uma emulsão estável, complexa e nutritiva de gordura, proteínas, lactose, vitaminas e outros componentes que se encontram suspensos na água (LEITE, 2009).

A lactose é o principal carboidrato do leite, sendo o leite e o soro do leite praticamente as suas únicas fontes. Cerca de 40% a 50% do leite é constituído por lactose, enquanto que o soro do leite é constituído por 75%. (PORTO, 2001). Entretanto a utilização da lactose em produtos lácteos é limitada devido ao seu baixo poder adoçante frente aos produtos de sua hidrólise: glicose e galactose, baixa solubilidade e a intolerância alimentar de indivíduos a esse sacarídeo (PASSELA *et al*, 2003).

A intolerância a lactose ocorre devido a uma deficiência no intestino delgado da enzima β -galactosidase, aproximadamente 65% da população humana sofre redução na capacidade de digerir a lactose após a infância e vai apresentar sinais e sintomas ao longo da vida. (HEYMAN, 2006)

A hidrólise de lactose possibilita o desenvolvimento de novos produtos para consumidores intolerantes a esse carboidrato, além de oferecer diversas vantagens tecnológicas, tais como, a diminuição da cristalização da lactose em produtos lácteos e o aumento do poder adoçante, vantagens estas que apontam que a hidrólise de lactose é um processo industrial promissor (FISCHER, 2010).

A hidrólise da lactose pode se dar por via ácida ou enzimática, sendo a via enzimática a que se apresenta mais favorável, pois se dá em condições amenas de pH e temperatura (30° a 40°) diferentemente da hidrólise ácida que utiliza ácidos fortes. A enzima β -galactosidase, na forma livre ou imobilizada, é uma enzima comercialmente importante para este processo (OBÓN *et al*., 2000).

Atualmente se encontram disponíveis no mercado diversos produtos com teor de lactose reduzido, sendo classificados pela ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) conforme concentração de lactose. Para obtenção desses produtos são utilizados diferentes processos que utilizam hidrólise enzimática, processo de separação ou combinação

desses métodos. Devido á baixa aplicabilidade da lactose e o crescente aumento da intolerância á lactose na população mundial esses processos são promissores para indústria de alimentos.

Diante do exposto este trabalho tem por objetivo principal avaliar os processos existentes para a produção de leite e derivados com baixo teor de lactose, assim como a qualidade destes produtos. E como objetivos específicos:

- Revisar acerca dos fundamentos para produção de leite e derivados com baixo teor de lactose;
- Estudar a regulamentação de produtos com teor de lactose reduzido;
- Avaliar processos para a produção de leite e derivados com baixo teor de lactose;
- Verificar a influência da hidrólise da lactose na qualidade dos produtos através de análise sensorial com teste de diferença do controle;

Capítulo 2

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Leite

Segundo o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) em instrução normativa nº 51 publicada em 2002, o leite é o produto oriundo da ordenha completa e ininterrupta, em condições de higiene, de vacas sadias, bem alimentadas e descansadas (BRASIL, 2002).

O leite é considerado um dos alimentos mais completos, pois é rico em proteínas, gorduras, carboidratos, sais minerais e vitaminas, além de ser a maior fonte de cálcio absorvível ao ser humano. Oferece também elementos anticarcinogênicos presentes na gordura, como o ácido linoléico conjugado, ácido butírico, β -caroteno, vitaminas A e D (MÜLLER, 2002).

A composição do leite de vaca varia de acordo com a espécie, a raça, a alimentação, o tempo de gestação e outros fatores. Assim, é difícil definir uma composição “normal” do leite. Entretanto, as relações entre seus diferentes constituintes são muito estáveis e podem ser utilizadas para indicar se houve qualquer adulteração na sua composição. O leite em condições normais contém aproximadamente 87,5% de água, 3,8% de gordura, 4,6% de lactose, 3,1% de proteína e 0,8% de cinzas/vitaminas (BLOWEY, 1992).

Os principais parâmetros físico-químicos para a determinação da qualidade do leite são: o pH (a 20°C) que varia de 6,5 a 6,7; a acidez titulável de 15°D a 18°D; a densidade variando de 1,028 g/ml a 1,036 g/ml e a temperatura de congelamento que pode variar de -0,510°C a -0,550°C (GOURSAUD, 1991).

2.2 Lactose

A lactose é o principal carboidrato do leite é formado nas glândulas mamárias dos mamíferos a partir da glicose do sangue. Constitui cerca de 40 a 50% do leite de vaca em base seca, e do soro de leite em torno de 70 a 80%. Sua concentração é relativamente constante e está pouco sujeita à variações estacionais (GÄNZLE, HAASE e JELEN, 2008).

É um dissacarídeo constituído por um radical β -D-galactose e um radical α -D-glicose unidos por ligação glicosídica β -1,4. Seu nome químico é 4-O- β -D-galacto-piranosil- α -D-glucopiranosose e pode ser identificado como 4-(β -D-galacto-sido)-D-glucose. A lactose é considerada um açúcar redutor, porque o grupo no carbono anomérico da porção glicose não

está envolvido na ligação glicosídica, portanto, ela está livre para reagir com agentes oxidantes (CAMPBELL, 2000).

A lactose é cerca de dez vezes menos solúvel que a sacarose. Esta característica pode causar cristalização e, conseqüentemente, problemas tecnológicos durante o processamento de alguns produtos na indústria de laticínios. Possui baixo poder adoçante, em termos de poder de doçura relativo a frutose tem índice 130, a sacarose 100 (padrão), a glicose 75, a galactose 32 e a lactose apenas 17 (LONGO, 2006; ZADOW, 1984). Soma-se a essas desvantagens a intolerância a lactose por grande parte da população.

2.3 Intolerância a lactose

A hidrólise enzimática da lactose é realizada no intestino delgado pela enzima β -D-galactosidase (lactase), liberando os monossacarídeos glicose e galactose na corrente sanguínea. Esses monossacarídeos passam pelo sistema porta (veia porta e suas tributárias) e são transportados até o fígado, onde a galactose será convertida em glicose (AROLA e TAMM, 1994).

A intolerância a lactose ou hipolactasia decorre da diminuição da atividade da enzima lactase na mucosa intestinal o que incapacita a digestão da lactose (ENATTAH *et al.*, 2007). A intolerância é comumente confundida com a alergia a produtos lácteos, mas diferentemente desta não tem associação com mecanismos imunológicos (LUIZ, SPERIDIÃO e FAGUNDES NETO, 2005).

A lactose não absorvida passa para o cólon onde sofre fermentação bacteriana produzindo gases e ácidos graxos de cadeia curta resultando em sintomas como: flatulência, diarreia, distensão e dor abdominal (CRUZ, 2016).

A produção da lactase é determinada geneticamente para cessar após o desmame ou durante a infância, a condição decorrente deste processo natural é chamada de não persistência de lactase (NPL). Já a persistência da lactase (PL) é caracterizada por uma produção sustentada ao longo da vida. A grande maioria das crianças nasce com níveis suficientes de lactase para digerir a lactose presente no leite materno, em indivíduos com NPL a produção diminui gradualmente entre 2 a 5 anos de idade e cai completamente aos 9 anos (DZIALANSK *et al.*, 2016).

Intolerância à lactose pode ser congênita, ou seja, herdada geneticamente sendo extremamente rara e grave, pois o recém nascido é incapaz de digerir o leite materno. A forma mais frequente é a adquirida ou devido a alguma doença que causa dano a mucosa intestinal ou a tendência natural do organismo em diminuir a produção de lactase com avançar da idade.

A deficiência de β -galactosidase é geralmente diagnosticada com base em história de sintomas gastrointestinais, que ocorrem após ingestão do leite, por teste para níveis anormais de hidrogênio na respiração (a fermentação da lactose digerida resulta na produção de hidrogênio), ou medição da atividade dissacaridásica da mucosa intestinal por intubação intestinal (LOMER, PARKES E SANDERSON, 2008).

A prevalência dessa afecção varia entre os grupos étnicos sendo de 2% na população do norte da Europa e de quase 100% nos asiáticos. Na população brasileira a prevalência é de 45 a 85%, sendo os mais afetados os descendentes de orientais, pardos e negros (ESCOBOZA *et al.*, 2004; MATTHEWS, 2005)

2.4 Hidrólise da lactose

A hidrólise da lactose é um processo promissor para indústria de alimentos, pois possibilita o desenvolvimento de novos produtos para consumidores intolerantes, diminui a cristalização desse carboidrato em derivados lácteos e aumenta o poder adoçante (FISHER, 2010).

Existem dois métodos utilizados para a hidrólise da lactose, o método ácido e o método enzimático:

- Método ácido: A reação é muito rápida, mas envolve soluções diluídas de ácido fortes, como sulfúrico e clorídrico, e condições operacionais severas de pH (1,0-2,0) e temperatura (100-150 °C), e por isto tem sua aplicação comercial na indústria alimentícia restrita, pois acarreta alterações no sabor e cor dos alimentos, além de causar desnaturação das proteínas do leite.
- Método enzimático: pode ser aplicado no leite ou no soro sem um tratamento prévio. A hidrólise é catalisada pela β -galactosidase e se processa em condições amenas de pH e temperatura (30 a 40°C), o que reduz não só a possibilidade de alteração dos compostos sensíveis ao calor, mas também as necessidades energéticas, os efeitos de corrosão do meio sobre equipamentos e a formação de subprodutos indesejáveis. Os produtos obtidos por este processo preservam as suas propriedades, aumentando seu poder adoçante relativo (GEKAS e LOPEZ-LEIVA, 1985; BAILEY e OLLIS, 1986; LADERO, SANTOS e GARCIA-OCHOA, 2000).

