

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
ESPECIALIZAÇÃO EM GESTÃO DA QUALIDADE NA TECNOLOGIA DE
ALIMENTOS

DÉBORA TONETTI

**LEITE SEMI-DESNATADO ULTRAPASTEURIZADO COM TEOR
REDUZIDO DE LACTOSE
ATRAVES DO MÉTODO ENZIMÁTICO**

MONOGRAFIA DE ESPECIALIZAÇÃO

Francisco Beltrão
2015

Débora Tonetti

**LEITE SEMI-DESNATADO ULTRAPASTEURIZADO COM TEOR
REDUZIDO DE LACTOSE
ATRAVES DO MÉTODO ENZIMÁTICO**

Monografia, apresentada ao Curso de Especialização em Gestão da Qualidade na Tecnologia de Alimentos, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, câmpus Francisco Beltrão, como requisito parcial para obtenção do título de Especialista em Gestão da Qualidade na Tecnologia de Alimentos.

Orientador: Prof^a Andréa Cátia Leal Badaró.

FRANCISCO BELTRÃO
2015

TERMO DE APROVAÇÃO

**LEITE SEMI DESNATADO ULTRAPASTEURIZADO COM TEOR REDUZIDO DE
LACTOSE ATRAVES DO MÉTODO ENZIMÁTICO**

por

DÉBORA TONETTI

Esta Monografia de especialização foi apresentada em 12 de Setembro de 2015 como requisito parcial para a obtenção do título de Especialista em Gestão da Qualidade na Tecnologia de Alimentos. A candidata foi arguida pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho aprovado.

Dra. Andréa Cátia Leal Badaró
Prof.(a) Orientador(a)

Dra. Vânia de Cássia da Fonseca Burgardt
Membro titular

Dra. Camila Nicola Boeri Di Domênico
Membro titular

Dra. Tânia Maria Cassol
Membro titular

Dedico este trabalho à minha família e
amigos que me ajudaram ao fim de mais
uma conquista, obrigada.

AGRADECIMENTOS

Certamente estes parágrafos não irão atender a todas as pessoas que fizeram parte dessa importante fase de minha vida. Portanto, desde já peço desculpas àquelas que não estão presentes entre essas palavras, mas elas podem estar certas que fazem parte do meu pensamento e de minha gratidão.

Agradeço primeiramente a Deus, aos amigos e professores, pela sabedoria com que me guiaram nesta trajetória.

Gostaria de deixar registrado também, o meu reconhecimento à minha família, meu marido Paulo Donizete dos Santos nosso filho Adan Gabriel dos Santos, pela cooperação, ao meu pai Orilho Tonetti e minha mãe Neusa Tonetti, pois acredito que sem o apoio deles seria muito difícil vencer mais esse desafio.

Enfim, a todos os que por algum motivo contribuíram para a realização desta pesquisa.

Superar o fácil não tem mérito,
é obrigação; vencer o difícil é glorificante;
ultrapassar o outrora impossível é esplendoroso.
(*FONTELES, Alexandre, 2003*)

RESUMO

TONETTI, Débora. **Leite semi-desnatado ultrapasteurizado com teor reduzido de lactose através do método enzimático.** 2015. 35p. Monografia de Especialização (Especialização em Gestão da Qualidade na Tecnologia de Alimentos) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Francisco Beltrão, 2015.

O leite é o alimento mais consumido pela população humana em todas as faixas etárias, sendo considerado um dos mais completos alimentos *in natura* nas dietas alimentares. No entanto cerca de 70 % da população mundial é intolerante à lactose, sendo incapaz de ingerir o principal carboidrato (lactose) do leite e de seus derivados. Com o mercado ainda pouco explorado no Brasil nessa linha de leites e derivados lácteos especiais (sem lactose). Esta pesquisa teve por objetivo estudar a melhor condição de hidrólise da lactose na obtenção de um leite semidesnatado ultrapasteurizado com restrição à lactose, sem que houvesse alterações nas características do produto final. Também foi realizada análise sensorial com quatro marcas de leite para dietas com restrição a lactose. Concluiu-se que o leite semidesnatado apresentou a melhor hidrólise de lactose em maiores temperaturas de estocagem.

Palavras chave: Leite UHT, Intolerância a Lactose. Análise Sensorial.

ABSTRACT

TONETTI, Débora. **Semi-skimmed milk ultrapasteurizado with reduced lactose content through the method enzymatic.** 2015. 35p. Monografia de Especialização (Especialização em Gestão da Qualidade na Tecnologia de Alimentos- Federal Technology University - Paraná) Francisco Beltrão, 2015.

Milk is the food most consumed by the human population in all its age, is the most complete food "in nature" in diets. But about 70% of the world population is lactose intolerant, being unable to ingest the main carbohydrate (lactose) in milk and its derivatives. With little explored market in Brazil this line of milk and special dairy products (lactose). This study aimed to found best lactose hydrolysis condition in obtaining semi-skimmed milk ultrapasteurizado with restriction lactose, without that there were changes in the characteristics of the final product. It will also conducted sensory analysis with four mark the milks for diets with lactose restriction. It was concluded that the milk semi-skimmed had a best breaking of lactose in greater storage temperature.

Keywords: UHT Milk. Lactose Intolerance. Sensory analysis.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Crioscopia e Tempo da hidrólise da lactose em 4 °C.	22
Figura 2 - Crioscopia e Tempo da hidrólise da lactose em 25 °C.....	23
Figura 3 - Crioscopia e Tempo da hidrólise da lactose em 35 °C.....	23
Figura 4 - Resultados das análises sensoriais de intenção de compra.....	27
Figura 5 - Resultados das análises sensoriais de preferência	28

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Parâmetros de qualidade para o leite ultrapasteurizado	16
Tabela 2 - Parâmetros microbiológicos para o leite ultrapasteurizado	17
Tabela 3 - Resultados da hidrólise e porcentagem da lactose.....	24
Tabela 4 - Resultados microbiológicos do leite antes e depois da hidrólise da lactose.	24
Tabela 5 - Resultados físico-químicos do leite ultrapasteurizado com e sem lactose.	25
Tabela 6 - ANOVA das médias obtidas da avaliação sensorial dos atributos cor, sabor, aroma e impressão global, considerando $p < 0,05$	25
Tabela 7 - Resultados de classificação das médias de acordo com teste de Tukey	26

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 OBJETIVOS	14
2.1 Objetivo geral.....	14
2.2 Objetivos específicos	14
3 REFERENCIAL TEÓRICO	15
3.1 Leite	15
3.2 Leite ultrapasteurizado	15
3.3 Lactose	17
3.4 Intolerância a lactose.....	17
3.5 Hidrólise induzida da lactose no leite UHT	18
4 MATERIAIS E METODOS	20
4.1 Produção do leite semidesnatado com restrição a lactose.....	20
4.2 Análise sensorial.....	21
4.3 Análise microbiológica.....	21
4.4 Análise físico-química.....	21
4.5 Análise estatístico de dados.....	22
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	22
5.1. Determinação da melhor condição da hidrólise da lactose	22
5.2 Avaliação microbiológica do leite	24
5.3 Avaliação físico-química do leite	25
5.4 Avaliação sensorial	25
5.4.1 Teste de aceitabilidade.....	26
5.4.2 Intenção de Compra.....	27
5.4.3 Teste de Preferencia.....	28
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	30
REFERÊNCIAS	30
APÊNDICE A	33
APÊNDICE B	35

1 INTRODUÇÃO

O leite é considerado o mais nobre dos alimentos e importante na alimentação, devido ao seu elevado valor nutritivo, como fonte de proteínas, carboidrato, lipídios, minerais e vitaminas (REZER, 2010).

