

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ  
COORDENAÇÃO DE ALIMENTOS  
TECNOLOGIA EM ALIMENTOS**

**ALINE THAINARA DUARTE FERREIRA  
DORIANA MARIA ZIERGIEBEL LEVANDOSKI  
VANESSA ZANGALLI FAVORETO**

**ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS EM AMOSTRAS DE LEITES SEMI-  
DESNATADOS: COM LACTOSE E SEM LACTOSE**

**TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO**

**PONTA GROSSA  
2016**

**ALINE THAINARA DUARTE FERREIRA  
DORIANA MARIA ZIERGIEBEL LEVANDOSKI  
VANESSA ZANGALLI FAVORETO**

**ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS EM AMOSTRAS DE LEITES SEMI-  
DESNATADOS: COM LACTOSE E SEM LACTOSE**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentada como requisito parcial à obtenção do título de Tecnólogo em Alimentos, da Coordenação de alimentos, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná.

Orientador: Prof<sup>a</sup> Msc. Simone Bowles

**PONTA GROSSA  
2016**



Ministério da Educação  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná  
Campus Ponta Grossa

Coordenação de Alimentos  
Tecnologia em Alimentos

**UTFPR**  
UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ

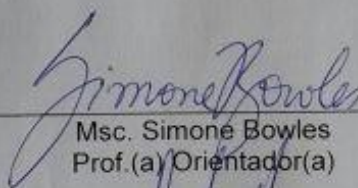
### TERMO DE APROVAÇÃO

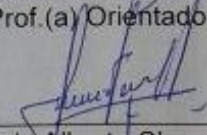
#### ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS EM AMOSTRAS DE LEITES SEMI-DESNATADOS: COM LACTOSE E SEM LACTOSE

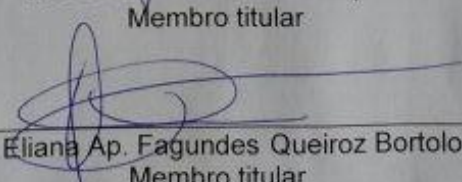
por

**ALINE THAINARA DUARTE FERREIRA  
DORIANA MARIA ZIERGIEBEL LEVANDOSKI  
VANESSA ZANGALLI FAVORETO**

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi apresentado (a) em 01 de dezembro de 2016 como requisito parcial para a obtenção do título de Tecnólogo em Alimentos. Os (a) candidatos (a) foram arguidos (a) pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho aprovado.

  
Msc. Simone Bowles  
Prof.(a) Orientador(a)

  
Ms. Luis Alberto Chavez Ayala  
Membro titular

  
Dra. Eliana Ap. Fagundes Queiroz Bortolozo  
Membro titular

## RESUMO

FAVORETO, Vanessa; FERREIRA, Aline; LEVANDOSKI, Doriana. **Análises Físico-Químicas em amostras de leites semi-desnatados: com lactose e sem lactose.** 2016. 41pg. Trabalho de Conclusão de Curso Tecnologia em Alimentos - Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Ponta Grossa, 2016.

O leite é um alimento de primordial importância devido sua qualidade nutritiva. Atualmente as novas tecnologias têm apontado para o desenvolvimento de produtos lácteos com teores reduzidos de lactose, pois um grande número de casos de hipolactasia vem sendo diagnosticada. O leite disponibilizado nas redes de supermercados em sua maioria são semi-desnatados UHT (“ultra high temperature”, temperatura muito alta) e são submetidos a processamentos de hidrólise enzimática. Considerando que a padronização estabelecida para o processamento deste tipo de produto vem dos fornecedores das enzimas, o presente trabalho buscou realizar um comparativo com algumas características físico-químicas dos leites com teor reduzido de lactose e os leites que não foram submetidos a este processo. As análises físico-químicas utilizadas foram a medição de pH, dos sólidos solúveis totais, crioscopia, cor e densidade. O comparativo dos resultados permitiu constatar que as mudanças mais significativas foram com relação à cor, pois a hidrólise causa a quebra da lactose em açúcares redutores mais reativos que a própria lactose (reação de Maillard), e na Crioscopia que apresentou uma diminuição em torno de 33% na temperatura de congelamento.

**Palavras-chave:** Leite. Lactose. Lactase. Hidrólise enzimática

## ABSTRACT

FAVORETO, Vanessa; FERREIRA, Aline; LEVANDOSKI, Doriana. **Physical-Chemical Analyzes in semi-skimmed milk samples: lactose-free and lactose-free**. 2016. Total number of 41 sheets. Conclusion Course of Technology in Food - Federal Technological University of Paraná. Ponta Grossa, 2016.

Milk is a food of prime importance due to its nutritional quality. Nowadays the new technologies pointed to development of dairy products with reduced levels of lactose, since a large number of cases of hypolactasia have been diagnosed. The milk available in supermarket chains is mostly semi-skimmed UHT (ultra high temperature) and is subjected to enzymatic hydrolysis processes. Considering that the standardization established for the processing of this type of product comes from the suppliers of the enzymes, the present work seeks to make a comparative with some physicochemical characteristics of the milk with reduced lactose content and the milks that were not submitted and this process. The physico-chemical analyzes used were the measurement of pH, total soluble solids, cryoscopy, color and density. The comparison of the results showed that the most significant changes were related to the color, because the hydrolysis causes the lactose break in reducing sugars more reactive than the lactose itself (Maillard reaction), and in the Cryoscopy that showed a decrease around 33% at freezing temperature.

**Keywords:** Milk. Lactose. Lactase. Enzymatic Hydrolysis.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Molécula de Lactose.....	21
Figura 2 - Atividade normal e atividade deficiente da lactase no intestino delgado...	23
Figura 3 - Reação de Hidrólise da Lactose pela beta-galactosidade. ....	24
Gráfico 1 – Resultado das medições de pH das 10 amostras de leite com e sem lactose.....	31
Gráfico 2 – Resultado das análises de Crioscopia (° Horvet).....	33
Gráfico 3 – Resultado das análises de Sólidos Solúveis (° Brix).....	34
Gráfico 4 – Resultado das análises de Densidade g/cm <sup>3</sup> a 20°C. ....	35

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Distribuição de percentual da composição do leite (valores médios).....	18
Tabela 2 - Composição média de sais em mg/100mL .....	20
Tabela 3 - Identificação das amostras de leite utilizadas com lactose .....	26
Tabela 4 - Identificação das amostras de leite utilizadas “zero lactose”.....	26
Tabela 5 - Resultados das medições de pH.....	31
Tabela 6 - Resultados das Análises de Crioscopia .....	32
Tabela 7 - Resultados das Análises de Sólidos totais – Brix.....	33
Tabela 8 - Resultados das Análises de Densidade .....	34
Tabela 9 - Resultados da Análise de Cor .....	35

## LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E ACRÔNIMOS

### LISTA DE ABREVIATURAS

µm	Micromêtro
G	Gramma
H	Horas
J	Joule
K	Kelvin
K	Kelvin
Kg	Quilograma
L	Litro
Mg	Miligramas
Nm	Nanomêtro
°C	Celsius
Ph	Potencial Hidrogênionico

### LISTA DE SIGLAS

RIISPOA – Regulamento Industrial de Inspeção de produtos de origem animal

MAPA – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

UHT – *Ultra High temperature* (temperatura ultra alta)