A reação de hidrólise da lactose catalisada pela enzima β -galactosidase forma primariamente uma mistura isomolecular de glicose e galactose conforme Figura 2.1, entretanto a galactose pode polimerizar-se ou unir-se à lactose para formar oligossacarídeos (HAIDER e HUSAIN, 2009; MAHONEY, 1998).

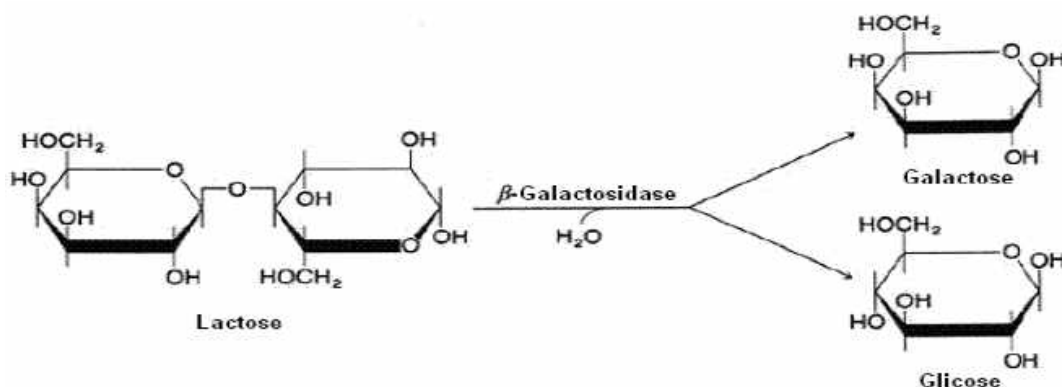


Figura 2.1 - Reação de hidrólise enzimática da lactose. (FISHER, 2010).

A hidrólise enzimática mantém as características nutricionais e de qualidade desejadas dos produtos, além de aumentar a doçura dos mesmos. Percebe-se assim que a clivagem da lactose via enzimática é muito mais conveniente à indústria de alimentos (GROSOVÁ, ROSENBERG e REBROS, 2008). Como consequência, percebe-se um crescimento considerável na pesquisa e desenvolvimento de processos biotecnológicos, economicamente viáveis, para a obtenção de produtos lácteos com baixo teor de lactose (RODRIGUEZ, CRAVERO e ALONSO, 2008).

2.5 Enzima β -galactosidase

A enzima β -galactosidase (β -D-galactosideo-galactohidrolase, E.C.3.2.1.23) é usualmente chamada de lactase uma vez que esta catalisa a hidrólise da lactose em seus açúcares constituintes (PARK e OH, 2010). Todas as enzimas denominadas genericamente como lactases são β -galactosidasas, mas o inverso não é verdadeiro. Determinadas β -galactosidasas, incluindo algumas de células vegetais e de órgãos de mamíferos, que não as do intestino, têm baixa ou até mesmo nenhuma atividade de hidrólise da lactose uma vez que a função catalítica das mesmas é a quebra de outros grupos galactosil, tais como glicolipídios, glicoproteínas e mucopolissacarídeos (MAHONEY, 2003).

Esta enzima é igualmente responsável pela síntese de GOS, quando há uma alta concentração de lactose no sistema, pois será favorecida a reação de transgalactosilação em detrimento à hidrólise, e quando este dissacarídeo se encontra em baixa concentração, ocorre sua hidrólise, resultando em glicose e galactose (NERI *et al*, 2009).

β -galactosidase é uma das enzimas mais pesquisadas e relatadas na literatura e é encontrada em plantas como amêndoas, damascos, pêssegos, pêras, entre outros, em órgãos de animais como intestino e ainda é produzida por uma vasta gama de micro-organismos (MAHONEY, 2003; DWEVEDI e KAYASTHA, 2009). A fonte preferida desta enzima para

aplicações biotecnológicas é a microbiana, incluindo fungos como *Aspergillus foetidus*, *A. niger*, *A. oryzae* e *A. phoenecis* (SANTOS, SIMIQUELI e PASTORE, 2009); leveduras como: *Kluyveromyces lactis*, *K. fragilis*, *K. marxianus* e *Candida pseudotropicalis* (PETROVA e KUJUMDZIEVA, 2010) e bactérias como: *Escherichia coli*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Bacillus sp* e *Streptococcus lactis* (GOSLIN et al., 2010) .

Entretanto nem todas as lactases são reconhecidas como seguras para a utilização na indústria de alimentos. Enzimas extraídas de *A. niger*, *A. oryzae*, *K. lactis* ou *K. fragilis* são consideradas seguras sendo amplamente estudadas e aplicadas (GEKAS e LOPEZ-LEIVA, 1985). Sabe-se que a lactase apresenta diferentes características e condições ótimas conforme a sua fonte essas diferenças são apresentadas na Tabela 2.1.

Tabela 2.1 - Propriedades da β - galactosidase conforme a fonte (MARIOTTI, 2000).

Fonte	pH ótimo	pH estabilidade	Cofatores necessários	Temperatura ótima (°C)
<i>Aspergillus niger</i>	3 - 4	2,5 - 8	Nenhum	55 – 60
<i>Aspergillus oryzae</i>	4,5	3,5 - 8	Nenhum	50 – 55
<i>Kluyveromyces fragilis</i>	6,6	6,5 - 7,5	Mn ⁺² , K ⁺	37
<i>Kluyveromyces lactis</i>	6,9-7,3	7 - 7,5	Mn ⁺² , Na ⁺	35
<i>Echerichia coli</i>	7,2	6 - 8	Na ⁺ , K ⁺	40
<i>Lactobacillus thermophilus</i>	6,2	N. d	N. d	55
<i>Leuconostox citrotrovorum</i>	6,5	N. d	Nenhum	60

Esta enzima apresenta uma importância comercial relevante, uma vez que, além da propriedade de produzir GOS, ao catalisar a hidrólise da lactose, sana problemas associados com a eliminação do soro, cristalização deste dissacarídeo em alimentos congelados e o consumo de leite e derivados por indivíduos com intolerância à lactose. É comumente empregada em produtos como leite condensado e doce de leite, para minimizar problemas de areosidade causados pela cristalização da lactose (DWEVEDI e KAYASTHA, 2009; GROSOVÁ, ROSENBER e REBROS, 2008).

2.6 Imobilização de enzimas

A imobilização enzimática é um processo que mantém o biocatalisador fisicamente confinado numa dada região do suporte, mantendo-se sua atividade catalítica e tornando-o estável para ser reutilizado continuamente (CHIBATA *et al.*, 1978). Quando imobilizada a enzima passa de biocatalisador solúvel a biocatalisador heterogêneo podendo ser mais facilmente separado do meio reacional (MATEO *et al.*, 2007).

O primeiro trabalho que se tem conhecimento sobre imobilização enzimática foi em 1916, quando NELSON e GRIFFIN adsorveram invertase em carvão ativado e alumina, com a intenção de purificar a enzima e reterem a atividade na inversão da sacarose. Na década de 60 houve uma considerável difusão dessa técnica, mas foi a partir da década de 70 que houve grande crescimento tanto do número de artigos publicados como do número de patentes registradas referentes ao emprego de enzimas imobilizadas (ROSEVEAR, 1984).

O processo de imobilização tem custo elevado, entretanto se torna viável à medida que possibilita utilizar o biocatalisador imobilizado repetidamente, em reações bateladas ou reações contínuas, e em sistemas de reatores tubulares (HARJU, KAILLIONEN e TOSSAVAINEN, 2012).

De acordo com vários autores (KRAJEWSKA, 2004; GROSOVÁ *et al.*, 2008; GÓMEZ *et al.*, 2005; SZYMANSKA *et al.*, 2007) pode-se apresentar algumas das principais vantagens da utilização de enzimas imobilizada.

- Maior estabilidade para a enzima, de modo que possa ser utilizado em processos contínuos;
- Permite um grande aproveitamento econômico, pelo fato da possibilidade de sua reutilização;
- Permite o processamento de grandes quantidades de substrato, uma vez que pode ser separado e recuperado o produto da mistura de substrato-produto;
- Promove a reutilização sem um significativo decréscimo da atividade;
- Diminui o volume de reação, pois a enzima imobilizada pode ser utilizada em alta concentração em um menor volume de reator;
- Proporciona um maior controle do processo catalítico;
- Melhora o controle operacional;
- Flexibiliza o projeto do reator;
- A enzima não contamina o produto.

No entanto, após a imobilização as propriedades químicas e físicas das enzimas podem sofrer modificações. Devem ser considerados os efeitos da imobilização sobre a estabilidade,

as propriedades cinéticas e especificidade, além da produtividade da enzima. As mudanças nas propriedades das enzimas podem ser causadas por diversos fatores (KENNEDY e CABRAL, 1987; SHELDON, 2007).

- Efeitos conformacionais: modificação conformacional na molécula de enzima devido à alteração na estrutura terciária do sítio ativo.
- Efeitos estereoquímicos: uma parte da molécula da enzima é imobilizada numa posição tal que o sítio ativo é relativamente inacessível.
- Efeitos de partição: este efeito é relatado para a natureza química do material do suporte, podendo surgir interações eletrostáticas e hidrofóbicas entre a matriz e moléculas de baixa massa molecular presente na solução, levando a uma modificação de microambiente.
- Efeitos difusionais ou transferência de massa: surge a partir da resistência de difusão de solução de substrato para os sítios catalíticos e difusão de produtos.