O leite tem sido utilizado na alimentação humana por todas as faixas etárias, por ter uma equilibrada composição de nutrientes resulta-se em elevado valor biológico, é considerado um dos mais completos alimentos *in natura* (TRONCO, 2008).

Com o intuito de garantir a qualidade dos alimentos, à aplicação de tratamentos térmicos (processo onde mantém o produto final livre de contaminação) tem ocupado um espaço relevante na evolução da tecnologia alimentar. O leite tratado à ultra-alta temperatura, também conhecido como leite UHT (*ultra high temperature*) tornou-se um produto de destaque com fácil comercialização e consumo, pois possui uma significativa vida de prateleira, e mesmo sem refrigeração o produto apresenta características bacteriológicas, físicas e químicas aceitáveis (VIDAL et al.,2005).

Entretanto, apesar de o leite ser o produto mais consumido, cerca de 70 % da população do mundo não pode consumir leite na sua forma natural por ser incapaz de digerir a lactose, principal carboidrato do leite e seus derivados (TREVISAN, 2008), isso em função da deficiência de síntese ou ausência da enzima β -galactosidase ou lactase. Esta enzima possibilita a hidrólise da molécula deste carboidrato em monossacarídeos (galactose e glicose), facilitando a sua absorção pelo intestino (LONGO, 2006) e evitando sua fermentação pela microbiota intestinal.

Uma das alternativas para pessoas com intolerância à lactose é o consumo de produtos sem lactose; por tal motivo, é importante que as indústrias busquem tecnologias no processo de leites e derivados lácteos que garantam produtos lácteos sem lactose.

Sendo assim, esse trabalho teve como objetivo geral, avaliar as características físico-químicas, microbiológicas e realizar avaliação sensorial do leite semidesnatado ultrapasteurizado, após a aplicação da enzima lactase.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a hidrólise da lactose em leite semidesnatado ultrapasteurizado, suas características microbiológicas, físico-químicas e aceitação sensorial.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Acompanhar a intensidade de hidrólise da lactose em diferentes temperaturas;
- Realizar análises das características físico-químicas do leite semidesnatado hidrolisado e sem hidrólise, através de análises de pH, acidez titulável, gordura, densidade, teste de alizarol, extrato seco desengordurado e crioscopia;
- Analisar as características microbiológicas do leite semidesnatado hidrolisado e sem hidrólise, através de análises de mesófilos aeróbios totais e esterilidade comercial;
- Comparar a aceitação da amostra do leite desenvolvido com amostras de leite com teores reduzidos de lactose de diferentes marcas comercialmente disponíveis.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 LEITE

O Brasil é o quarto maior produtor de leite, ficando atrás dos Estados Unidos, Índia e China (FAO, 2015). Dentre os estados brasileiros, os maiores produtores de leite são Minas Gerais, Rio Grande do Sul, Paraná e Goiás respectivamente (IBGE, 2015).

Fisiologicamente, define-se como Leite o produto da secreção mamária de animais mamíferos. Segundo a Instrução Normativa nº 62/2011 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento do Governo Brasileiro (MAPA), denomina-se leite, sem outra especificação, o produto normal, fresco, integral, oriundo da ordenha completa e ininterrupta, com condições de higiene adequada de vacas saudáveis, descansadas, bem alimentadas. O leite de outros animais deve denominar-se segundo a espécie do animal (BRASIL, 2011).

De acordo com as características físico-químicas, o leite é uma mistura homogênea de diferentes substâncias como água, proteína, lactose, gordura, sais minerais e vitaminas. É um líquido branco-opaco, com pequenas variações de cor, que são resultados da reflexão da luz nos glóbulos de gordura, dos fosfatos insolúveis e da caseína. Seu sabor é levemente adocicado, resultado do equilíbrio entre os diferentes componentes, como a lactose (responsável pelo doce), o NaCl (salgado), a gordura e as proteínas (KOBBLITZ, 2011).

3.2 LEITE ULTRAPASTEURIZADO

Para garantir a qualidade dos alimentos, a aplicação do tratamento térmico tem ocupado um espaço relevante na evolução da tecnologia alimentar. O leite tratado à ultra-alta temperatura (UAT ou UHT, do inglês *ultra-high temperature*) tornou-se um produto de destaque com fácil comercialização e consumo, tendo uma vida de prateleira (*shelf-life*) sem refrigeração de até 180 dias, período no qual o produto apresenta características bacteriológicas, físicas e químicas aceitáveis (VIDAL et al., 2005). O leite UHT é um produto bacteriologicamente estéril, que

mantem suas características sensoriais e nutritivas do produto fresco por um longo período, sendo assim conhecido como leite longa vida (TRONCO, 2008).

Para obtenção do leite UHT é necessário que ocorra a esterilização do leite através de uma ultra pasteurização e a mesma pode ocorrer de duas formas: através de um aquecimento direto ou indireto. No sistema de esterilização por aquecimento direto, o vapor sob elevada pressão pode ser misturado com o leite ou o leite pode ser pulverizado sobre o vapor, ambos ocasionam a adição de água no produto, a qual posteriormente é eliminada através de evaporação. Onde o vapor é injetado no leite, elevando a temperatura de 50°C a 80°C, fazendo com que de imediato a temperatura do produto atinja de 150 - 160°C, após em uma câmara de expansão, o vapor diminui a pressão e o leite se pulveriza nas paredes da câmara, eliminando o vapor de água que foi misturado anteriormente (TRONCO, 2008).

No sistema de esterilização por aquecimento indireto o vapor não se mistura com o leite, podendo ser realizado através de placas ou pasteurizadores tubulares. O leite no trocador de placas chega a uma temperatura de 65-75°C, passando por um homogeneizador, onde ocorre a esterilização, pois o leite atinge uma temperatura de 140 - 145°C e posteriormente é resfriado à 32°C e envasado em embalagens assépticas (TRONCO, 2008).

As características físico-químicas que o leite processado pelo sistema UHT deve apresentar estão expressas na Tabela 1.