D.P. – Desvio Padrão

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>13</b>
<b>2 LEITE</b> .....	<b>15</b>
2.1 DEFINIÇÃO .....	15
2.2 PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS.....	15
2.2.1 Cor .....	16
2.2.2 Viscosidade.....	16
2.2.3 Acidez .....	16
2.2.4 Potencial Hidrogênionico – pH.....	16
2.2.5 Densidade.....	17
2.2.6 Ponto de congelamento .....	17
2.3 COMPOSIÇÃO DO LEITE .....	18
2.3.1 Água .....	19
2.3.2 Lipídeos .....	19
2.3.3 Proteínas .....	19
2.3.4 Sais.....	20
2.3.5 Vitaminas .....	20
2.3.6 Lactose .....	21
2.4 INTOLERÂNCIA A LACTOSE: .....	21
2.5 HIDRÓLISE ENZIMÁTICA .....	23
<b>3 METODOLOGIA</b> .....	<b>26</b>
3.1 COR.....	27
3.2 CRIOSCOPIA .....	27
3.3 DENSIDADE .....	28
3.4 PH.....	28
3.5 SÓLIDOS SOLÚVEIS .....	29
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>31</b>
<b>5 CONCLUSÃO</b> .....	<b>37</b>
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>38</b>



## 1 INTRODUÇÃO

Segundo o artigo nº 475 do Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal, denomina-se leite, sem qualquer outra especificação, o produto normal, fresco, integral, oriundo da ordenha completa e ininterrupta de vacas sadias (RIISPOA/MAPA, 1952).

Dentre os constituintes do leite estão presentes água, gordura, proteínas e lactose. A lactose é o principal carboidrato do leite, é um dissacarídeo, sua origem está na glicose do sangue no tecido mamário do animal, que se isomeriza em galactose e acaba ligando-se ao restante de glicose para formar uma molécula de lactose (ORDÓNEZ, 2009).

Recentemente, houve um considerável aumento nos diagnósticos de Hipolactasia, designação dada a indivíduos que possuem intolerância a lactose, uma deficiência na digestão ou absorção deste carboidrato. Esta diminuição na capacidade do organismo de hidrolisar a lactose se deve ao fato da redução da disponibilidade da enzima lactase e sua atividade realizada no intestino delgado (MATTAR, MAZO, 2010).

As indústrias têm se privilegiado deste fato e estão investindo na produção de leites e outros produtos derivados com teor reduzido de lactose que se classificam como alimentos para fins especiais (BRASIL, 1998).

Os processos em geral empregados podem variar no grau de lactose residual no leite, que depende da concentração empregada da enzima lactase e das condições de processamento (CARMINATTI, 2001).

Na hidrólise enzimática da lactose utiliza-se a enzima lactase ( $\beta$ -galactosidase), que pode ser extraída de diversas fontes como animais, fungos, bactérias, leveduras e vegetais (CARMINATTI, 2001).

Nem todas as lactases podem ser utilizadas, enzimas obtidas de *Aspergillus niger*, *Aspergillus oryzae* e *Saccharomyces sp (lactis ou fragilis)* são consideradas seguras, devido ao histórico de suas aplicações e aos numerosos estudos realizados (CARMINATTI, 2001).

Neste contexto o objetivo geral do trabalho foi realizar um comparativo de algumas características físico-químicas dos leites com teor de lactose reduzido e os leites que não foram submetidos a este processo.

Os objetivos específicos incluem os procedimentos relacionados com a determinação das características físico-químicas do leite com e sem lactose, através das análises pré-determinadas (pH, acidez, densidade, crioscopia e cor).

Mediante os resultados obtidos realizar um comparativo para verificar se apresentaram alterações significativas após o processo de hidrólise enzimática.

## 2 LEITE

Neste tópico serão abordadas as; definições, propriedades e características relativas ao Leite.

### 2.1 DEFINIÇÃO

O leite é uma fonte de proteínas, gordura, energia e outros constituintes essenciais, sendo a primeira fonte de nutrientes para os mamíferos e a maior fonte de cálcio absorvível para o homem (TREVISAN, 2008)

É o produto integral, não alterado, nem adulterado e sem colostro, procedente da ordenha higiênica, regular, completa e ininterrupta das fêmeas domésticas saudáveis e bem-alimentadas (CARMINATTI, 2001).

Biologicamente é o produto da secreção das glândulas mamárias de fêmeas mamíferas e do ponto de vista físico-químico o leite é uma mistura homogênea com várias substâncias, sendo que destas, algumas estão em emulsão (gordura e substâncias associadas), outras em suspensão (caseínas ligadas a minerais) e as em dissolução (lactose, vitaminas hidrossolúveis, proteínas do soro e sais), (CARMINATTI, 2001).

O leite tipo UHT ou esterilizado, de acordo com a Portaria nº 370, de 04 de setembro de 1997, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, “é o leite homogeneizado que foi submetido, durante 2 a 4 segundos, a uma temperatura entre 130° C e 150°C, mediante um processo térmico de fluxo contínuo, imediatamente resfriado a uma temperatura inferior a 32°C e envasado sob condições assépticas em embalagens estéreis e hermeticamente fechadas” (BRASIL, 1997).

### 2.2 PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS

De acordo com o preconizado no RIISPOA, as características normais definidas em média para o leite são: teor de gordura mínimo de 3%; acidez em graus Dornic entre 15 e 20; densidade a 15°C entre 1.028 e 1.033; lactose - mínimo de 4,3%; extrato seco desengordurado - mínimo de 8,5%; extrato seco total - mínimo de 11,5%; índice crioscópico mínimo de -0,550°H (RIISPOA/MAPA, 1952).

As análises físico-químicas são largamente utilizadas nos estabelecimentos para verificação da qualidade do produto, que são várias e descritas nos itens seguintes.

#### 2.2.1 Cor

É um líquido branco-amarelado, opaco, se deve principalmente à dispersão da luz pelas micelas de fosfocaseinato de cálcio, caroteno e a riboflavina. Os glóbulos de gordura também dispersam a luz, mas com pouca influência (SANTANA, 2012).

Durante o tratamento térmico pode ocorrer alteração da sua cor, uma vez que a pasteurização intensifica a cor branca e a opacidade e a esterilização (tratamento térmico acima de 100° C) o escurece (SANTANA, 2012).

#### 2.2.2 Viscosidade

Duas vezes mais viscoso que a água, sua viscosidade depende também de fatores como temperatura, aumento do conteúdo de gordura, homogeneização, fermentação, envelhecimento e altas temperaturas seguidas de resfriamento.

A viscosidade média da água é 1,0 centipoise (medidas a 20°C), (BRITO, 1998).

O leite integral e o leite desnatado têm viscosidades médias, a 20°C, de 1,6314 e 1,404 centipoise respectivamente. (TREVISAN, 2008).

#### 2.2.3 Acidez

O leite tem uma acidez natural devido principalmente à presença de CO<sub>2</sub>, fosfatos, citratos e caseína. A acidez do leite fresco varia de 0,12 a 0,23% em ácido láctico e sua determinação serve para avaliar seu estado higiênico-sanitário e a forma de conservação (VENTURINI, 2007).

#### 2.2.4 Potencial Hidrogênionico – pH

O pH tem uma escala logarítmica que mede o grau de acidez, neutralidade ou alcalinidade de uma determinada solução (FACHINELLI, 2010).

O leite tem pH em torno de 6,6 a 6,8 (neutro), porém as condições de conservação e/ou adição de compostos pode desenvolver pH baixo (ácido) ou pH alto (alcalino) (FACHINELLI, 2010).

#### 2.2.5 Densidade

A densidade é a relação entre a massa e o volume de um corpo. No leite essa relação é entre os sólidos e o solvente e pode acusar a ocorrência de fraudes.

O resultado também pode ser alterado por adição de água ou desnatação, considerando que a água tem uma densidade maior que a gordura (FACHINELLI, 2010).