Todos esses fatores podem influenciar nas propriedades da enzima imobilizada que adquirem novas propriedades cinéticas, modificações em seus parâmetros cinéticos K_m e V_m , deslocamento dos valores de pH e comportamentos diferentes de acordo com temperatura (KENNEDY e CABRAL, 1987).

Entretanto, os problemas citados acima podem ser evitados ou diminuídos pela escolha criteriosa do método de imobilização e suporte adequado, bem como o tipo de solvente, a quantidade de água e a solubilidade dos substratos e produtos devem ser avaliados e otimizados (VIEIRA, 2009).

2.7 Reações de Maillard

Fenômeno de escurecimento não enzimático que ocorre à medida que os alimentos são aquecidos. As reações químicas que descrevem esse fenômeno foram descobertas pelo bioquímico francês Louis-Camille Maillard, que em 1912 publicou um estudo mostrando que aminoácidos e açúcares redutores iniciam uma complexa cascata de reações durante o aquecimento, resultando em substâncias marrons chamadas de melanoidinas (FINOT, 2005).

A ocorrência dessa reação em alimentos depende de vários fatores como temperaturas elevadas (acima de 40°C), atividade de água na faixa de 0,4 a 0,7, pH na faixa de 6 a 8, umidade relativa entre 30% a 70% e a presença de íons metálicos de transição como Cu^{2+} e Fe^{2+} , que podem catalisar a reação. Além disso, tem-se outro fator de influência que é a composição já que o tipo de açúcar reduto influencia na reação sendo o açúcar mais reativo a xilose, seguida de arabinose, glicose, maltose e frutose, indicando que as pentoses são mais

reativas que as hexoses (MARTINS, JONGEN e BOEKEL, 2000). Essa reação se torna mais intensa em produtos que sofrem hidrólise da lactose, já que os açúcares provenientes dessa reação tem maior potencial redutor que a lactose.

Os produtos da reação de Maillard podem influenciar muitos parâmetros na qualidade dos alimentos, tais como cor, aroma e sabor. Esta reação pode trazer insatisfação ou atributos sensoriais exigidos pelo consumidor. A cor marrom pode ser desejável em produtos como café, alimentos cozidos e biscoitos, porém indesejável em produtos como chocolate branco, suco de laranja e leite em pó, por exemplo. As contribuições positivas da reação de Maillard são geração de atributos sensoriais, tais como cor, sabor e aroma. Os aspectos negativos são desenvolvimento de *offflavor*, a perda de aroma, a descoloração e a perda de proteína de valor nutricional. No caso dos alimentos na indústria, o papel de sabor e cor desejável ou indesejável é a chave na fabricação de produtos de qualidade sensorial consistente (BASTOS *et. al.*, 2012).

2.8 Produtos livres ou com baixo teor de lactose

Recentemente a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa) determinou mudanças nas informações de rótulos de alimentos quem contêm lactose. Os produtos com mais de 100 mg de lactose para cada 100 g (ou mL) do produto devem indicar esta informação no rótulo. Este limite foi definido com base na regulação de países como Alemanha e Hungria, onde o limite tem se mostrado seguro para pessoas intolerantes (BRASIL, 2017). Na Tabela 2.2 têm-se a rotulagem adequada para as demais concentrações de lactose.

Tabela 2.2 – Classificação dos alimentos quanto ao teor de lactose (BRASIL, 2017)

Quantidade de lactose no alimento	Frase no rótulo
Abaixo de 100 mg/100 g ou mL	Zero lactose, Isento de lactose, 0% Lactose, Sem Lactose ou Não Contém Lactose
De 100 mg até 1g/100g ou mL	Baixo teor de lactose ou Baixo em lactose
Igual ou acima de 100 mg/ 100g ou mL	Contém Lactose

Leite e derivados que apresentam teores de lactose ou açúcares reduzidos são classificados como lácteos para fins especiais e são definidos como "formulações ou processados, nos quais se introduzem modificações no conteúdo de nutrientes, adequados à

utilização em dietas, diferenciadas ou opcionais, atendendo às necessidades das pessoas em condições metabólicas e fisiológicas especiais"(BRASIL, 1998).

Segundo Smid (2015), o segmento "zero lactose" teve seu fortalecimento no mercado e cresceu cerca de 64% no ano de 2015 em relação ao ano anterior, conforme dados da Tetra Pak.

Atualmente produzem-se diversos produtos zero lactose ou com teor reduzido como:

- Leite: nas versões integral, desnatado e semidesnatado;
- Leite em pó;
- Leite condensado;
- Iogurte;
- Manteiga;
- Creme de leite;
- Doce de leite;
- Bebida láctea;
- Requeijão cremoso;
- Chocolate versões em pó e barra;
- Queijos de diversos tipos como: mussarela, queijo minas (frescal e padrão), brie, parmesão, prato, ricota, e cottage.
- Cream cheese;
- Nata;
- Coalhada;
- Sorvete;
- Pão de queijo e biscoitos em geral;

Sendo as principais marcas Nestlé[®], Itambé[®], Batavo[®], Parmalat[®], Italac[®], Piracanjuba[®], Cemil[®], Aurora[®], Camponesa[®], Porto Alegre[®], Elegê[®] e Verde Campo[®].

CAPÍTULO 3

PROCESSOS PARA OBTENÇÃO DE PRODUTOS COM BAIXO TEOR DE LACTOSE

3.1 Processos por hidrólise enzimática

Em tempos remotos, a fim de evitar o deterioramento do leite produzia-se manteiga e consequentemente eliminava-se 99% da lactose nesse processo. Outra forma também bastante utilizada para a preservação do leite era a fabricação de queijos amarelos removendo-se assim 90% da lactose (HARJU, KAILLIONEN e TOSSAVAINEN, 2012).

Entretanto o primeiro processo para obtenção de produtos com baixo teor de lactose industrialmente foi desenvolvido em 1970 pela empresa finlandesa de laticínios Valio[®]. No processo foi realizada a hidrólise enzimática da lactose, utilizando β -galactosidase solúvel, 80% da lactose foi hidrolisada após uma semana de estocagem na temperatura de 18 a 20°C em uma planta UHT. Atualmente a empresa é a que oferece a nível mundial a maior variedade de produtos com baixo teor de lactose e sem lactose vendidos sob a marca Hyla[®]. O processo atual da Valio[®] utiliza a Valio IML[®] uma β -galactosidase imobilizada própria, chegando a um grau de hidrólise de até 95% e permite um processamento contínuo assim como a reutilização da enzima imobilizada por anos (REVISTA ADITIVOS E INGREDIENTES, 2015; PAAJANEN *et al*, 2003).

A hidrólise enzimática do leite se dá tradicionalmente por dois métodos: no primeiro o leite cru passa por processo de esterilização UHT á 141° C por 5 segundos e depois do resfriamento adiciona-se a lactase e o leite é colocado em embalagem asséptica, a hidrólise ocorre no interior da embalagem, conforme Figura 3.1. No segundo, o leite cru passa por pasteurização á 72 °C por 15 segundos, adicionando lactase após o resfriamento que pode ser observado na Figura 3.2. A hidrólise acontece dentro de tanques de armazenamento e posteriormente realiza-se a esterilização e envase asséptico (LONGO, 2006). Este último método possui como desvantagem um tempo alto de residência do leite nos tanques, já que é necessário um tempo alto de hidrólise pois a atividade da β -galactosidase é baixa no leite resfriado.

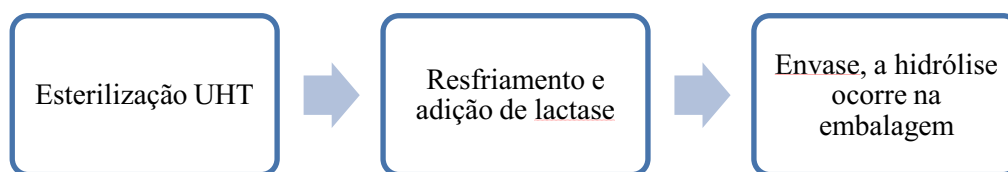


Figura 3.1 – Processo de hidrólise enzimática do leite na embalagem (LONGO, 2006).

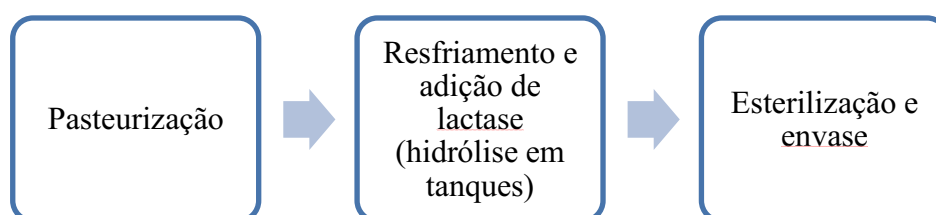


Figura 3.2 – Processo de hidrólise enzimática do leite em tanques (LONGO, 2006)

Um outro processo enzimático patenteado no Brasil pela Universidade Federal de Viçosa consiste no uso de embalagens revestidas por filmes ativos, em que a hidrólise ocorre na embalagem. Reduzindo-se assim tempo de processo e custos com a produção, além disso a enzima permanece imobilizada na embalagem e portanto não apresenta resíduos da β -galactosidase no produto final (PEREIRA *et al*, 2007).