Tabela 1 - Parâmetros de qualidade para o leite ultrapasteurizado

Requisitos	Leite Integral	Leite Semi ou Parcialmente Desnatado	Leite Desnatado
Matéria Gorda (g/100g)	Min. 3.0	6,0 a 2.9	Máx. de 0,5
Acidez (g ac. Lático/100mL)	0,14 a 0,18	0,14 a 0,18	0,14 a 0,18
Estabilidade ao etanol 68% (v/v)	Estável	Estável	Estável
Extrato seco desengordurado % (m/m)	Min. 8,2	Min. 8,2	Min. 8.4

Fonte: Portaria 370/1997 (BRASIL, 1997)

O leite UHT não deve apresentar microrganismos capazes de proliferar nas condições normais de armazenamento e na distribuição, onde permanece durante a incubação na embalagem fechada em temperaturas entre 25-37°C durante 7 dias

antes de sua liberação. O padrão microbiológico para este produto está indicado na Tabela 2.

Tabela 2 Parâmetros microbiológicos para o leite ultrapasteurizado

Requisito	Critérios de Aceitação	Categoria (I.C.M.S.F.)
Aeróbicos mesófilos *UFC/mL*	n= 5 c = 0 m = 100	10

Fonte: Portaria 370/1997 (BRASIL, 1997).

*Unidade Formadora de Colônia por mililitro

3.3 LACTOSE

Conhecido como o principal carboidrato do leite, a lactose tem uma concentração que varia de 0 a 10% em massa de açúcar, possuindo também traços de outros açúcares, sendo que o leite bovino tem a menor variação de lactose (4,4 a 5,2 % em massa) estando relacionada com a raça do animal também às concentrações de lipídios e caseína (SGARBIERI, 2012).

A lactose (Galactose β -1,4 glucose) é um dissacarídeo característico do leite, a qual é formada por dois carboidratos menores, a glicose e a galactose, e é considerada um açúcar redutor (JUNIOR, 2013).

A lactose pode sofrer reações de *Maillard*, proveniente de escurecimento não enzimático mediante aquecimento, essa reação é frequente em proteínas e açúcares redutores em alimentos (SGARBIERI, 2012).

A enzima β -galactosidase ou mais formalmente β -D galactosidase galactohidrolase é o nome utilizado para a lactase, as fontes para sua obtenção são: plantas, algumas espécies de rosas selvagens, organismos de animais, leveduras, fungos e bactérias. A legislação brasileira especifica por meio da Resolução RDC nº 348/2003, que a enzima lactase utilizada na indústria de alimentos deve ser de origem microbiana, proveniente da levedura *Kluyveromyces lactis* (LONGO, 2006).

3.4 INTOLERÂNCIA A LACTOSE

O modo como se manifesta a intolerância à lactose pode ser classificado em três grupos: adquirida, genética ou ainda transitória. A intolerância adquirida é aquela que se manifesta após uma inflamação ou relacionada ao dano permanente

na mucosa intestinal; normalmente apresenta-se em adultos. A intolerância genética ou congênita, manifestada em recém-nascidos, sendo uma condição permanente é uma deficiência muito rara. A intolerância transitória é usualmente temporária, é causada por um dano à mucosa intestinal. Quando esse dano é reparado, a mucosa regenera-se e passa a produzir lactase novamente (FAEDO, 2013).

Os sintomas causados pela intolerância a lactose estão relacionados com a mucosa intestinal, pessoas intolerantes apresentam uma absorção lenta ou nula da lactose, assim esse açúcar acumula no intestino delgado e a alta concentração leva ao acúmulo de água no intestino, gerando a diarreia. Outra complicação é que a microbiota local fermenta a lactose acumulada, produzindo gás ou inchaço, inflamação, desconforto abdominais e em casos mais graves pode levar à desidratação (KOBBLITZ, 2011).

A deficiência hipolactasia adulta, também conhecida como lactase primária, lactase não persistente ou deficiência de lactase hereditária, é a maior responsável pelos sintomas de má absorção de lactose. Essa deficiência apresenta grande variação de atividade enzimática em diferentes populações. Através de estudos verificou-se que algumas etnias são mais propensas a desenvolver hipolactasia como, por exemplo, a asiática e africana (FAEDO, 2013).

3.5 HIDRÓLISE INDUZIDA DA LACTOSE NO LEITE UHT

A hidrólise induzida (a quebra forçada) da lactose é uma das mais simples, consiste na produção de um xarope de doçura mais acentuada que o material de origem (lactose), além de gerar um substrato para os microrganismos. Esse xarope de lactose hidrolisado possui aplicações importantes nas indústrias de sorvetes, de produtos lácteos e outros. Essa hidrólise leva a formação dos monossacarídeos glicose e galactose, que ajudam a minimizar os efeitos causados por alimentos lácteos nos indivíduos que apresentam intolerância a lactose (SGARBIERI, 2012).

Essa operação oferece certas vantagens tecnológicas, na medida em que diminui os riscos de cristalização nos derivados lácteos e aumenta o poder adoçante. A hidrólise da lactose é um processo promissor para a indústria de alimentos, porque possibilita o desenvolvimento de novos produtos sem lactose em suas composições. No leite, existem dois métodos principais para a hidrólise da lactose: o método químico e o método enzimático. O método químico baseia-se na

utilização de ácidos muito fortes e não é utilizado em altas temperaturas, devido a possíveis problemas que podem ocorrer, como desnaturação de proteínas, alteração de sabor e cor nos alimentos (FAEDO, 2013).

O método enzimático para a hidrólise da lactose pode ser realizado de duas maneiras: na primeira, o leite cru passa por uma pasteurização (72°C durante 15 segundos) e após o resfriamento deste é realizada a adição da lactase, essa hidrólise ocorre dentro dos silos de armazenamento. Finalizada a hidrólise da lactose, é realizada a esterilização do leite e o envase asséptico. Na segunda maneira, o leite pasteurizado passa pelo processo de ultrapasteurização (UHT – 141°C por 5 segundos) e, após o resfriamento, adiciona-se a lactase e o leite é envasado em embalagem asséptica. A hidrólise da lactose ocorre no interior da embalagem. Sendo o método utilizado nesse estudo na indústria de Santa Catarina, através do uso de um equipamento que dosa a enzima lactase direto na linha de produção e segue para o envase. Para o controle do grau de hidrólise da lactose, se recomenda o uso da técnica de crioscopia, utilizando o princípio da depressão do ponto de congelamento (LONGO, 2006). Sendo que o leite apresenta um ponto de congelamento menor do que a água destilada, devido à sua composição apresentar minerais e açúcares dissolvido (MAXILACT, 2014).

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 PRODUÇÃO DO LEITE SEMIDESNATADO COM TEOR REDUZIDO DE LACTOSE

Este estudo foi realizado em cooperação com uma indústria de lácteos de Santa Catarina, que está desenvolvendo produtos para consumidores com restrição à lactose. O estudo foi realizado no período de janeiro de 2014 a junho de 2015.