Assim, um leite que apresenta alto teor de gordura possui menor densidade em relação a um leite com baixo teor de gordura (TREVISAN, 2008).

#### 2.2.6 Ponto de congelamento

A análise crioscópica baseia-se no ponto de congelamento do leite e a temperatura em que este passa do estado líquido para o estado sólido (FACHINELLI, 2010).

No leite a temperatura de congelamento é mais baixa que a da água, isso se deve a substâncias como a lactose e sais minerais (FACHINELLI, 2010).

Em um leite contendo 12,5% de extrato seco (4,75% de lactose e 0,1% de cloretos) o ponto de congelamento aproximado será de  $-0,531^{\circ}$  a  $-0,550^{\circ}$  H (graus Horvet) (TREVISAN, 2008).

#### 2.2.7 Sólidos Solúveis Totais

O teor de sólidos solúveis é o total de todos os sólidos dissolvidos em água e incluem açúcares, proteínas, óleos essenciais, aminoácidos livres e ácidos (COSTA, 2004).

É medido em  $^{\circ}$ Brix a  $20^{\circ}$ C, onde para cada  $1^{\circ}$  Brix temos 1g de sacarose em 100g de solução. A medição é realizada com um instrumento óptico chamado Refractômetro, trata-se de um método simples e rápido (COSTA, 2004).

A análise do °Brix tem grande importância, no controle dos ingredientes do produto e na qualidade final. É utilizada nas indústrias de doces, sucos, néctar, polpas, leite condensado, álcool, açúcar, sorvetes, licores e bebidas em geral (COSTA, 2004).

### 2.3 COMPOSIÇÃO DO LEITE

A composição do leite pode variar com alguns fatores como raça do animal, idade, fase de lactação, alimentação, influências sazonais e climáticas e de acordo com Behmer Arruda, 1999, a composição do leite é determinante para o estabelecimento da sua qualidade nutricional e aptidão para processamento e consumo humano (ORDENÉZ, 2009).

Há vários compostos nitrogenados no leite, dos quais aproximadamente 95% ocorrem como proteínas e 5% como compostos nitrogenados não proteicos. Cerca de 80% do nitrogênio proteico do leite constitui-se de nitrogênio caseínico e 20% de nitrogênio não-caseínico (BEHMER, ARRUDA, 1999).

A temperatura ambiente, doenças do animal, estágio de lactação e teor energético da alimentação pode influenciar na composição e distribuições das frações nitrogenados do leite (BEHMER, ARRUDA, 1999).

O leite é composto por várias substâncias, a que se apresenta em maior proporção é a água, em seguida a gordura, proteínas e carboidratos, todos sintetizados na glândula mamária, existem algumas substâncias minerais e hidrossolúveis que são transferidas diretamente do plasma sanguíneo (TREVISAN, 2008).

Na tabela 1 temos a composição média do leite em %:

**Tabela 1 - Distribuição de percentual da composição do leite (valores médios)**

Componente	Quantidade (%)	
Água	87,5	
Gordura	3,5	
Extrato Seco	Proteína (principal é a caseína)	3,5
Total (EST) = 12,5 %	Hidratos de Carbono (Lactose)	4,7
	Minerais	0,8

Fonte: Adaptado de SILVA, 2012.

### 2.3.1 Água

Constitui pela quantidade presente no leite o principal componente, influenciando sensivelmente na densidade, atua como solvente dos demais componentes, sua maior parte encontra-se livre, o restante é ligada às proteínas, à lactose e aos minerais (LONGO, 2006).

### 2.3.2 Lipídeos

Dos componentes do leite a gordura ou fração lipídica é a que possui maior variação, sua concentração pode ser de 3,2 a 6% (ORDÓNEZ, 2009). No leite semidesnatado a porcentagem de gordura está entre 0,6 a 2,9% (RODRIGUES, 2013).

Encontra-se no leite em forma de glóbulos esféricos (3 a 5  $\mu\text{m}$ ) constituídos de um núcleo central que contém a gordura e uma película lipoproteica chamada de membrana, atuando como barreira impedindo que os glóbulos floculem e se fundam e também de proteger a gordura da ação enzimática (ORDÓNEZ, 2009).

Para ORDÓNEZ (2009), as principais alterações que podem ocorrer nos lipídeos são a lipólise e a auto-oxidação, onde se observou que na lipólise ocorre com menor frequência, pois as condições da enzima responsável ficam limitadas devido a diversos fatores como: pH, temperatura do leite, concentração de enzima livre, instabilidade; a auto-oxidação pode ocorrer com maior frequência, depende de elementos como o cobre, ácido ascórbico e oxigênio, sendo que no oxigênio em apenas 12 h de exposição a luz direta desenvolve-se o sabor de ranço.

### 2.3.3 Proteínas

Os compostos nitrogenados mais importantes do leite são as proteínas, devido ao poder nutricional, bem como pela presença de imunoglobulinas e a quantidade abundante de enzimas. Dentre as propriedades físico-químicas das proteínas lácteas destaca-se a estabilidade de seu valor nutritivo e das características sensoriais quando submetidas a operações tecnológicas (ORDÓNEZ, 2009).

São constituídas pelas caseínas (insolúveis) em cerca de 27g/L e se apresentam sob a forma de micelas de fosfocaseinato de cálcio e pelas proteínas solúveis do lactosoro (albumina, globulina e enzimas) (VALSECHI, 2001).

As proteínas se diferem em caseínas e proteínas do soro do leite, e possuem características diferentes quanto à solubilidade, termorresistência, presença de fósforo e de enxofre, origem (glândula mamária e/ou plasma) e estado (coloidal ou em dissolução) (VALSECHI, 2001).

Segundo ORDENÉZ (2009) cerca de 20% do nitrogênio proteico aparecem em forma de proteínas do soro, cujas propriedades nutritivas e funcionais fazem com que a indústria alimentícia se interesse em extrair essas proteínas que são geralmente resultado de processamento de queijos e manteigas.

As principais são as B-lactoglobulina (50%), as a-lactoalbumina (20%). As imunoglobulinas se apresentam em até 10% da composição do Colostro, já no leite aparecem em torno de 06, a 1,0 g/L. Outras proteínas do soro incluem as lipases, proteases, lactoperoxidasas, proteínas da membrana do glóbulo de gordura, lactoferrina, ceruloplasmina, proteínas ligantes de folato e vitamina B12, dentre outras (ORDENÉZ, 2009).

#### 2.3.4 Sais

Compostos não-ionizados que podem se encontrar sob a forma de íons de baixo peso molecular no leite, não sendo apenas sais minerais propriamente dito, incluem-se também nesta categoria alguns compostos orgânicos (ORDENÉZ, 2009) conforme descrito na tabela 2.

**Tabela 2 - Composição média de sais em mg/100mL**

Componente	Quantidade
Sódio	50
Potássio	145
Cálcio	120
Magnésio	13
Fósforo	95
Cloro	100
Sulfatos	10
Carbonato (CO <sub>2</sub> )	20
Citrato	175

Fonte: ORDENÉZ, 2009.

#### 2.3.5 Vitaminas



As vitaminas presentes no leite são classificadas como lipossolúveis (A, D, E e K) e hidrossolúveis (complexo B e C) e estão susceptíveis à destruição por diversos fatores como tratamento térmico, ação da luz, oxidações, etc (FACHINELLI, 2010).