A hidrólise enzimática da lactose não é um processo complicado e não requer equipamento especial. Entretanto há diversos fatores que a afetam como pH, temperatura, concentração de lactose, atividade enzimática e dosagem da enzima, além disso o elevado custo da enzima deve ser considerado. Diferentes processos de hidrólise enzimática podem alterar drasticamente as propriedades sensoriais e organolépticas do produto. Têm-se um aumento considerado da doçura, já que a glicose (produto da hidrólise) possui poder adoçante

mais elevado que a lactose. Além do que o aumento de açúcares redutores, glicose e galactose produtos da hidrólise, intensifica as reações de Maillard gerando a formação de produtos indesejáveis como lactulose e furosina (HU E DICKSON, 2015; (HARJU, KAILLIONEN e TOSSAVAINEN, 2012).

3.2 Processos por separação

A separação da lactose do leite através de colunas de cromatografia é patenteada desde 1990 pela Valio[®], nesse processo usa-se uma resina fortemente catiônica que atrai as proteínas e minerais do leite concentrado bombeado através da coluna, enquanto a lactose flui através dela dessa forma é coletada no fundo da coluna enquanto as proteínas e minerais são eluídos com água desmineralizada (HARJU, 1990). A fim de evitar a contaminação bacteriana esse processo é realizado na faixa de temperatura entre 50 a 80 °C, temperaturas acima de 80 °C são suportadas pela resina, entretanto as proteínas do leite podem se desnaturar a altas temperaturas. As desvantagens desse processo são os custos e tempo do processo (Mc SWEENEY e FOX, 2009).

Uma outra alternativa para redução do teor de lactose é o método da ultrafiltração (UF) que utiliza tecnologia de membranas para separação da lactose (peso molecular de corte 1000 a 500000 Daltons), enquanto gorduras e proteínas ficam retidas. Técnicas de membrana, tais como a microfiltração e ultrafiltração (UF) são utilizadas comercialmente para modificar a proporção de lactose no leite e produtos lácteos. Estes processos originaram cremes modificados sem lactose, leite em pó desnatado, bebidas lácteas e entre outros produtos lácteos (FAEDO et al., 2013). Segundo Brans *et al.* (2004), a tecnologia de separação por membranas é uma escolha adequada para o fracionamento do leite, pois muitos dos seus componentes podem ser separados por diferença de tamanho. Entretanto a UF pode acarretar perdas de minerais tais como o cálcio, que podem passar pelos poros da membrana assim como a lactose.

Na Figura 3.3 encontra-se o tamanho dos componentes do leite e o respectivo processo de separação por membrana que deve ser utilizado para separá-los.

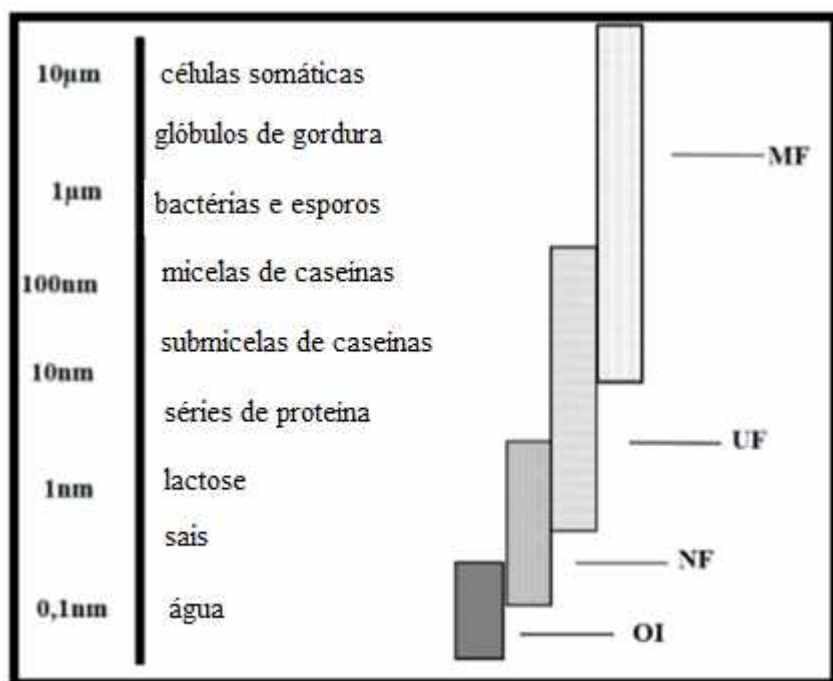


Figura 3.3 – Aplicação do processo de separação por membranas em função do tamanho dos componentes (BRANS *et al*, 2004).

3.3 Processos por combinação de métodos

Pode se observar na Figura 3.4 um processo para a produção de leite com baixo teor de lactose que combina métodos de separação por membrana: ultrafiltração, nanofiltração e concentração por osmose inversa à hidrólise enzimática. Na separação por membrana é utilizada uma membrana semi-permeável, ou seja, que permite passagem apenas de parte da solução conseguindo assim remover grande parte da lactose. A lactose remanescente é então hidrolisada por método enzimático (TOSSAVAINEN e SAHLSTEIN, 2003).

Uma desvantagem dos processos de ultrafiltração e nanofiltração é que eles podem mudar a composição do leite reduzindo a composição de minerais como o cálcio (BALIEIRO, 2015). Dessa forma esse processo busca eliminar essa desvantagem através da readição dos minerais retidos na nano filtração (NF), mantendo assim as características organolépticas do produto.

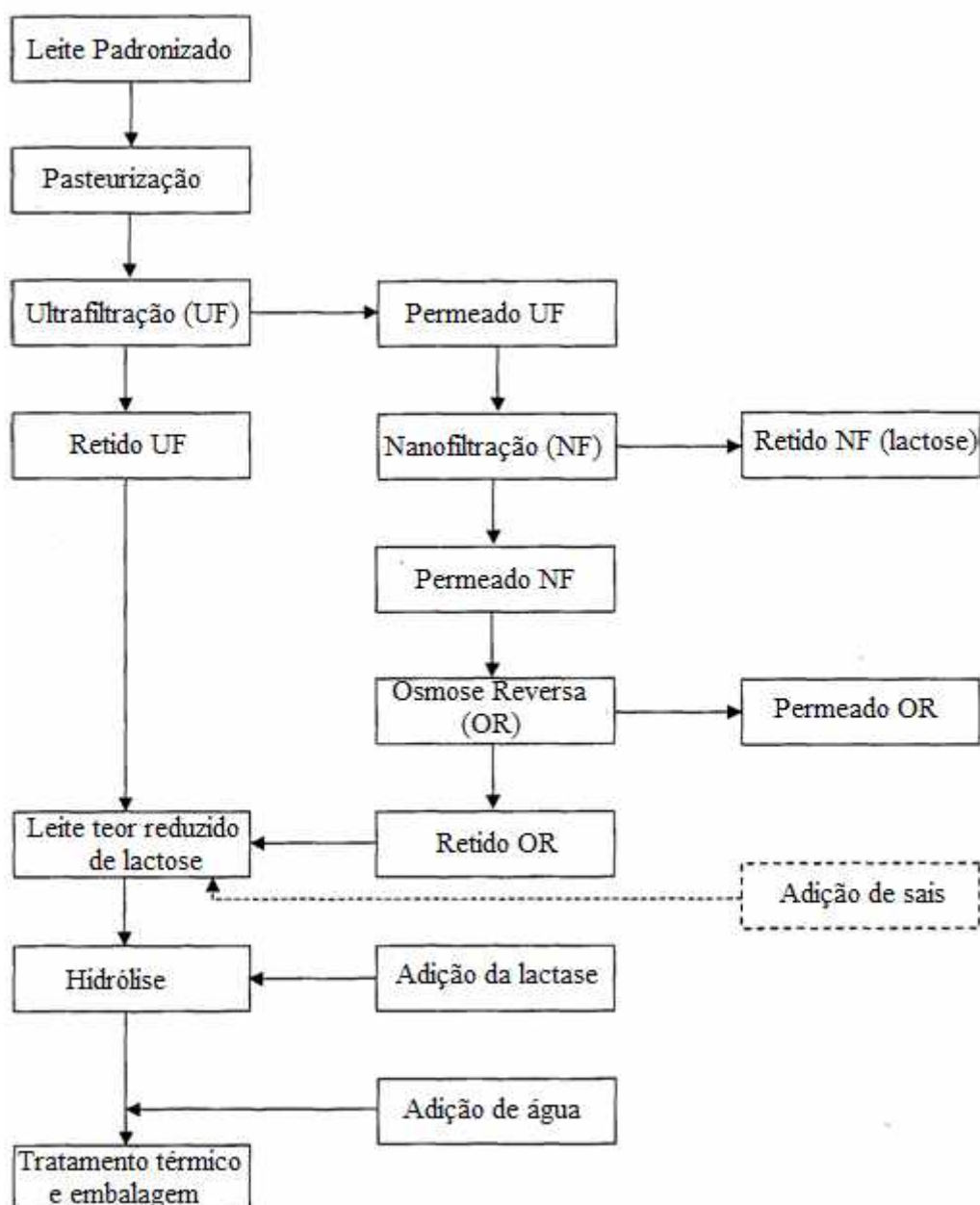


Figura 3.4 – Fluxograma de remoção da lactose por membranas e hidrólise enzimática (adaptado TOSSAVAINEN e SAHLSTEIN, 2003)

Um outro processo também de propriedade da Valio® apresenta as seguintes etapas subsequentes:

- a) hidrolisar enzimaticamente a lactose no leite cru e sujeição do leite cru a uma ultrafiltração por membrana;
- b) adicionalmente processar ao menos uma porção de uma ou mais frações obtidas na etapa 'a' por técnica de membrana para separação de proteínas, açúcares e minerais em diferentes frações;

c) se desejado, sujeitar ao menos uma porção de uma ou mais frações obtidas na etapa ‘a’ e/ou ‘b’ para evaporação e/ou para separação cromatográfica, para separar proteínas, açúcares e minerais em diferentes frações,

d) compor um produto de leite que tem a composição e doçura desejadas a partir de uma ou mais frações obtidas na etapa a) e/ou a partir de uma ou mais frações obtidas na etapa ‘b’ e possivelmente a partir de uma ou mais frações obtidas na etapa ‘c’ e outros ingredientes.

e) se desejado, concentrar o produto obtido na etapa d) em um concentrado ou um pó (TIKANMÄKI e KALLIOINEN, 2017).