A dosagem da enzima lactase ocorreu de forma direta após o processo de ultrapasteurização, por uso de um equipamento específico, no qual sendo que a concentração da enzima (Maxilact L2000®) foi ajustada para 0,3 g/L de leite. O produto posteriormente ao processo foi armazenado em três temperaturas: 4 °C, 25 °C e 35 °C e a hidrólise ocorreu dentro da própria embalagem.

A enzima utilizada na indústria é um preparado a base de lactase purificada isolada, obtida através da fermentação de uma cepa selecionada e específica da levedura *Kluyveromyces lactis*.

O acompanhamento da hidrólise da lactose foi realizado em diferentes intervalos de tempo: do primeiro até a terceiro dia de 3 em 3 horas, do quarto dia até o sexto dia de 12 em 12 horas, após o sexto dia de 8 em 8 dias; sendo que a hidrólise da lactose estabilizou em 87 horas. As análises foram determinadas pela medida direta através de um crioscópio eletrônico digital, marca ITR, modelo MK 540, realizada de acordo com Instrução Normativa nº. 68/2006 (BRASIL, 2006).

Com os resultados obtidos, realizou-se uma estimativa da porcentagem de hidrólise, aplicando-se a correlação crioscopia *versus* porcentagem de hidrólise conforme expresso na Equação 1, citada por Prozyn (2007).

$$\% \text{ de Hidrólise de Lactose} = (350.877 \times \text{Crioscopia Final}) - \left(\frac{\text{Crioscopia Inicial}}{0,00285} \right) \quad (1)$$

Os resultados das amostras com temperaturas de 4°C, 25 °C e 35 °C foram posteriormente confirmados por cromatografia líquida de alta performance (HPLC) (BURGNER; FEINHBERG, 1992) pelo laboratório ITAL. O tratamento foi encerrado quando a crioscopia estabilizou, parou de hidrolisar a crioscopia permaneceu a mesma.

Também foram realizadas análises físico-químicas e microbiológicas, que avaliaram se o produto se encontrava dentro dos padrões de segurança e qualidade para o consumo humano.

4.2 ANÁLISE SENSORIAL

Adicionalmente, foi realizada análise sensorial para comparar a aceitação do produto em questão com outras 3 marcas disponíveis nos mercados de Francisco Beltrão – PR e Pinhalzinho – SC, considerando características de sabor, cor, textura, aroma, impressão global. Foi realizado também teste de ordenação preferência e intenção de compra. Os testes foram realizados nos dias 15 e 16 de junho de 2015, no laboratório de Análises Sensorial da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Francisco Beltrão-PR, onde participaram 80 consumidores selecionados quanto ao habito de consumo de leite. As fichas elaboradas segundo QUEIROZ (2013), utilizadas nos testes encontram-se no apêndice A.

4.3 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS

Para realizar a avaliação da qualidade microbiológica do leite, utilizou se de duas análises, a esterilidade comercial e a análise de mesófilos deteriorantes. As análises microbiológicas para teste de esterilidade comercial foram realizadas baseadas nos métodos descritos pela *American Public Health Association* (APHA, 2004) e por Silva et al. (2007).

O método da análise para mesófilos deteriorantes baseou-se na Instrução Normativa nº 62/2003 (BRASIL, 2003).

4.4 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

As análises físico-químicas foram baseadas nos Métodos Analíticos Oficiais para Análises Físico-Químicas para Controle de Leite e produtos Lácteos descritos na Instrução Normativa nº 68/2006 (BRASIL, 2006). Ambas as análises foram realizadas no leite pré e pós a hidrólise.

4.5 ANÁLISE ESTATÍSTICAS DOS DADOS

Os resultados obtidos foram analisados no programa Estatística 7.0 por meio de análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas entre si através do teste de Tukey, ao nível de 5% de significância.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. DETERMINAÇÃO DA MELHOR CONDIÇÃO DA HIDRÓLISE DA LACTOSE

As figuras 1, 2 e 3, representam o comportamento da crioscopia em relação ao tempo de estocagem.

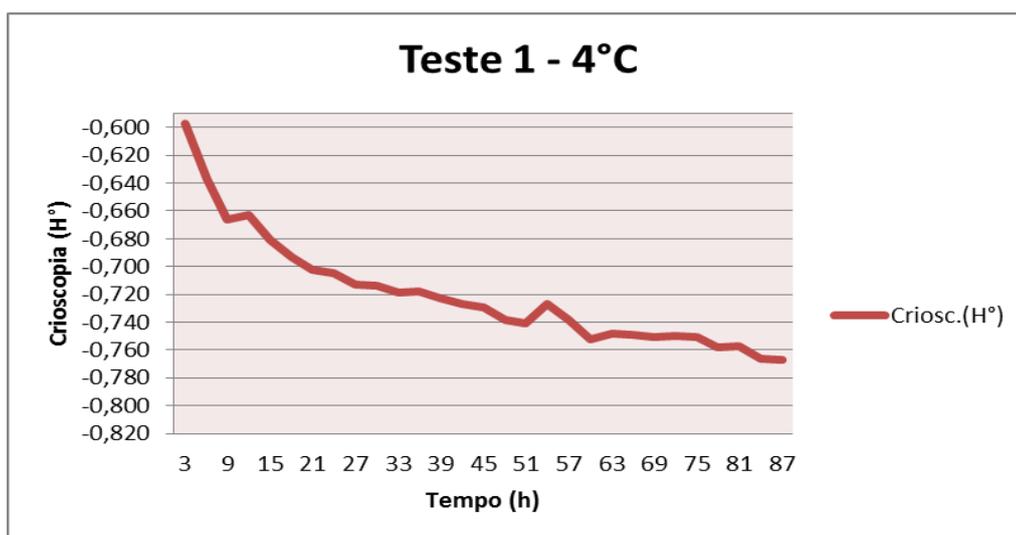


Figura 1 - Crioscopia e Tempo da hidrólise da lactose em 4 °C.

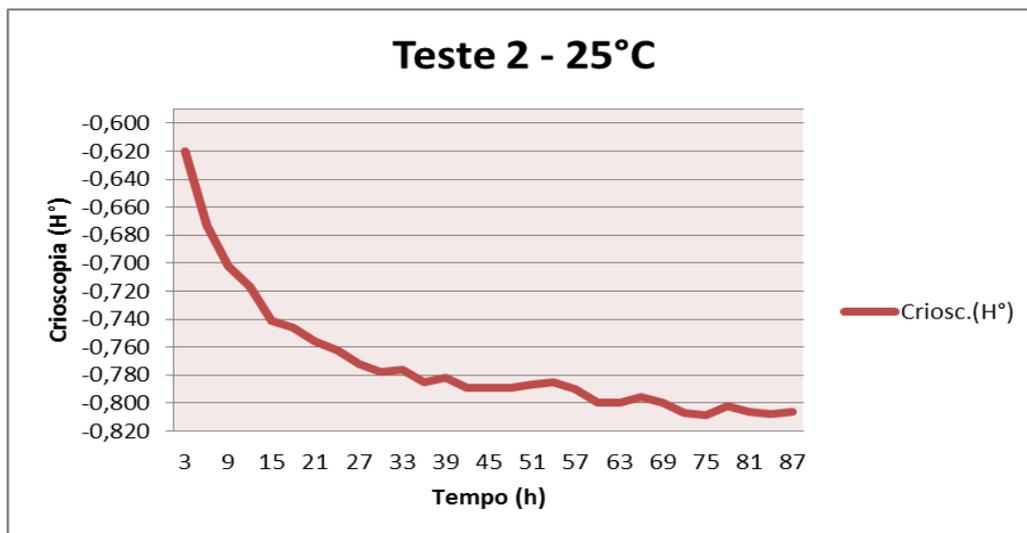


Figura 2- Crioscopia e Tempo da hidrólise da lactose em 25°C.