### 2.3.6 Lactose

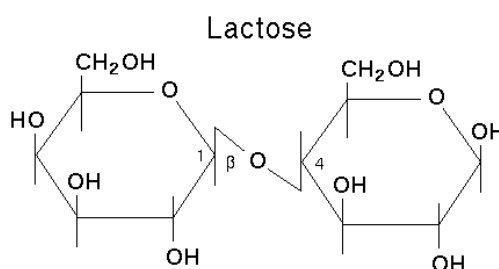
A Lactose (4-O- $\beta$ -Dgalactopiranosil-D-glucopiranosose) é o principal carboidrato do leite e representa cerca de 70% dos sólidos do soro do leite (ANDRADE, 2005).

De acordo com FAEDO, 2013, do ponto de vista físico-químico, a lactose está presente no leite, em média 5%, no estado molecular em solução verdadeira, com partículas de diâmetros inferiores a 1 $\mu$ m.

É formada pela junção de dois monossacarídeos, uma molécula de glicose e uma molécula de galactose. Tem o mesmo peso molecular da sacarose e se difere na configuração molecular, no poder edulcorante, na solubilidade (dez vezes menor) e no poder redutor (VALSECHI, 2001).

Cerca de 11% da lactose se encontra ligada as proteínas, o restante em dissolução (VALSECHI, 2013).

Na figura 1 a estrutura da molécula de lactose.



**Figura 1 - Molécula de Lactose.**  
Fonte: Whattam, 2013.

### 2.4 INTOLERÂNCIA A LACTOSE:

FAEDO (2013) descreve que a lactose é utilizada pelos mamíferos, logo depois da sua hidrólise sob a ação da lactase no intestino delgado, convertendo a lactose em glicose e galactose, fazendo com que a absorção intestinal seja possível.

As pessoas deficientes em lactase não têm essa capacidade, quando consomem leite a lactose não é hidrolisada, fazendo com que a pressão osmótica do intestino aumente causando retenção de água (FAEDO, 2013).

Nestes casos a lactose segue para o intestino grosso, fermentada por grupos microbianos produtores de gases e água, ou hidrolisada por bactérias em ácidos orgânicos de cadeia curta (FAEDO, 2013).

Os gases que não são absorvidos causam inchaço, e os ácidos produzidos irritam a parede intestinal e aumentam a motilidade, que combinada com a água secretada no intestino resulta em diarreia (FAEDO, 2013).

Na maior parte dos seres humanos, os níveis de lactase diminuem consideravelmente após o desmame, o que leva a que alguns indivíduos nos quais a atividade lactásica é muito pequena, desenvolvam sintomatologia digestiva após a ingestão de leite. A lactase, ao contrário de outras dissacaridasas, como sacarase e maltase, não é enzima adaptativa, ou seja, seus níveis não variam de acordo com a quantidade de carboidrato ingerido (FAEDO, 2013).

O termo hipolactasia se refere à diminuição da atividade da enzima lactase, podendo se tratar de uma condição primária ou secundária (WOLTMANN, 2013).

A primária pode ser de dois tipos, a HPTA (hipolactasia primária do tipo adulto) e a Hipolactasia Congênita (um tipo raro de deficiência congênita de lactase) (WOLTMANN, 2013).

A secundária é decorrente do acometimento da mucosa do intestino delgado em condições, como gastroenterite aguda, giardíase, doença celíaca, doenças inflamatórias intestinais, entre outras (WOLTMANN, 2013).

Na figura abaixo temos dois exemplos: no primeiro o fluxo da lactose com atividade normal da enzima no intestino delgado, onde o carboidrato é hidrolisado nos seus respectivos correspondentes monossacarídeos e absorvidos.

No segundo a lactose que não é hidrolisada pela enzima permanece no intestino. Ocorre fermentação gerando ácidos graxos de cadeia curta, dióxido de carbono e gás hidrogênio, que resulta em inchaço abdominal, flatulência cólicas e diarreia (WOLTMANN, 2013).

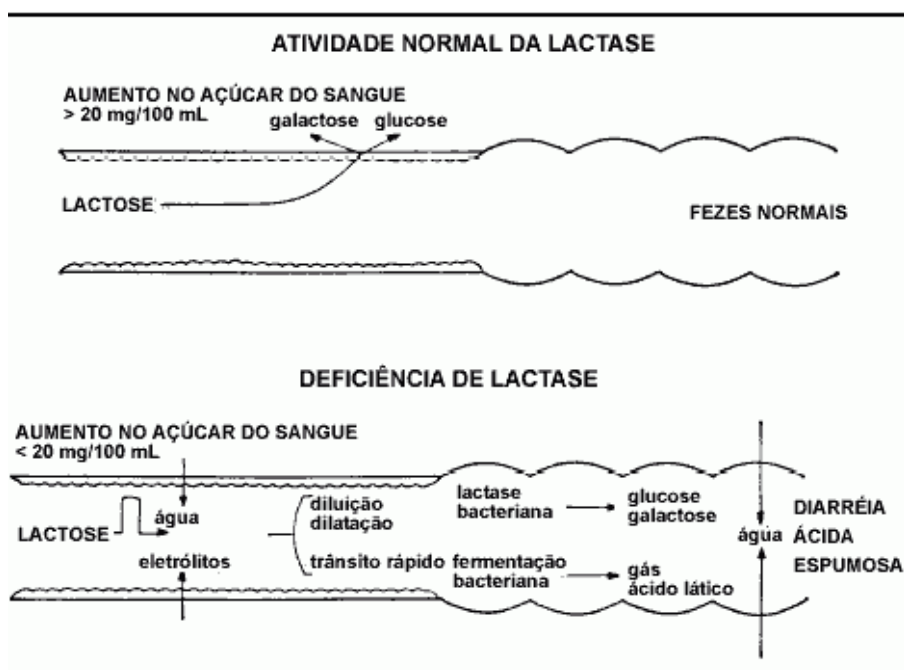


Figura 2 - Atividade normal e atividade deficiente da lactase no intestino delgado.  
Fonte: SANTIM, 2005.

## 2.5 HIDRÓLISE ENZIMÁTICA

Enzimas são proteínas que catalisam ou aceleram reações biológicas, biocatalisadores e a sua natureza proteica determina especificidades de substrato, temperatura e Ph (ORDENÉZ, 2009).

Sua estrutura possui polímeros de cadeia longa com aminoácidos ligados através de ligações peptídicas, são sintetizadas por células vivas e atuam em quase todas as reações químicas do metabolismo dos organismos vivos, estão presentes também em vários alimentos, atuando na hidrólise do material alimentício em compostos mais simples (ORDENÉZ, 2009).

As enzimas convertem uma substância, chamada de substrato, em outro denominado produto, e são extremamente específicas para a reação que catalisam, elas não são consumidas na reação e não alteram seu equilíbrio químico (ORDENÉZ, 2009 e WORTMANN, 2013).

Lactase é o nome utilizado para denominar a enzima  $\beta$ -D-galactosidase galactohidrolase, que é classificada como uma hidrolase (CARMINATTI, 2001) e catalisa, entre outras a reação de hidrólise da lactose à  $\beta$ -D-galactose  $\alpha$ -D-glicose (TREVISAN, 2008).

Na indústria existe uma grande utilização da lactase no desenvolvimento de novos produtos derivados de leite, na produção de iogurte, coalhadas e manteiga de leite, pois melhoram o sabor sem aumentar o conteúdo calórico, além de possuir importante papel na redução da cristalização da lactose (SANTIAGO, 2004).