Esse processo é exemplificado na Figura 3.5:

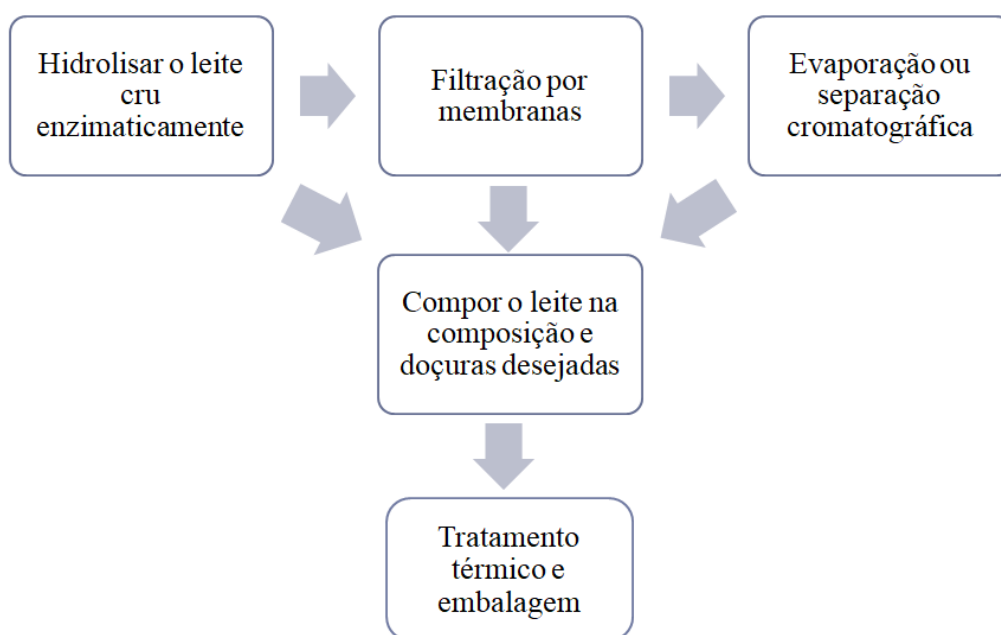


Figura 3.5 – Processo utilizando combinação de métodos para compor o leite na forma desejada (TIKANMÄKI e KALLIOINEN, 2017)

3.4 Processo de obtenção de iogurte e queijos

Os processos apresentados anteriormente são processos exclusivos para reduzir a lactose do leite, e posteriormente utilizando esse leite produzir os seus derivados com baixo teor de lactose. Entretanto, a elaboração de produtos como iogurtes e queijos podem ocorrer simultaneamente à redução da lactose.

São conhecidos três métodos tradicionais para produção de iogurte com teor reduzido de lactose. No primeiro método procede-se com pré hidrólise do leite pasteurizado a baixas temperaturas (6 °C a 10 °C) por aproximadamente 15 horas. Em sequência faz-se tratamento térmico e posterior adição da cultura láctica para fabricação do iogurte. No segundo método, a pré hidrólise do leite é realizada a altas temperaturas (37 °C a 40 °C) por 4 horas e, após procede-se com tratamento térmico e adição da cultura. Já no terceiro método a hidrólise e

acidificação do leite ocorrem simultaneamente, neste método a temperatura de incubação não pode exceder 40 °C. A hidrólise acontecerá até o pH atingir 5,7, quando a enzima é inativada. Pode-se reduzir a dosagem de lactase se for realizada uma pré-hidrólise de aproximadamente 1 a 2 horas, antes da adição da cultura láctica (GIST-BROCADES, 2004).

CAPÍTULO 4

MATERIAL E MÉTODOS

Os produtos com baixo teor de lactose devem seguir os mesmos parâmetros físico-químicos dos produtos tradicionais. Com objetivo de comparar a qualidade e características sensoriais das versões tradicionais e sem lactose foi realizada análise sensorial de dois produtos: leite UHT e leite condensado.

4.1 Material

- 50 fichas para o teste com leite;
- 52 fichas para o teste com leite condensado;
- Etiquetas adesivas para colocar o código da amostra nos copos (tamanho das etiquetas 12 x 19 mm);
- 306 copos descartáveis de 50 mL;
- 52 copos descartáveis de 150 ou 200 mL;
- 156 colheres descartáveis;
- 2 L leite semidesnatado zero lactose obtido por hidrólise enzimática em tanques, marca CEMIL[®];
- 4 L leite semidesnatado tradicional, marca CEMIL[®];
- 6 caixas de leite condensado zero lactose produzido a partir do leite hidrolisado, marca CEMIL[®];
- 12 caixas de leite condensado tradicional, marca CEMIL[®];
- Água;
- Bandejas;
- Canetas;

4.2 Métodos

Os testes foram realizados no Laboratório de Análise Sensorial do curso de graduação em Engenharia de Alimentos – Universidade Federal de Uberlândia (Campus Patos de Minas). De acordo com a metodologia de Palermo (2015), realizou-se Testes de Diferença do Controle com objetivo de classificar a amostra como melhor, pior ou igual ao controle. Para isso, foram servidas as seguintes amostras: o controle (identificado no copo descartável com a letra C), uma amostra igual ao controle (identificada com código de três dígitos) e a amostra teste (também codificada com três dígitos). Na Figura 4.1 pode se observar como foram servidas as amostras de leite e na Figura 4.2 as de leite condensado. O controle foi o produto com lactose e as amostras codificadas uma com lactose e a outra com baixo teor de lactose. Foram selecionados provadores não treinados de diferentes idades sendo 50 para as amostras

de leite e 52 para as amostras de leite condensado, pois dois provadores se negaram a experimentar as amostras do leite por gosto pessoal.



Figura 4.1 – Amostras de leite

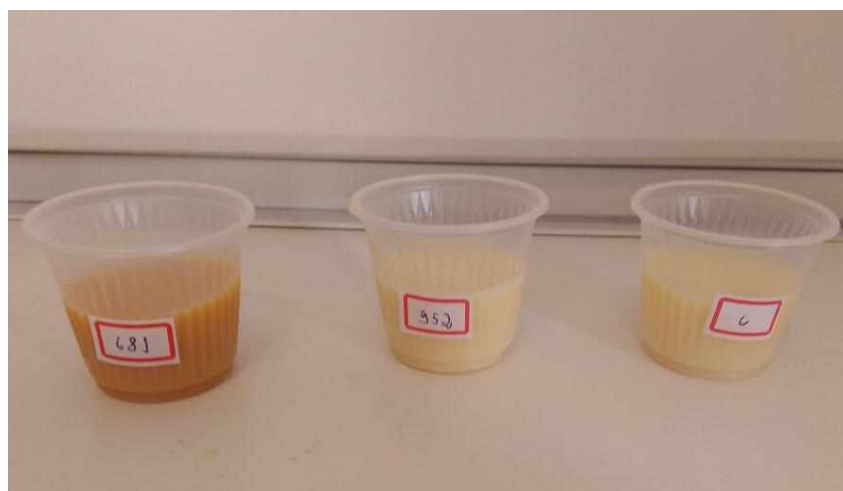


Figura 4.2 – Amostras de leite condensado

As amostras foram servidas aos provadores de maneira balanceada e aleatorizada, segundo as Tabelas 4.1 e 4.2. Os provadores realizaram os testes em cabines fechadas, sob luz branca e livres de influências sonoras e visuais. As amostras de leite foram servidas antes das de leite condensado, já que essas últimas deixam maior gosto residual. Cerca de 30 mL de cada amostra foi colocada no copo descartável de 50 mL. As amostras de leite foram servidas em temperatura entre 5 e 8 °C, e as amostras de leite condensado foram servidas em temperatura ambiente (25 °C). Entre a prova de um produto e outro foi oferecido ao provador água evitando interferência de gosto residual.

Na Tabela 4.1 são apresentados os códigos utilizados para cada versão de produto.

Tabela 4.1 – Relação de produtos com códigos

Produto	Código
Leite semidesnatado tradicional	374
Leite semidesnatado zero lactose	526
Leite condensado tradicional	952
Leite condensado zero lactose	681

Abaixo são apresentadas as Tabelas 4.2 e 4.3 com a aleatorização na forma de servir as amostras.