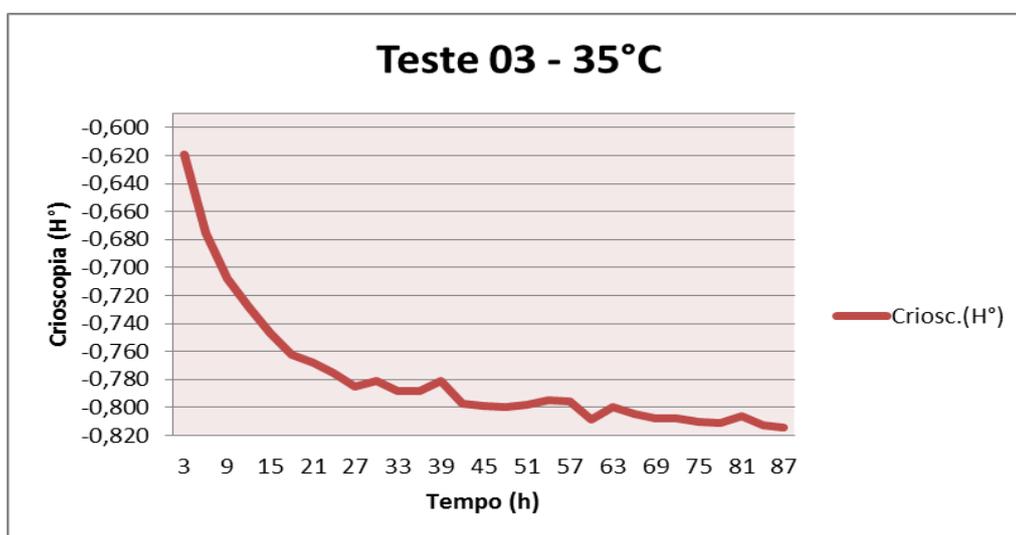


Figura 3 - Crioscopia e Tempo da hidrólise da lactose em 35°C.

Observou-se que os três testes apresentaram um comportamento similar, houve a diminuição da crioscopia com o passar do tempo o que indica que estava ocorrendo a quebra da lactose, pois quanto menor for a crioscopia, maior será a hidrólise, pois quando ocorre a hidrólise da lactose, ocorre a redução do ponto de congelamento do produto (redução da crioscopia), podendo assim mensurar de forma indireta a intensidade com que a reação de hidrólise da lactose está ocorrendo no leite.

Entretanto, observa-se que, em relação à temperatura, o teste realizado a 35°C apresenta o melhor comportamento, pois atinge uma crioscopia final de -0,820°H, enquanto nos testes 1 e 2, representados respectivamente pelas Figuras 2 e 3, possuem um valor final de crioscopia maior. Porém o máximo de ação e

velocidade de reação (quebra da Lactose) é alcançado em temperaturas na faixa de 20 a 35°C

O que se pode observar é que, quanto maior a temperatura, maior será a hidrólise da lactose, pois ambos os testes foram realizados até um período de 87 horas e atingiram crioscopia finais diferentes. Os resultados dos testes da hidrólise e porcentagem da lactose podem ser observados na Tabela 3.

Tabela 3- Resultados da hidrólise e porcentagem da lactose.

Teste	Temperatura	Crioscopia final	Hidrolise da lactose	Porcentagem final
Teste 1	4°C	-0,810°H	0,34g/100mL	91,22%
Teste 2	25°C	-0,816°H	<0,2g/100mL	93,33%
Teste 3	35°C	-0,820°H	<0,2g/100mL	94,73%

5.2 AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DO LEITE

Através da análise de esterilidade comercial, pode-se avaliar a presença de bactérias deteriorantes que possam alterar o produto interferindo no tempo de vida de prateleira.

Já a análise de mesófilos deteriorante, permite avaliar a eficiência do processo em relação a eliminação desses microrganismos, para que atinjam uma faixa aceitável afim de garantir a qualidade do produto final.

Os resultados dos leites antes da hidrólise e após a hidrólise podem ser observados na Tabela 4.

Tabela 4- Resultados das avaliações microbiológicas do leite antes e após a hidrólise da lactose.

Análises	Leite antes da hidrólise	Leite hidrolisado	Padrão
Esterilidade comercial	Ausência	Ausência	Ausência
Mesófilos deteriorantes	<1x10 ² UFC*/mL ausência	<1x10 ² UFC/mL ausência	<1x10 ² UFC/mL

*Unidades Formadoras de Colônia.

Observa-se que os resultados obtidos atenderam os padrões estabelecidos na Instrução Normativa nº62/2011(BRASIL,2011), garantindo um leite de qualidade e seguro para o consumo humano.

5.3 AVALIAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO LEITE

Para a indústria que se utiliza das propriedades físico-químicas do leite para a elaboração de derivados, é importante que a mesma atenda aos padrões estabelecidos pela legislação, a fim de assegurar a qualidade dos produtos ao longo de todo o processo.

Na Tabela 5, encontram-se expressos os resultados das análises físico químicas do leite ultrapasteurizado semidesnatado com presença e sem presença de lactose.

Tabela 5 Resultados físico-químicos do leite ultrapasteurizado com e sem lactose.

Análises	Leite antes da hidrólise	Leite hidrolisado	Padrão
Acidez titulável	15,1 °D	16,0 °D	14,00 à 16,00 °D
Extrato seco desengordurado	8,5 %	8,5 %	Min. 8,3 %
Gordura	1,15 %	1,2 %	0,6 à 2,9 %
Teste de alizarol	80 °GL	80 °GL	Estável a 80 °GL

Observa-se que os parâmetros físico-químicos do leite com lactose e sem lactose atenderam os padrões esperados, como preconiza a Portaria nº 370/1997 (BRASIL, 1997), sendo de grande importância no controle da qualidade do leite e de seus derivados, pois as propriedades físico-químicas do leite estão associadas ao estado de conservação e à eficiência de seu tratamento térmico e integridade.

5.4 AVALIAÇÃO SENSORIAL

A avaliação sensorial foi realizada com 80 avaliadores não treinados, sendo 45% do sexo masculino e 55% do sexo feminino, com idade média de 24 anos.