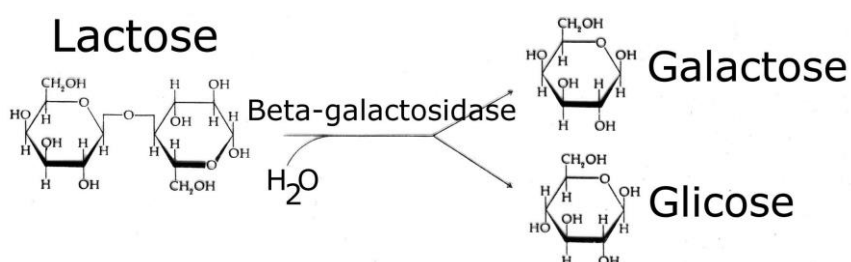
Na fabricação de iogurte, ela acelera o aumento da acidez, aumenta a doçura, a viscosidade e a vida de prateleira (SANTIAGO, 2004).

A Resolução RDC nº 348/2003, especifica que a enzima lactase utilizada na indústria de alimentos deve ser de origem microbiana, proveniente da levedura *Kluyveromyces lactis* (BRASIL, 2003), microrganismo bem conhecido e usado na produção de iogurte. O número de identificação Internacional da Enzima é EC 3.2.1.23 (LONGO, 2006).

Segundo TREMARIM, 2007, as melhores condições operacionais de temperatura e pH dependem da fonte microbiana da enzima e também do método de preparação comercial. As condições ditas como ótimas, podem oscilar de um pH de 3,0 até 5,5 e as temperaturas de 35°C a 80° C.

As lactases fúngicas apresentam melhor condição de operação em pH ácido, e as lactases de leveduras e bactérias apresentam melhor condição de operação em pH neutro, sendo usadas na hidrólise da lactose presente no leite.

Na figura 3 temos a reação de hidrólise da lactose pela lactase:



**Figura 3 - Reação de Hidrólise da Lactose pela beta-galactosidade.**  
Fonte: Santos, 2011.

No mecanismo de reação da  $\beta$ -galactosidade, de acordo com MANERA (2010), ocorre primeiramente o complexo enzima-galactosil (lactase se liga na galactose) com a liberação da glicose e numa segunda etapa o complexo enzima-galactosil é transferido para um aceptor contendo um grupo hidroxila.

Neste caso (leite) a solução apresenta baixa concentração de lactose, e a água pode ser mais competitiva para ser um aceptor, portanto, galactose é formada e o sítio ativo é liberado (MANERA, 2010).

Porém se a solução apresentar uma alta concentração de lactose, as moléculas de glicose, galactose e lactose têm mais chances de atuar como aceptor, neste caso, em vez de ocorrer à hidrólise da lactose obtém-se a formação de oligossacarídeos (MANERA, 2010).

Conclui-se, portanto, que no mecanismo de reação da  $\beta$ -galactosidase pode ocorrer à hidrólise da lactose e também a transgalactosilação, dependendo da concentração de lactose e de água no sistema.

Segundo FAEDO (2013) a hidrólise enzimática da lactose do leite, no processo industrial, pode ser realizada de duas maneiras.

Em uma delas o leite cru passa pelo processo de esterilização, segue para o resfriamento, só então se adiciona a enzima lactase. O leite é embalado e a hidrólise ocorre no interior da embalagem (FAEDO (2013)).

Na outra forma, o leite cru passa por uma pasteurização (72°C/15 segundos) seguida de resfriamento, a enzima lactase é adicionada, e o processo de hidrólise ocorre em tanques de armazenamento, na sequência realiza-se a esterilização e o envase asséptico. Para controle do grau de hidrólise da lactose pode-se utilizar a medição da crioscopia (FAEDO (2013)).

Em 13 de julho de 2016 foi publicada e sancionada a Lei nº 13.305 que altera o Decreto-Lei nº986, de 21 de outubro de 1969, acrescentando o Art.19-A ao ato normativo que dispõe sobre a rotulagem de lactose nos alimentos e exige que a embalagem dos produtos informe a presença da substância, passando agora a exigir também nos rótulos dos alimentos cujo teor original de lactose que tenha sido alterado deverão informar o teor remanescente do mesmo (BRASIL, 2016):

"Art. 19-A. Os rótulos de alimentos que contenham lactose deverão indicar a presença da substância, conforme as disposições do regulamento. Parágrafo único. Os rótulos de alimentos cujo teor original de lactose tenha sido alterado deverão informar o teor de lactose remanescente, conforme as disposições do regulamento."

### 3 METODOLOGIA

As características do trabalho com relação à metodologia utilizada são:

- Quanto à natureza: aplicada;
- Quanto à forma de abordagem do problema: qualitativa comparativa;
- Quanto aos objetivos: exploratória;
- Quanto aos procedimentos técnicos adotados: foram realizados ensaios de pH, Densidade, Crioscopia, Cor e Sólidos Solúveis para determinar as características físico-químicas das amostras.

As amostras foram adquiridas na região de Ponta Grossa-PR, no período de março de 2016 e as análises foram realizadas em triplicata.

Os resultados obtidos foram realizados média e desvio padrão e tratados pelo Teste T Student com alfa de 0,05.

A metodologia utilizada para os ensaios de pH, densidade, crioscopia e sólidos solúveis foi embasada no manual Básico Cap-Lab e da cor o manual Granotec.

As datas de produção e as características de produção, particulares de cada estabelecimento, estão descritos nas tabelas 4 e 5, respectivamente leite com e sem lactose:

**Tabela 3 - Identificação das amostras de leite utilizadas com lactose**

Amostras	Lote/Turno/Responsável/Horário (caso atender)	Data de fabricação	Data de Validade	Teor de Gordura
A1	TT05JM 01:59	16/03/2016	14/07/2016	Semidesnatado
A2	21:59	27/02/2016	25/06/2016	Semidesnatado
A3	L1 6017	17/04/2016	25/07/2016	Semidesnatado
A4	6119 A	29/04/2016	27/08/2016	Semidesnatado
A5	L16004	17/04/2016	23/09/2016	Semidesnatado

**Fonte: Autoria Própria (2016)**

**Tabela 4 - Identificação das amostras de leite utilizadas “zero lactose”**

Amostras	Lote/Turno/Responsável/Horário (caso atender)	Data de fabricação	Data de Validade	Teor de Gordura
B1	TT03IA 04:57	16/03/2016	15/06/2016	Semidesnatado
B2	23:35	26/02/2016	24/06/2016	Semidesnatado
B3	S11MO9TB	21/01/2016	30/04/2016	Semidesnatado
B4	L50I 08:25	03/02/2016	02/06/2016	Semidesnatado
B5	L16002	22/03/2016	20/07/2016	Semidesnatado

**Fonte: Autoria Própria (2016)**

### 3.1 COR

O objetivo foi avaliar a cor das amostras traduzindo essa cor em números.

A análise de cor foi realizada com leitura diretamente em colorímetro, o equipamento é da marca Hunter Lab. O resultado foi expresso em CIELAB onde:

- L\* indica luminosidade (quanto maior o valor, mais clara é a amostra)
- a\* indica cores entre vermelho e verde (quanto mais negativo mais verde, quanto mais positivo mais vermelho)
- b\* indica cores entre azul e amarelo (quanto mais negativo mais azul, quanto mais positivo mais amarelo).

### 3.2 CRIOSCOPIA

O objetivo da análise é avaliar o ponto de congelamento do leite e depende da concentração de sólidos solúveis da amostra.

O método é útil também para detecção de fraude por adição de água no leite.

- Materiais: Crioscópio eletrônico, pipeta graduada de 5mL, tubos de crioscopia, soluções padrão para calibração, solução anticongelante;
- Procedimento:

Realizou-se a calibração com os padrões de temperatura das amostras.

Transferiu-se o volume recomendado da amostra (2,5ml) em tubo de crioscopia e inseriu-se no aparelho.