Tabela 4.2 – Aleatorização das amostras de Leite

Provedores	Sequência de amostras servidas (da esquerda para a direita)
1 e 26	C – 374 – 526
2 e 27	C – 526 – 374
3 e 28	C – 374 – 526
4 e 29	C – 526 – 374
5 e 30	C – 374 – 526
6 e 31	C – 526 – 374
7 e 32	C – 374 – 526
8 e 33	C – 526 – 374
9 e 34	C – 374 – 526
10 e 35	C – 526 – 374
11 e 36	C – 374 – 526
12 e 37	C – 526 – 374
13 e 38	C – 374 – 526
14 e 39	C – 526 – 374
15 e 40	C – 374 – 526
16 e 41	C – 526 – 374
17 e 42	C – 374 – 526
18 e 43	C – 526 – 374
19 e 44	C – 374 – 526
20 e 45	C – 526 – 374
21 e 46	C – 374 – 526
22, 47 e 50	C – 526 – 374
23 e 48	C – 374 – 526
24 e 49	C – 526 – 374
25	C – 374 – 526

Tabela 4.3 – Aleatorização das amostras de Leite Condensado

Provedores	Sequência de amostras servidas (da esquerda para a direita)
1 e 26	C – 952 – 681
2 e 27	C – 681 – 952
3 e 28	C – 952 – 681
4 e 29	C – 681 – 952
5 e 30	C – 952 – 681
6 e 31	C – 681 – 952
7 e 32	C – 952 – 681
8 e 33	C – 681 – 952
9 e 34	C – 952 – 681
10 e 35	C – 681 – 952
11 e 36	C – 952 – 681
12 e 37	C – 681 – 952
13 e 38	C – 952 – 681
14 e 39	C – 681 – 952
15 e 40	C – 952 – 681
16 e 41	C – 681 – 952
17 e 42	C – 952 – 681
18 e 43	C – 681 – 952
19 e 44	C – 952 – 681
20 e 45	C – 681 – 952
21 e 46	C – 952 – 681
22, 47 e 50	C – 681 – 952
23 e 48	C – 952 – 681
24 e 49	C – 681 – 952
25	C – 952 – 681

Ao servir-se as amostras foi pedido aos provedores que experimentassem as amostras da esquerda para a direita, de forma que a amostra controle sempre fosse experimentada primeiro e em seguida preenchessem uma ficha conforme Figura 4.3, comparando as amostras ao controle.

PRODUTO: LEITE OU LEITE CONDENSADO

Você está recebendo uma amostra controle (C) e 2 amostras codificadas. Compare cada amostra com o controle e identifique se é melhor, igual ou pior que o controle em relação ao sabor.

Em seguida, assinale o grau de diferença de acordo com a escala:

- 1 - Extremamente melhor que o controle.
- 2 - Muito melhor que o controle.
- 3 - Regularmente melhor que o controle.
- 4 - Ligeiramente melhor que o controle.
- 5 - Nenhuma diferença do controle.
- 6 - Ligeiramente pior que o controle.
- 7 - Regularmente pior que o controle.
- 8 - Muito pior que o controle.
- 9 - Extremamente pior que o controle.

Nº da amostra	Valor

Figura 4.3 – Ficha fornecida aos provadores na análise sensorial (DUTCOSKY, 2009).

CAPÍTULO 5

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Inicialmente percebe-se visualmente diferença de cor entre as amostras tradicionais e as com baixo teor de lactose, sendo as versões zero lactose mais escuras conforme Figuras 5.1 e 5.2. Isso se deve como já exposto pelas reações de Maillard intensificadas após a hidrólise da lactose, a diferença é ainda maior para o leite condensado devido a maior concentração de açúcares.



Figura 5.1- Amostra de leite tradicional á esquerda e leite zero lactose á direita



Figura 5.2 - Amostra de leite condensado zero lactose á esquerda e leite condensado tradicional á direita

Na Figura 5.3 podemos observar os resultados qualitativos da análise sensorial para as amostras de leite semidesnatado zero lactose em relação a amostra controle (leite tradicional) .

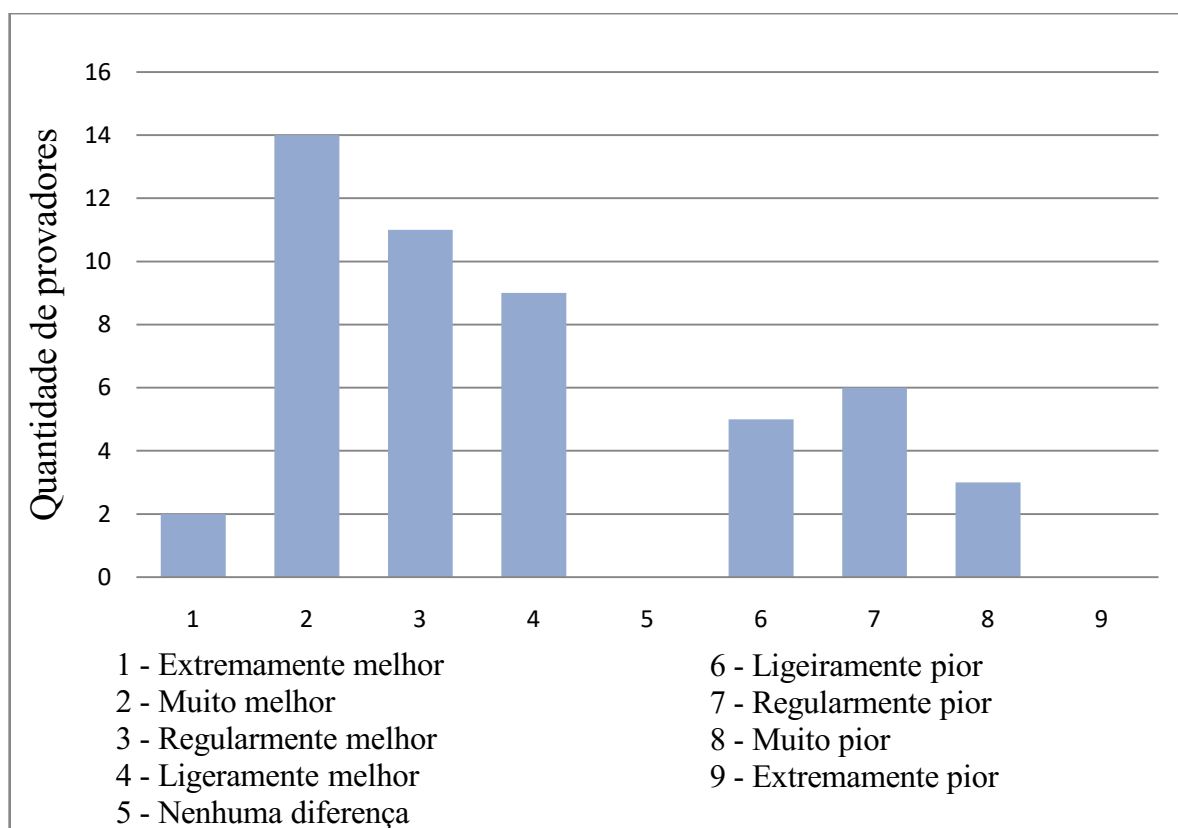


Figura 5.3 – Quantidade de provadores por valor atribuído as amostras de leite zero lactose em relação ao controle.

Observa-se que 72% dos provadores atribuíram valores de 1 a 4 as amostras zero lactose, ou seja, a consideraram melhor que a amostra controle.

Enquanto que na Figura 5.4 observa-se os resultados qualitativos para as amostras de leite condensado zero lactose comparada a amostra controle. Percebe-se que 50% dos provadores atribuíram nota inferior a 4 o que indica preferência equiparada entre os produtos.

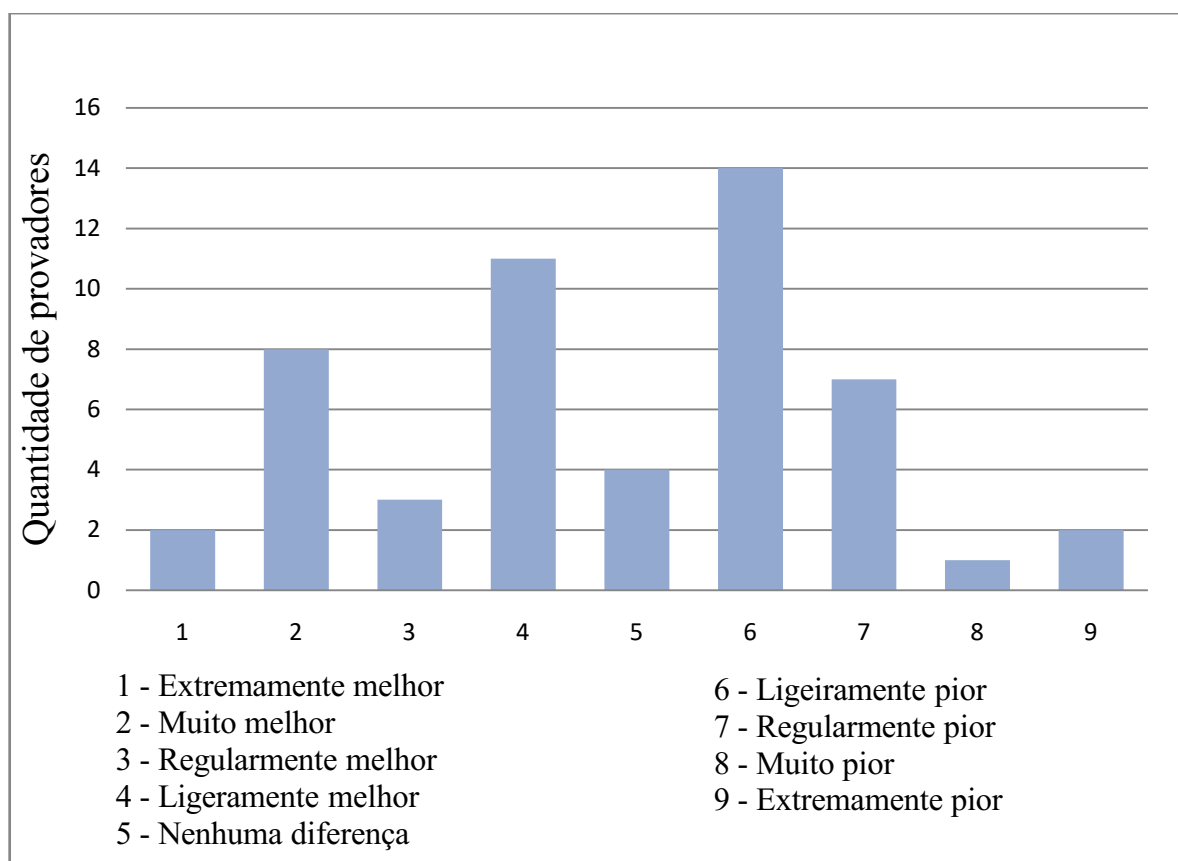


Figura 5.4 - Quantidade de provadores por valor atribuído as amostras de leite condensado zero lactose em relação ao controle.