5.4.1 Teste de aceitabilidade

O teste de aceitação avaliou características do produto como: cor, sabor, aroma, textura e impressão global. Na tabela 6, pode-se observar os resultados obtidos para o leite produzido que é LD (leite desenvolvido) e mais três marcas comerciais (C1, C2 e C3), em relação a aceitabilidade dos diferentes atributos.

Tabela 6 – Tabela de Análise de variância para os atributos cor, sabor, aroma e impressão global

Atributos avaliados	Soma do quadrado	GL*	Quadrado Médio	Soma do quadrado do erro	GL Erro	Quadrado médio Erro	F	p
Cor	423,2904	3	141,0968	674,8502	309	2,183981	64,60531	0,000000
Sabor	35,4489	3	11,8163	691,9888	309	2,239446	5,27644	0,001461
Aroma	36,5956	3	12,1985	606,2478	309	1,961967	6,21751	0,000411
IG**	76,2587	3	25,4196	542,6295	309	1,756083	14,47515	0,000000

* Graus de liberdade, ** Impressão global

As amostras das análises de variância dos atributos cor, sabor, aroma e impressão global, condizem que todos os atributos ficaram abaixo do valor de “p”, ($p < 0,05$), abaixo de 0,05, dizendo que todos tiveram diferença, assim aplicando-se o teste de Tukey para cada atributo.

De acordo com a Tabela 7, observa-se que no atributo cor, a amostra de leite desenvolvido (LD) amostra de estudo e a amostra comercial 1 (C1), estatisticamente ficaram iguais já a amostra comercial 2 (C2) e a amostra comercial 3 (C3), também. Alguns comentários feitos pelos provadores mostraram que as amostras C2 e C3 tinha cor mais escura, como se apresentasse um certo grau de caramelização, enquanto que a amostra LD e C1 possuía cor branca característica de leite. Essa diferença de cor no leite com baixo teor de lactose pode estar relacionada com a tecnologia utilizada para hidrolisar a lactose. No atributo sabor estatisticamente as amostras LD, C1, e as C1, C2, C3 ficaram iguais; no atributo aroma, a amostra LD ficou diferente de todas as outras; no atributo impressão global as amostras LD e C1 estatisticamente ficaram iguais, assim como as amostras de leite C2 e C3.

Observa-se que a amostra de leite LD sendo a amostra de estudo apresentou melhor aceitação nos resultados das características de aparência, aroma, sabor e cor que os demais. Já as amostras de leite C2 e C3 apresentaram menor aceitação que as amostras LD e C1. Na amostra C1, a textura teve melhor aceitação.

Tabela 7 – Resultados de classificação das médias de acordo com teste de Tukey.

Amostras	Cor	Sabor	Aroma	Impressão Global
Leite Desenvolvido	8,06 ^{a*}	7,72 ^a	7,53 ^a	7,77 ^a
Amostra Comercial 1	8,00 ^a	7,29 ^{ab}	6,89 ^b	7,43 ^a
Amostra Comercial 2	5,82 ^b	6,79 ^b	6,60 ^b	6,66 ^b
Amostra Comercial 3	5,60 ^b	7,10 ^b	6,87 ^b	6,62 ^b

* Letras iguais na mesma coluna indicam que os resultados não diferem entre si pelo teste de Tukey. ($p \leq 0,05$)

Segundo SGARBIERI (2012), a lactose pode sofrer reações de *Maillard*, proveniente de escurecimento não enzimático mediante aquecimento. Assim, é possível que as amostras LD e C1 tenham passado pelo processo de esterilização antes de ser adicionada a enzima para a hidrólise da lactose, enquanto que as amostras C2 e C3, por apresentarem com coloração mais intensa, podem ter sofrido a esterilização após a hidrólise, quando já estavam presentes a glicose e a galactose no leite.

5.4.2 Intenção de compra

A aceitabilidade sensorial foi avaliada também por teste de Intenção de Compra, a qual baseia-se na frequência em que o consumidor estaria disposto a adquirir ou consumir o produto.

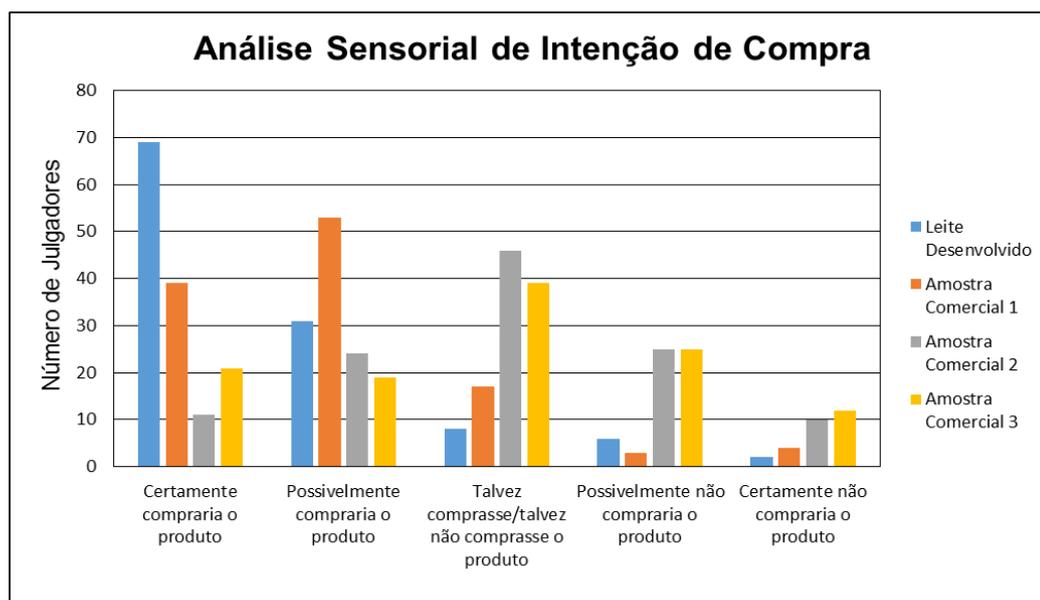


Figura 5: Resultados das análises sensoriais de intenção de compra

Como pode-se observar através da figura 5 o leite LD apresentou a maior intenção de compra. Novamente seguindo do leite C1, e ainda os Leites C2 e C3 são os menos desejados pelos julgadores, devido ao fator relacionado na figura 5, cor. Concluindo que a amostra melhor aceita foi a amostra do leite LD, com 85% de aceitação, na amostra C1 com 78%, na amostra C2 com 58.8% e na amostra C3 com 57.2%.

5.4.3 Teste de preferência

No teste de Ordenação, o objetivo é que as amostras sejam ordenadas de acordo com a preferência dos julgadores. Entretanto, este teste não indica se os consumidores gostaram ou não dos produtos avaliados, apenas cria um ranking de preferência.