Acionou-se o botão de leitura e o resultado do ponto de congelamento foi informado no display do equipamento.

Efetou-se a limpeza após cada leitura do sensor e do agitador com água e retira-se delicadamente a água excedente com papel absorvente fino.

A maioria dos equipamentos apresenta os resultados em escala Hortvet (°H), se necessário converter o valor para escala Celsius (°C), considerar a relação:  $T(^{\circ}\text{C}) = 0,9656 \times T(^{\circ}\text{H}) = 1,0356 \times T(^{\circ}\text{C})$ .

### 3.3 DENSIDADE

O objetivo deste ensaio é verificar a relação massa (g) / volume (L) do leite. A densidade da amostra em uma determinada temperatura é dependente de sua composição centesimal.

A imersão de um densímetro de massa constante, o termolactodensímetro, provocará deslocamento de uma quantidade de amostra que será, em massa, igual à densímetro utilizado e em volume proporcional à densidade da amostra. Esse deslocamento fará o líquido alcançar um valor na escala graduada. O instrumento é provido de termômetro, permitindo a leitura simultânea da temperatura.

- Materiais: Proveta de 500mL, papel toalha absorvente, termolactodensímetro aferido.
- Procedimento:

Transferiu-se para a proveta um volume de leite compatível com a capacidade do frasco, de forma que a posição do termolactodensímetro permita a leitura: aproximadamente 500mL de leite para uma proveta de capacidade 500 mL, evitando a incorporação de ar e a formação de espuma.

Introduziu-se o termolactodensímetro aferido perfeitamente limpo e seco na amostra, deixando flutuar sem que encoste-se às paredes da proveta.

Observou-se a densidade aproximada, levantando-se cuidadosamente o termolactodensímetro, retornando o aparelho à posição anteriormente observada.

Deixou-se em repouso por 1 a 2 minutos e procedeu-se a leitura da densidade na parte mais alta do menisco.

Observou-se a temperatura e correlacionada com a temperatura da amostra e do valor da densidade disposto na tabela de conversão, a fim de obter a densidade correspondente a 15°C.

### 3.4 PH

A medição eletrométrica da atividade iônica do hidrogênio em meio aquoso, utilizando o eletrodo padrão.



- Materiais: pHmetro, béqueres de 50 ml, Solução tampão pH 4, solução tampão pH 7.
- Procedimento:

Realizou-se a calibração do pHmetro utilizando as soluções tampão pH 4 e pH 7, de preferência na temperatura em que serão utilizadas as amostras.

Transferiu-se aproximadamente 50ml de amostra para um béquer e foi inserido o eletrodo na amostra para realizar a medição do pH.

Aguardou-se a estabilização do valor e anotou-se a leitura.

### 3.5 SÓLIDOS SOLÚVEIS

Utilizou-se como princípio o índice de refração de uma substância pura, que sendo constante, para determinada condição de temperatura e pressão, pode ser utilizado para a sua identificação.

O refratômetro faz uso do princípio do ângulo crítico ou ângulo limite de reflexão total, que tenha relação com alguma propriedade da amostra. A luz que passa de um meio ao outro sofre refração, uma mudança do ângulo de incidência, que medido pode revelar características próprias do fluido analisado.

A determinação da porcentagem dos sólidos solúveis no leite, através do método refratométrico é simples, rápido e possui uma boa precisão.

A escala Brix é baseada numa solução de sacarose (açúcar) e água. Entretanto, já que a maioria das amostras contém outras substâncias além do açúcar, como sais, minerais e proteínas, a porcentagem Brix representa a concentração total dos sólidos solúveis.

- Materiais: bastão de vidro, refratômetro, pano úmido.
- Procedimento:

Colocou-se uma ou duas gotas da amostra no prisma do refratômetro;

Fechou-se a lâmina cuidadosamente.

A amostra foi distribuída por toda a superfície do prisma e as bolhas eliminadas.

A leitura foi realizada através do óculo, onde a linha intercepta a escala direcionando o refratômetro contra a luz.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste tópico serão apresentados os resultados obtidos no desenvolvimento do presente estudo.

O pH do leite normalmente varia entre 6,6 a 6,8, as amostras de leite com lactose apresentaram média de 6,78 e as sem lactose 6,75.

Pode-se concluir que os resultados encontrados são considerados dentro da alcalinidade e se avaliados pela perspectiva de vida útil do produto, segundo estudo de FAEDO (2013) se apresentam dentro da faixa ideal (6,72 para um dia de vida útil a temperatura de 5°C).

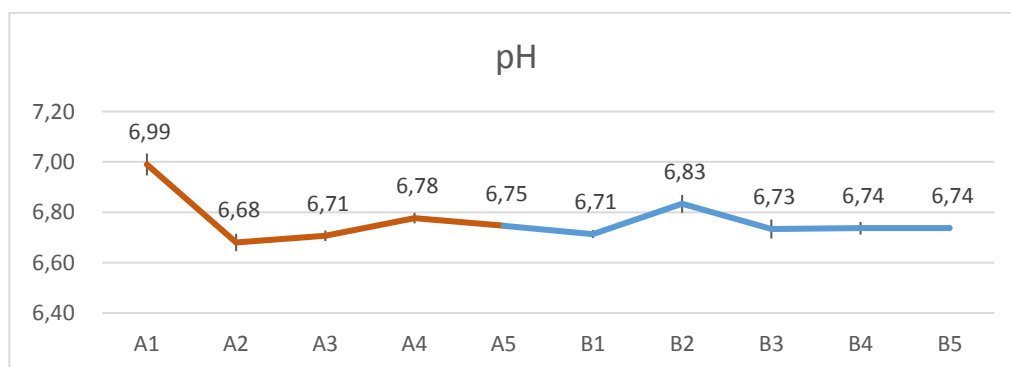
De acordo com o teste T Student, tratando de teste bicaudal e comparando com o valor tabelado, observamos que:  $T 0,457 < 2,776$  (Tabelado) então não existe diferença significativa entre os leite com e sem lactose para pH.

Na sequência temos a tabela com todos os resultados obtidos nas medições de pH e o gráfico correspondente.

**Tabela 5 - Resultados das medições de pH**

	Amostras de leite com lactose					Amostras de leite sem lactose				
	A1	A2	A3	A4	A5	B1	B2	B3	B4	B5
1	6,97	6,64	6,69	6,77	6,74	6,7	6,8	6,69	6,71	6,73
2	7,04	6,7	6,7	6,76	6,75	6,71	6,83	6,76	6,74	6,75
3	6,96	6,7	6,73	6,8	6,75	6,73	6,87	6,75	6,76	6,73
Média por amostra	6,99	6,68	6,71	6,78	6,75	6,71	6,83	6,73	6,74	6,74
<b>Média Geral</b>	<b>6,78</b>					<b>6,75</b>				
D. P.	0,04	0,03	0,02	0,02	0,01	0,02	0,04	0,04	0,03	0,01

Fonte: Autoria Própria (2016)



**Gráfico 1 – Resultado das medições de pH das 10 amostras de leite com e sem lactose.**

Os resultados obtidos nas análises de Crioscopia demonstraram que os leites com lactose se apresentam dentro da faixa de normalidade exigida pela legislação vigente (-0,531° H a -0,550° H).

Nas amostras de leite sem lactose, estes valores variam entre -0,814° H a -0,837° H e se encontram dentro das faixas de valores esperadas para este tipo de produto, como um indicativo do alcance da hidrólise da lactose.