Na Tabela 5.1 são apresentados os resultados encontrados após análise estatística básica de cada uma das amostras em relação à amostra controle.

Tabela 5.1 – Resultados de média e variância para as amostras de leite.

<i>Grupo</i>	<i>Contagem</i>	<i>Soma</i>	<i>Média</i>	<i>Variância</i>
Leite tradicional	50	235	4,7	1,846939
Leite zero lactose	50	193	3,86	4,286122

Após a análise ANOVA (Análise de variância) encontraram-se os seguintes resultados para as amostras de leite, conforme tabela 5.2.

Tabela 5.2 – Resultados ANOVA para as amostras de leite.

<i>Fonte da variação</i>	<i>SQ</i>	<i>GL</i>	<i>MQ</i>	<i>F</i>	<i>valor-P</i>	<i>F crítico</i>
Entre grupos	17,64	1	17,640000	5,752429	0,0183	3,938111
Dentro dos grupos	300,52	98	3,066531			
Total	318,16	99				

Sendo,

SQ = soma dos quadrados

GL = graus de liberdade

MQ = média dos quadrados

F = parâmetro estatístico dado pela razão de MQ entre grupos e MQ dentro dos grupos

Valor-P = parâmetro estatístico

F crítico = parâmetro tabelado.

Dessa forma a amostra de leite zero lactose foi considerada ligeiramente melhor que o leite tradicional, já que obteve média de escore 3,86. Como F foi maior que $F_{\text{crítico}}$, houve diferença significativa entre as amostras tradicional e zero lactose, a 5% de significância. Esse resultado pode ser atribuído ao sabor levemente mais adocicado do leite com baixo teor de lactose.

Longo e Waszczynskyj (2005) também verificaram diferenças na comparação sensorial de leites UHT, em que o leite com baixo teor de lactose apresentou textura significativamente mais espessa e sabor doce mais intenso que o leite com teor de lactose normal.

Repetindo as análises para as amostras de leite condensado podemos observar os resultados nas Tabelas 5.3 e 5.4.

Tabela 5.3 - Resultados de média e variância para as amostras de leite condensado

<i>Grupo</i>	<i>Contagem</i>	<i>Soma</i>	<i>Média</i>	<i>Variância</i>
Leite condensado tradicional	52	222	4,269231	2,004525
Leite condensado zero lactose	52	247	4,75	4,387255

Tabela 5.4 - Resultados ANOVA para as amostras de leite condensado

<i>Fonte da variação</i>	<i>SQ</i>	<i>GL</i>	<i>MQ</i>	<i>F</i>	<i>valor-P</i>	<i>F crítico</i>
Entre grupos	6,0096154	1	6,009615	1,88042	0,173296	3,934253
Dentro dos grupos	325,98077	102	3,19589			
Total	331,99038	103				

A amostra de leite condensado zero lactose pode ser considerada sem diferença em relação ao leite condensado tradicional, pois obteve média de escore 4,75. Como F foi menor que $F_{\text{crítico}}$, não houve diferença significativa entre as amostras tradicional e zero lactose, a 5% de significância. Isso provavelmente se deu ao produto ter sabor doce intenso o que dificulta comparação entre as amostras.

CAPÍTULO 6

CONCLUSÕES

Portanto pelo exposto conclui-se que:

- Os produtos com baixo teor de lactose são cada vez mais necessários e por isso vem sendo amplamente estudados.
- A regulamentação de produtos com baixo teor de lactose passou por recente readequação se tornando mais rigorosa, pois é crescente o número de intolerantes a lactose.
- Existem diversos processos para produção de leite com baixo teor de lactose seja por método enzimático, método de separação ou combinação de métodos. Dentre esses métodos o mais simples que requer menos equipamentos e tem menor custo relativo é o método de hidrólise enzimática em tanques.
- Os derivados de leite com baixo teor de lactose geralmente são produzidos a partir do leite já sem lactose. Com exceção dos iogurtes e queijos em que pode ocorrer simultaneamente o processo de fermentação e de hidrólise, visto que o processo de fermentação consome lactose.
- O processo de hidrólise da lactose altera as características organolépticas do produto aumentando a doçura e favorecendo o escurecimento e caramelização. Entretanto essas novas características são bem aceitas pelos consumidores. Houve diferença significativa entre as amostras de leite das diferentes versões a 5% de significância e o leite zero lactose foi o preferido. Enquanto que para o leite condensado não houve diferença entre as amostras a 5% de significância.
- O aumento da doçura faz o leite zero lactose ser preferido em relação ao tradicional. Já para o leite condensado as versões com e sem tiveram preferências equiparadas.
- O processo tradicional de hidrólise de lactose se mostra então ainda totalmente viável, por ser um processo simples relativamente barato e que garante propriedades organolépticas aceitáveis.

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICAS

AROLA H, TAMM A. Metabolism of lactose in the human body. Scand J Gastroenterol, v.5, p. 22-29, 1994.

BAILEY J. E.; OLLIS D. F. Biochemical Engineering Fundamentals. Second edition. New York, 1986.

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

BASTOS, D.M.; MONARO, E.; SIGUEMOTO, E.; SÉFORA, M. Maillard Reaction Products in Processed Food: Pros and Cons. Agricultural and Biological Sciences. 2012.

BLOWEY, R. W. Factors Affeting Milk Quality. In: Bovine Medicine. Diseases and husbandry of cattle. Oxford: Blackwell, 1992, p. 329 – 334, 1992.

BRANS, G.; SCHROEN, C.G.P. H.; VAN DER SMAN R.G.M.; BOOM, R.M. Membrane fractionation of milk: state of the art and challegens. Journal of Membrane Science. 243, 263-272, 2004.

BRASIL. Ministério da Saúde, Agência nacional de Vigilância Sanitária. Portaria n. 29, 13 de Janeiro de 1998. Diário Oficial da União, Brasília, 1998.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n.51. Diário Oficial da União. Brasília: MAPA, 2002.

BRASIL. Agência nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº135. Diário Oficial da União. Brasília: 2017.

CAMPBELL, M. K. Bioquímica. Porto Alegre: Artmed Editora, 2000. 3ª ed, 751p.

CHIBATA I. Immobilized Enzymes-Research and Development. Tokyo. Kadansha Ltd. 1978.

CRUZ, C. K. N. V. Síndrome do intestino irritável: aspectos clínicos, psicológicos e nutricionais, associação entre trânsito orocecal prolongado e supercrescimento bacteriano. Tese (Doutorado em Clínica Médica), Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2016, 126p.

DUTCOSKY, S. D. Análise sensorial de alimentos. Curitiba: Champagnat, 2009. 2ªed, 426 p.

DWEVEDI, A.; KAYASTHA, A.M. Optimal immobilization of β -galactosidase from Pea (PsBGAL) onto Sephadex and chitosan beads using response surface methodology and its applications. Bioresource Technology, v.100, p. 2667-2675, 2009.

DZIALANSKI, Z.; BARANY, M.; ENGFELDT, P.; MAGNUNSON, A.; OLSSON, L. A.; NILSSON, K. T. Lactose persistence versus lactose intolerance: Is there an intermediate phenotype? Clinical Biochemistry. Sweden, v. 49, p. 248-252, 2016.

ESCOBAZA, P. M. L.; FERNANDES, M. I. M.; PERES, L. C.; EINERHAND, A. W. C.; GALVÃO, L. C.; Adult- type hypolactasia: clinical, morphologic and functional characteristics in Brazilian patients at a university hospital. J Pediatr Gastroenterol Nutr, v. 39, p. 361-365, 2004.

FAEDO, R.; BRIÃO, V.B.; CASTOLDI, S.; GIRARDELLI, L.; MILANI, A. Obtaining of milk with low lactose process for separation membranes by associated with enzymatic hydrolysis. Revista CIATEC – UPF, 3, 44-54, 2013.

FINOT, P. A. Historical perspective of the Maillard reaction in food science. Ann NY Acad Sci. v. 1043, p.1-8, 2005.

FISCHER, J. Hidrólise de lactose por β -galactosidase de *Aspergillus oryzae* imobilizada em reator de leito fixo. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, Minas Gerais, 136 p., 2010.

GÄNZLE, G. M.; HAASE, G.; JELEN, P. Lactose: Crystallization, Hydrolysis and Value-added Derivates. International Dairy Journal. Canadá, p. 685-694, 2008.

GÉKAS, V.; LOPEZ-LEIVA, M. Hidrolysis of lactose: A Literature Review. Process Biochemistry, v. 20, pp. 2-12, 1985.

GIST-BROCADES, Dairy Ingredients Group. Maxilact: the dairy yeast lactase. In: Biotechnology contributing to food, health and the environment. The Netherlands: Girst-Brocades BSD B.V., 2004. 12p.

GÓMEZ, L., RAMÍREZ H. L., VILLALONGA M. L., HERNÁNDEZ J., VILLALONGA R. Immobilization of chitosan-modified invertase on alginate-coated chitin support via polyelectrolyte complex formation. Enzyme and Microbial Technology, 2005.