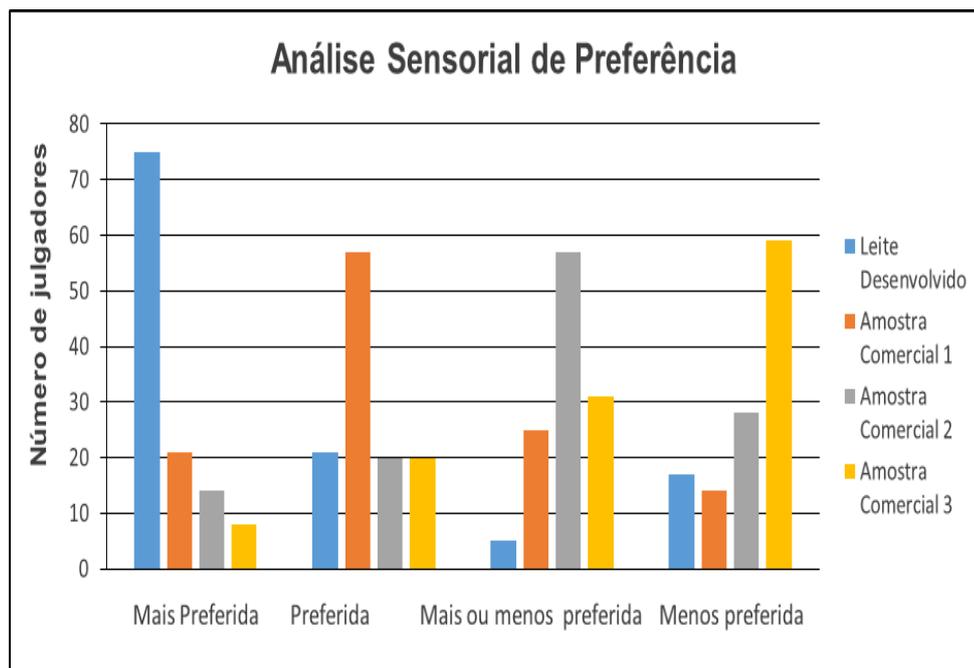


Figura 6 - Resultados das análises sensoriais de preferência

Através da figura 6, com o número de amostras avaliadas e o número de julgadores, utiliza-se a tabela Newel e MacFarlane (1987), à nível de significância de 5%, para obter a diferença crítica entre os totais de ordenação. Se as diferenças entre as somas das ordens de duas amostras diferirem por um valor maior ou igual

ao valor tabelado (crítico), existe diferença significativa entre as amostras ao nível observado (5%).

Conclui-se por tanto que houve preferência estatisticamente significativa, em nível de 5%, entre as amostras LD (1ª colocada) sobre as amostras C1 (2ª colocada), a amostra C2 (3ª colocada) e a amostra C3 (4ª colocada). Tendo como valor crítico da tabela "50" havendo diferença quantificada por meio da diferença entre o somatório das notas obtidas para cada amostra.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

De acordo com os dados obtidos no presente estudo, pode-se concluir que, em relação a intensidade de hidrólise da lactose, utilizando 0,3g/L de enzima, o aumento da temperatura favorece a reação alcançando um percentual de 94,73% de hidrólise em apenas 87 horas.

Através dos resultados obtidos na análise sensorial, pode-se concluir que o leite ultrapasteurizado semidesnatado com restrição a lactose, sendo a amostra de Leite desenvolvido pela empresa em estudo (LD), obteve a melhor aceitação com relação aos outros 3 avaliados, não apresentando alterações significativas nas características do produto final. Estes produtos poderiam ser uma alternativa para ingestão do leite para indivíduos intolerantes a este carboidrato e alternativas futuras na linha de produtos zero lactose disponível no mercado.

REFERÊNCIAS

BRASIL, Ministério da agricultura pecuária e abastecimento: instrução normativa 62 de 29 de dezembro 2011.

_____- Secretaria de Vigilância Sanitária, Portaria nº 29, de 13 de janeiro de 1998. **Regulamento técnico para fixação de identidade e qualidade de alimentos para fins especiais**, Secretaria de Vigilância Sanitária – SVS.

_____- Ministério da agricultura pecuária e abastecimento: PORTARIA, nº146, de 07 de março de 1996. **Regulamento técnico de identidade e qualidade do leite UAT (UHT)**.

_____- Ministério da agricultura pecuária e abastecimento: Portaria nº 370, de 04 de setembro de 1997. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite UAT (UHT). **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 08 Set. 1997. Seção 1.p. 19700.

_____- Instrução Normativa 68, de 12 de dezembro de 2006, **Métodos físico-químicos oficiais para controle do leite e seus produtos lácteos** – Ministério da Agricultura e do Abastecimento – MAPA, Brasil.

_____- Instrução Normativa 62, de 26 de agosto de 2003 – **Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água** - Ministério da Agricultura e do Abastecimento – MAPA, Brasil.

BURGNER; FEINHBERG, M. Determination of mono – and disaccharides in foods by interlaboratory study: Quantitation of Bias componentes for liquid chromatography. Journal of AOAC International, v.75, n 3, p. 443-464,1992, HPLC.

FAEDO, R., **Obtenção de leite com baixo teor de lactose por processos de separação por membranas associados à hidrólise enzimática**. Revista CIATEC – UPF, vol.3 (1), p.p.44-54. Universidade de Passo Fundo, 2013.

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Food and Agricultural commodities production. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>>. Acesso em: 26 de agosto de 2015.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Estados. Disponível em: <ftp://ftp.ibge.gov.br/Producao_Pecuaria/Producao_da_Pecuaria_Municipal/2011/tabelas_pdf/tab06.pdf>. Acesso em: 26 de agosto de 2015.

JUNIOR, Arilton J. B. Intolerância a lactose-revisão de literatura: Journal Brazilian - BJSCR Ipatinga (MG)Vol.4, n.4, pp.38-42, nov. 2013.

LONGO, Giovana. **Influência da adição de lactose na produção de iogurtes**. 2006. 89p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR.

KOBLITZ, M.G.B. *Matérias-primas alimentícias: composição e controle de qualidade*. Rio de Janeiro: GUANABARA KOOGAN, 2011.

MAXILACT. **Boletim técnico**: 2014. Disponível em: www.dsm-foodspecialties.com | www.maxilact.com. Acesso em: 08 de Junho de 2014.

NEWELL, G.L.; MacFARLLANE, J.D. Expanded Tables for Multiple Compararison Procedures in the Analysis of Ranked Data. **Journal of Food Science**. V. 52, n. 6, p. 1721-1725. 1987.

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

QUEIROZ, Maria I; TREPTOW, Rosa O. **Análise sensorial para avaliação da qualidade dos alimentos**: Rio Grande: Ed. FURG, 2006.

REZER, Ana P.S. **AVALIAÇÃO DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA E FÍSICO-QUÍMICA DO LEITE UHT INTEGRAL COMERCIALIZADO NO RIO GRANDE DO SUL**. Santa Maria - RS: UFSM, 2010.