Esta diminuição em torno de 33% do ponto de congelamento pode ser atribuída ao aumento dos açúcares redutores do leite (glicose e galactose), pode-se considerar também a adição da enzima e o consumo da água durante a reação (TREVISAN, 2009).

Os resultados obtidos nos permitem afirmar que a determinação do ponto de congelamento demonstrou ser o procedimento efetivo para constatar possíveis fraudes (WANDERLEY, 2012), também alterações como o processo de hidrólise.

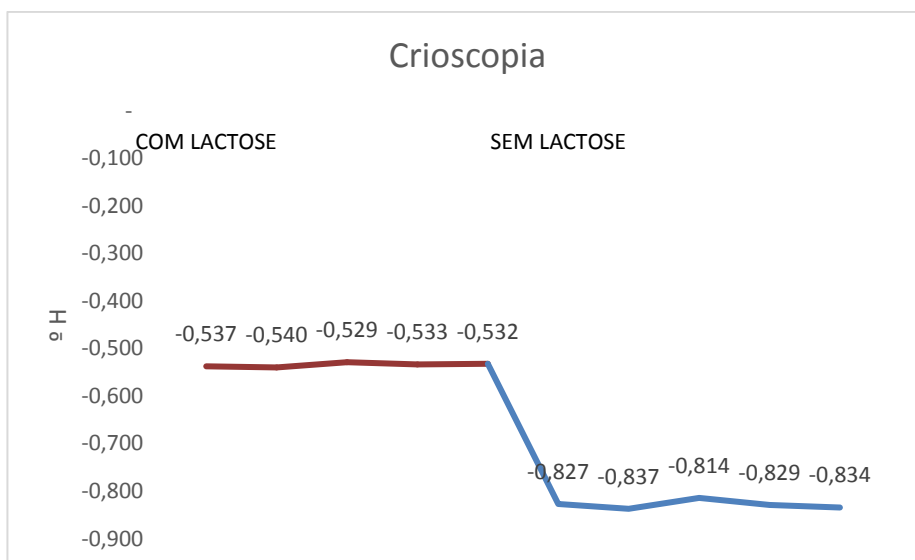
De acordo com o teste T Student, tratando de teste bicaudal e comparando com o valor tabelado, observamos que:  $T_{99,675} > 2,776$  (Tabelado) existe diferença significativa entre os leites com e sem lactose para crioscopia.

A tabela a seguir possui os resultados obtidos nas análises de crioscopia e as médias obtidas, bem como o gráfico correspondente.

**Tabela 6 - Resultados das Análises de Crioscopia**

	Amostras de leite com lactose					Amostras de leite sem lactose				
	A1	A2	A3	A4	A5	B1	B2	B3	B4	B5
1	-0,537	-0,539	-0,530	-0,533	-0,534	-0,827	-0,837	-0,814	-0,829	-0,834
2	-0,536	-0,540	-0,526	-0,534	-0,528	-0,827	-0,837	-0,814	-0,829	-0,834
3	-0,539	-0,540	-0,530	-0,533	-0,534	-0,827	-0,837	-0,814	-0,829	-0,834
Média por amostra	-0,537	-0,540	-0,529	-0,53	-0,532	-0,827	-0,837	-0,814	-0,829	-0,834
<b>Média Geral</b>	<b>-0,534</b>					<b>-0,828</b>				
D. P.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Fonte: Autoria Própria (2016)



**Gráfico 2 – Resultado das análises de Crioscopia (° Horvet).**

Os resultados obtidos para a análise de graus brix, obtiveram médias de 11,32 e 11,60 para as amostras de leite com lactose e sem lactose respectivamente.

Encontram-se dentro dos padrões estabelecidos pela legislação vigente. Este aumento entre 1,31% observado nas amostras de leite com lactose pode estar relacionada com a reação e o aumento dos constituintes solúveis, como a glicose e a galactose (TREVISAN, 2009).

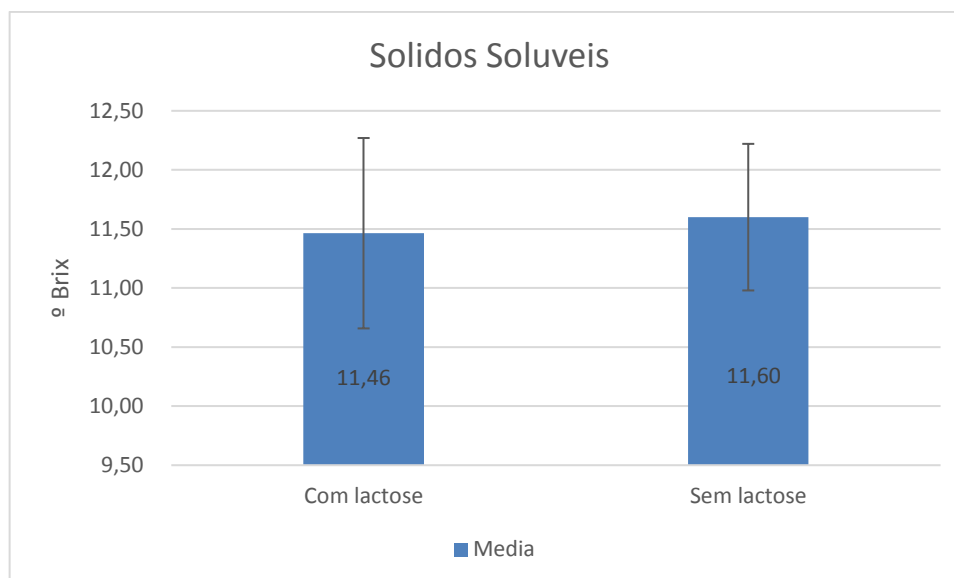
De acordo com o teste T Student, tratando de teste bicaudal e comparando com o valor tabelado, observamos que:  $T -0,226 < 2,776$  (Tabelado) então não existe diferença significativa entre os leite com e sem lactose para Sólidos Solúveis.

Na tabela 7 encontram-se os valores de grau brix para as amostras e o gráfico correspondente.

**Tabela 7 - Resultados das Análises de Sólidos totais – Brix**

	Amostras de leite com lactose					Amostras de leite sem lactose				
	A1	A2	A3	A4	A5	B1	B2	B3	B4	B5
	11,12	12	12,1	11,9	10,2	12,5	11,2	11,1	11,2	12
<b>Média</b>	<b>11,46</b>					<b>11,6</b>				
<b>D.P.</b>	<b>0,81</b>					<b>0,62</b>				

Fonte: Autoria Própria (2016)



**Gráfico 3 – Resultado das análises de Sólidos Solúveis (° Brix)**

Os resultados obtidos nas análises de densidade demonstraram que as amostras de leite com e sem lactose apresentam-se dentro dos padrões estabelecidos e que o processo de hidrólise da lactose não a afetou significativamente conforme o teste T Student e tratando de teste bicaudal e comparando com o valor tabelado, observamos que:  $T -0,431 < 2,776$  (Tabelado).

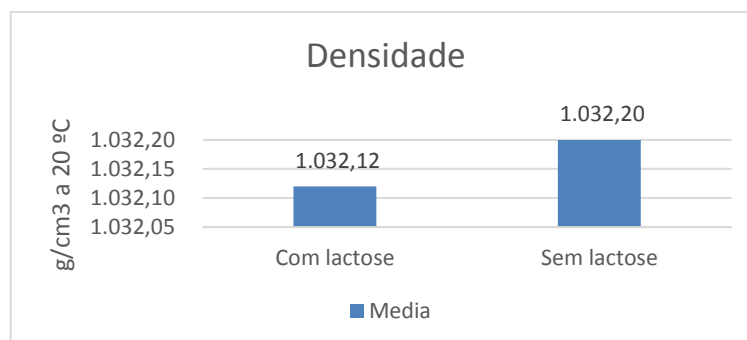
Os resultados obtidos demonstram que a reação não influenciou na relação entre massa e volume, pois os leites com desnate possuem um aumento de densidade devido a redução da quantidade de gordura (TREVISAN, 2009).