GOSLIN, A.; STEVENS, G.; BARBER, A.R.; KENTISH, S.E.; GRAS, S.L. Recent advances refining galactooligosaccharide production from lactose. Food Chemistry, v.121, n.2, p.307-318, 2010.

GOURSAUD, J. La leche de vaca: composición y propiedades físico-químicas. In: LUQUET, F. M. Leche y productos lácteos: la leche de la mama a la lechería. Zaragoza: Acribia, 1991, v. 1, parte 1, cap. 1, p. 3-92.

GROSOVÁ, Z.; ROSENBERG, M.; REBROS, M. Perspectives and applications of immobilized β -galactosidase in food industry – a review. Czech Journal Food Sciences, v. 26, n.1, p.1-14, 2008.

HAIDER, T.; HUSAIN, Q. Hydrolysis of milk/whey lactose by β - galactosidase: A comparative study of stirred batch process and packed bed reactor prepared with calcium alginate entrapped enzyme. Chemical Engineering and Processing: Process Intensification. India, v.48, p. 576-580,2009.

HARJU, M. E. A process for specific separation of lactose from milk. European Patent Specification, Finlândia, 1990. Número da patente: EP 0 226 035 B1.

HARJU, M. ; KAILLIONEN, H.; TOSSAVAINEN, O. Lactose hydrolysis and other conversions in dairy products : Technological aspects. International Dairy Journal, Finlândia, v. 22, p. 104- 109, 2012.

HEYMAN, S.R. Lactose intolerance in infants, children, and adolescents. Pediatrics, v.3, p. 1279-1286, 2006.

HU, K.; DICKSON, J. Membrane Processing for Dairy Ingredient Separation. 1 ed. New York, 2015.

<http://portal.anvisa.gov.br/noticias/rotulagem-de-lactose-em-alimentos-tem-regra-publicada/>
Acessado em 27/06/2017

<http://www.ibge.gov.br/> Acessado em 18/09/2017

KENNEDY, J.F., CABRAL, J.M.S. Enzyme immobilization. Enzyme Technology, 1987.

KRAJEWSKA, B. Appication of chitin- and chitosan-based materials for enzyme immobilizations: a review. Enzyme and Microbial technology, New York, v. 35, p. 126-134, 2004.

LADERO, M.; SANTOS, A.; GARCIA-OCHOA, F. Kinetic modeling of lactose hydrolysis with an immobilized β -galactosidase from *Kluyveromyces fragilis*. Enzyme and Microbial Technology, v. 27, n. 8, p. 583-592, 2000.

LEITE, J.L.B. Comércio Internacional de Lácteos, 2. ed. rev. e ampl. – Juiz de Fora : Embrapa Gado de Leite, 350 p., 2009.

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

LONGO, G. Influência da adição de lactase na produção de iogurte. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos), Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2006, 109p.

LONGO, G. WASZCZYNSKYJ, N. Avaliação sensorial de leite UHT com baixo teor de lactose. In: XXII CONGRESSO NACIONAL DE LATICÍNIOS, 2005, Juiz de Fora. Anais Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes, Juiz de Fora, v. 60, n. 345, 2005, p. 77-80.

LUIZ, C. F. V.; SPERIDIÃO, P. G. L.; FAGUNDES NETO, U. Terapia Nutricional nas intolerâncias e alergias alimentares. The Eletronic Journal of Pediatric Gastroenterology, Nutrition and Liver Diseases, São Paulo, v. 9, n. 2, s/p, 2005

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

MAHONEY, R.R. β -Galactosidase. In: Handbook of Food Enzymology, Nova York: Marcel Dekker, Inc.; 2003.

MARTINS, S. I. ; JONGEN W.M; BOEKEL, M. A. A review of Maillard reaction in food and implications to kinetics modeling. Trends Food Sci Technol. v. 11, p. 9-10, 2000.

MATEO, C.; PALOMO, J. M.; FERNANDEZ-LORENTE, G.; GUISÁN, J. M.; FERNANDEZ-LAFUENTE, R. Improvement of enzyme activity, stability and selectivity via immobilization techniques. Enzyme and Microbial Technology, v. 40, p. 1451 – 1463, 2007.

MATTHEWS, S. B. Systemic lactose intolerance: a new perspective on an old problem. Postgrad Med J, v.81, p. 167-173, 2005.

MARIOTTI, M. P. Hidrólise da lactose de soro de leite por meio de β -galactosidase imobilizada. Dissertação (Mestrado em Química) - Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, São Paulo, 2000.

Mc SWEENEY, P. L. H.; FOX, P. F. Advanced Dairy Chemistry: lactose, water, salts and minor constituents, 3. ed., New York, Springer, 2009. 778 p.

MÜLLER, E. E. Qualidade do leite, células somáticas e prevenção da mastite. In: Simpósio sobre Sustentabilidade da Pecuária Leiteira na Região Sul do Brasil, 29-30 de agosto de 2002, Toledo- PR. Anais do II Sul- Leite. Maringá: UEM/CCA/DZO – NUPEL, 2002, p. 206-217.

NERI, D.F.M.; BALCÃO, V.M.; DOURADO, F.O.Q.; OLIVEIRA, J.M.B.; CARVALHO Jr, L.B.; TEIXEIRA, J.A. Galactooligosaccharides production by β galactosidase immobilized onto magnetic polysiloxane-polyaniline particles. Reactive & Functional Polymers, v.69, p.264-251, 2009.

OBÓN, J.M.; CASTELLAR, M.R.; IBORRA, J.L.; MANJÓN, A. B-galactosidase immobilization for Milk lactose hydrolysis: A simple experimental and modelling study of batch and continuous reactors. Biochemical education, v. 28, n. 3, p. 164-168, 2000.

PAAJANEN, L.; TUURE, T.; POUSSA, T.; KORPELA, R. No difference in symptoms during challenges with homogenized and unhomogenized cow's Milk in subjects with subjective hypersensitivity to homogenized Milk. Journal of Dairy Research, v. 70, p. 175-179, 2003.

PALERMO, J. R. Análise sensorial: fundamentos e métodos. Rio de Janeiro, Atheneu, 2015. 170 p.

PARK, A. R, OH, D. K. Galacto-oligosaccharide production using microbial β - galactosidase: current state and perspectives. Applied Microbiology and Biotechnology, v. 85, p. 1279-1286, 2010.

PASSELLA, C.C.B.; DELLAMORA-ORTIZ, G.; BETANCOR, L.; FUENTES, M.; GUISAN, M.J.; FERNANDEZ-LAFUENTE, R. Modulation of the catalytic properties of multimeric β -galactosidase from E. coli by using different immobilization protocols. Enzyme and Microbial Technology, v.33, p.199-205. 2003.

PEREIRA, A. F.; ASSIS, F. C. C.; MELO, R. N.; CUNHA, L. R.; SOARES, N. F. F. Filme ativo para reduzir teor de lactose do leite. Instituto Nacional de propriedade Industrial, Viçosa, 2007. Número da patente PI 0704810-6.

PETROVA, V. Y.; KUJUMDZIEVA, A. V. Thermotolerant yeast strains producers of galactooligosaccharides. Biotechnology & Biotechnological Equipment, v.24, n.1, p. 1612-1619, 2010

PORTO, L.M. Estudo e Determinação das Melhores Condições Operacionais do Processo de Produção da Ricota. Tese de Mestrado, Faculdade de Engenharia Química, UFMG, 2001.

REVISTA ADITIVOS E INGREDIENTES. São Paulo, Insumos, 2015. v.120.

RODRIGUEZ, V.A., CRAVERO, B.F., ALONSO, A. Proceso de elaboración de yogur deslactosado de leche de cabra. Ciência e Tecnologia de Alimentos, v. 28, p. 109-115, 2008.

ROSEVEAR, A. Immobilized Biocatalysts – a critical review. Journal of Chemical Technology and Biotechnology B – Biotechnology, Oxford, v. 34, n. 3, p. 127-150, 1984.

SANTOS, R.; SIMIQUELI, A.P.R.; PASTORE, G.M. Produção de galactooligossacarídeo por *Scopulariopsis* sp. Ciência e Tecnologia de Alimentos, v.29, n.3, p. 682-689, 2009.

SHELDON, R. A. Enzyme Immobilization: The Quest for Optimum Performance. Advanced Synthesis & Catalysis v. 349, p. 1289-1307, 2007.

SZYMANSKA K.; BRYJAK J.; MROWIEC-BIALON J.; JARZEBSKI A. B. Application and Properties of Siliceous Mesostructured Cellular Foams as Enzymes Carriers to Obtain Efficient Biocatalysts. Microporous and Mesoporous Materials. v. 99, p. 167-175, 2007.

SMID, B. J. Perspectivas do setor lácteo no mercado internacional. Leite e Derivados: Balança, mas não cai. Informa exhibitions. São Paulo, 2015.

TIKANMÄKI, R.; KALLIOINEN, H. Produto de leite livre de lactose e de baixa lactose e processo para a produção destes. Instituto Nacional de Propriedade Industrial, Brasil, 2017. Número da patente PI 0917837-6 B1.

TOSSAVAINEN, O.; SAHLSTEIN, J. Process for producing a lactose-free milk product. World Intellectual Property Organization, Suíça, 2003. Número da patente WO 03/094623.

VIEIRA, C. D. Imobilização da enzima β -galactosidase de *Kluyveromyces fragilis* em agarose e quitosana utilizando diferentes protocolos de ativação. Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2009

ZADOW, J. G. Lactose – properties and uses. Journal of dairy science, v. 67, n. 11, p. 2654-2679, 1984.