SGARBIERI, Valdemiro C. **Inovação nos processos de obtenção, purificação e aplicação de componentes do leite bovino**, São Paulo: Ed. Atheneu, 2012.

SILVA, APHA *Amercan public health association – standard methods for the examination of dairy products* 17^a edition, 2004 e SILVA et. al. – **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos** 3^a edição 2007.

TREVISAN, Ana P. **Influência de diversas concentrações de enzima lactase e temperatura sobre a hidrolise da lactose em leite pasteurizado**. Santa Maria - RS: UFSM, 2008.

TRONCO, Vania M. **Manual para inspeção da qualidade do leite**: 3.ed. Santa Maria: Ed. Da UFSM, 2008.

VIDAL-MARTINS, Ana M. C. et al. **Evolução do índice proteolítico e do comportamento reológico durante a vida de prateleira de leite UAT/UHT**: Ciências Tecnológica de Alimentos, Campinas, 2005.

APÊNDICE A

Você está recebendo quatro amostras de LEITE UHT ZERO LACTOSE. Por favor, avalie cada amostra da esquerda para direita, usando a escala abaixo de 1 a 9 e marque o quanto você gostou ou desgostou das seguintes características:

Número da amostra: **155**

ESCALA	COR
9 - Gostei muitíssimo	()
8 - Gostei muito	SABOR
7 - Gostei moderadamente	()
6 - Gostei ligeiramente	AROMA
5 - Nem gostei/Nem desgostei	()
4 - Desgostei ligeiramente	TEXTURA
3 - Desgostei moderadamente	()
2 - Desgostei muito	APARÊNCIA GLOBAL
1 - Desgostei extremamente	()

Número da amostra: **234**

ESCALA	COR
9 - Gostei muitíssimo	()
8 - Gostei muito	SABOR
7 - Gostei moderadamente	()
6 - Gostei ligeiramente	AROMA
5 - Nem gostei/Nem desgostei	()
4 - Desgostei ligeiramente	TEXTURA
3 - Desgostei moderadamente	()
2 - Desgostei muito	APARÊNCIA GLOBAL
1 - Desgostei extremamente	()

Número da amostra: **362**

ESCALA	COR
9 - Gostei muitíssimo	()
8 - Gostei muito	SABOR
7 - Gostei moderadamente	()
6 - Gostei ligeiramente	AROMA
5 - Nem gostei/Nem desgostei	()
4 - Desgostei ligeiramente	TEXTURA
3 - Desgostei moderadamente	()
2 - Desgostei muito	APARÊNCIA GLOBAL
1 - Desgostei extremamente	()

Número da amostra: **461**

ESCALA 9 - Gostei muitíssimo 8 - Gostei muito 7 - Gostei moderadamente 6 - Gostei ligeiramente 5 - Nem gostei/Nem desgostei 4 - Desgostei ligeiramente 3 - Desgostei moderadamente 2 - Desgostei muito 1 - Desgostei extremamente	COR ()
	SABOR ()
	AROMA ()
	TEXTURA ()
	APARÊNCIA GLOBAL ()

2) Se você encontrasse esse produto Leite UHT Zero Lactose no mercado, indique utilizando a escala abaixo o grau de certeza com que você compraria ou não compraria cada uma das amostras:

- 5 – certamente compraria o produto; **155** ()
 4 – possivelmente compraria o produto; **234** ()
 3 – talvez comprasse/ talvez não comprasse o produto; **362** ()
 2 – possivelmente não compraria o produto; **461** ()
 1 – certamente não compraria o produto.

3) De acordo com a sua **PREFERÊNCIA** ordene as amostras, sendo 1 (um) para a mais preferida, 2 (dois) para a segunda, 3 (três) para a terceira na ordem de sua preferência, e 4 (quatro) para a menos preferida.

155: _____ **234:** _____

362: _____ **461:** _____

COMENTÁRIOS:.....

Nome: _____ Data: ___/___/___

Sexo: () M () F Idade: _____ anos

Muito Obrigado!

APÊNDICE B



GOVERNO DO ESTADO DE SÃO PAULO

SECRETARIA DE AGRICULTURA E ABASTECIMENTO

AGÊNCIA PAULISTA DE TECNOLOGIA DOS AGRONEGÓCIOS

INSTITUTO DE TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

CENTRO DE CIÊNCIA E QUALIDADE DE ALIMENTOS

RELATÓRIO DE ENSAIO Nº: RA-CQ DS.484/14

REF. PROPOSTA CQCA Nº 0355/14

INTERESSADO: Cooperativa Central Aurora Alimentos

ENDEREÇO: R. João Martins, 219D -Chapcô/SC

DATA DE RECEBIMENTO DA(S) AMOSTRA(S): 27/02/2014

DATA DE EMISSÃO: 06/03/2014

NATUREZA DA(S) ANÁLISE(S): Físico-química

1. DESCRIÇÃO DA(S) AMOSTRA(S)

RAm-CQ 1542/14 - Leite Aurora Semi Desnatado para Dóias com Restrição a Lactose - Armazenado a 37°C;
 Lote: L140224374; Fabricação: 24/02/2014; Validade: 24/08/2014

2. MÉTODO(S)

Açúcares (HPLC)

MA-CQ 188 baseado em:

MURCNER, E.; FEINBERG, M. Determination of mono- and disaccharides in foods by interlaboratory study: Quantitation of Bias components for liquid chromatography, Journal of AOAC International, v. 75, n. 3, p. 443-464, 1992.

3. RESULTADO(S)

Determinação	Resultado
Lactose (g/100mL)	ND < 0,20*

*ND - Não detectado

OBSERVAÇÕES

- a) O Centro de Ciência e Qualidade de Alimentos não foi responsável pela amostragem e coleta do material, cuja identificação foi fornecida pelo interessado. Os resultados aplicam-se exclusivamente à(s) amostra(s) analisada(s), sendo vedado o uso do nome do ITAL, sob pena de indenização, para qualificar produção sobre a qual o mesmo não exerceu controle.
- b) Este relatório só tem valor oficial quando impresso em papel com marca d'água, com assinaturas ou rubricas originais em todas as páginas. Sua reprodução só pode ser feita na íntegra, sendo requerida autorização formal deste laboratório para reprodução parcial.

Visto

RK
 REGINA PRADO ZANES FURLANI
 Chefe Técnica de Serviço
 Unidade Laboratorial de Referência
 em Química de Alimentos

Sueli Regina Baggi
 SUELI REGINA BAGGI
 Pesquisador Científico
 Unidade Laboratorial de Referência
 em Química de Alimentos



CENTRO DE CIÊNCIA E QUALIDADE DE ALIMENTOS
 Av. Drac., 2000 • CEP 13.070-170 • Campinas/SP • Brasil
 T-11 19 3743-1281/1810/1785 • F-11 19 3743-4585
 email: cqa@ital.sp.gov.br
 http://www.ital.sp.gov.br