Na tabela 8 estão os resultados das medições de densidade e o gráfico correspondente.

**Tabela 8 - Resultados das Análises de Densidade**

	Amostras de leite com lactose					Amostras de leite sem lactose				
	A1	A2	A3	A4	A5	B1	B2	B3	B4	B5
	1032	1031,8	1032,4	1032	1032,4	1032,4	1032,4	1032	1031,8	1032,4
<b>Média</b>	<b>1032,12</b>					<b>1032,2</b>				
<b>D.P.</b>	<b>0,27</b>					<b>0,28</b>				

Fonte: Autoria Própria (2016)



**Gráfico 4 – Resultado das análises de Densidade g/cm³ a 20°C.**

Com relação a avaliação da cor das amostras:

Quanto à luminosidade ( $L^*$ ), as amostras com lactose apresentaram intervalo entre 66,14 e 68,55, e as amostras sem lactose, intervalos entre 64,54 e 68,18, sugerindo assim, que por meio do tratamento de hidrólise da lactose, ocorre escurecimento das amostras, porém o teste T Student, bicaudal e comparado com o valor tabelado, nos mostra que:  $T 1,738 < 2,776$  (Tabelado) então não existe diferença significativa quanto Luminosidade. Na tabela 9 encontram-se os resultados obtidos:

**Tabela 9 - Resultados da Análise de Cor**

Amostra	$a^*$	$b^*$	L	HUE °	CROMA	
COM LACTOSE	A1	-2,61±0,03	1,28±0,08	68,55±0,02	-26,11±0,98	1,15±0,02
	A2	-3,05±0,02	-0,06±0,03	66,14±0,02	1,13±0,53	1,76±0,01
	A3	-2,99±0,04	0,16±0,01	67,57±0,01	-3,00±0,18	1,68±0,01
	A4	-3,03±0,02	0,45±0,03	68,03±0,03	-8,46±0,44	1,61±0,01
	A5	-3,01±0,04	-0,01±0,02	67,8±0,02	0,13±0,32	1,74±0,01
SEM LACTOSE	B1	-2,85±0,05	0,14±0,09	65,78±0,01	-2,86±1,44	1,64±0,01
	B2	-2,46±0,05	1,00±0,04	65,91±0,01	-22,05±0,61	1,21±0,01
	B3	-0,15±0,04	2,22±0,06	64,54±0,01	-86,22±0,71	1,44±0,02
	B4	-0,73±0,03	4,06±0,2	68,18±0,01	-79,76±0,35	1,82±0,01
	B5	-1,12±0,03	1,35±0,05	67,64±0,01	-50,40±0,29	0,48±0,02

**Fonte: Autoria Própria (2016)**

Para os tons de vermelho e verde ( $a^*$ ), o intervalo para as amostras com lactose, encontra-se entre -2,61 e -3,05. Este intervalo, para as amostras sem lactose, é de -0,15 e -2,85. Estes resultados sugerem que o tratamento enzimático tende a direcionar o tom das amostras para o para um tom menos verde, mais próximo do branco.

As tonalidades azul e amarelo, são verificadas em função do valor ( $b^*$ ), sendo assim, os valores encontrados para as amostras com lactose encontram-se entre - 0,06 e 1,28, e os valores para as amostras sem lactose vão de 0,14 a 4,06. Estes valores indicam que o processo de hidrólise intensifica a tonalidade amarela das amostras.

Pode-se verificar que a amostra A1 (com lactose) e B1 (sem lactose) obtiveram resultados contraditórios para as determinações de  $a^*$  e  $b^*$ , indicando que provavelmente a hidrólise seja realizada após o processo de esterilização do leite, diferente das demais amostras.

Estes resultados demonstram que os processos de hidrólise enzimática afetam esta característica do leite e podem estar relacionados com a reação, considerando que existem diferentes maneiras de promover a deslactação.

Quando a hidrólise ocorre antes da pasteurização ou esterilização, de acordo com FAEDO, 2013, o processo de hidrólise enzimática promove aspectos como doçura excessiva e a ocorrência da reação de Maillard, pois ocorre a quebra da lactose em açúcares redutores (glicose e galactose) mais reativos que a própria lactose, e estes ao serem submetidos a temperaturas elevadas podem causar escurecimento.



## 5 CONCLUSÃO

As análises realizadas neste estudo demonstraram que o processamento da hidrólise enzimática não alterou os resultados das análises de pH, sólidos solúveis (brix) e densidade.

As alterações significativas foram determinadas para os valores de crioscopia, sendo este um teste de sensibilidade maior, apresentando uma diminuição em torno de 33 %.

Outro fato observado foram no que diz respeito a cor das amostras, antes e após o processo de hidrólise, que apresentaram resultados diferenciados. Embora não existam fontes de estudos de cor, voltadas em especificamente para o produto objeto de estudo, fica aqui a sugestão da necessidade de explorar o que ocasiona de fato a mudança de coloração no leite quando submetidos aos processos de hidrólise enzimática, mesmo que esta mudança não seja significativa estatisticamente.

Os resultados das análises das amostras encontram-se dentro dos padrões estabelecidos pela legislação para os leites semi-desnatados UHT, considerando que não está previsto um padrão de cor para este tipo de produto.

## REFERÊNCIAS

\_\_\_\_\_. BRASIL, MAPA. RIISPOA - **Regulamento Industrial de Inspeção Sanitária de Produtos de Origem Animal**. Decreto nº 30.691/1952 e reestruturado em 2007 pela Divisão de Produtos de Origem Animal.

ANDRADE, A. C. **Estudo da fermentação simultânea à hidrólise de soro de queijo, utilizando lactase e *Saccharomyces cerevisiae***. 2005. 110 f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-graduação em engenharia Química, Universidade Federal de Uberlândia – UFU. Uberlândia, MG. 2005.

BRASIL. **PORTARIA Nº 29, DE 13 DE JANEIRO DE 1998**. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. Regulamento Técnico referente a Alimentos para Fins Especiais.

ACQUARO Jr., V. R. **Desenvolvimento e validação de método para extração e quantificação através de HPLC com índice de refração para lactose em leite pasteurizado**. Universidade Estadual de Londrina, Laboratório DIA, Departamento de Química. Londrina, PR. 2013.

BARBOSA, C.R.; ANDREASSI, A.P. **Intolerância a lactose e suas consequências no metabolismo de cálcio**. Revista Saúde e Pesquisa, v.4, n. 1, p. 81-86, jan./abr. 2011.

BIOQUIMICA, blog de. Disponível em:  
<[http://bioquimicadanut.blogspot.com.br/2013\\_07\\_01\\_archive.html](http://bioquimicadanut.blogspot.com.br/2013_07_01_archive.html).> Acesso em: 08 set. 2016.

BRITO, J. R. F.; BRITO, M. A. V. P. **Qualidade Higiênica do Leite**. EMBRAPA. Documento nº 62. Centro Nacional de Pesquisa de Gado de Leite. Juiz de Fora, MG. 1998.

CARMINATTI, A.C. **Ensaio de Hidrólise enzimática da Lactose em reator a Membrana utilizando *Beta-Galactosidase Kluyveromyces Lactis***. 2001. 79 f. Dissertação (Mestrado) - Programa de pós-graduação em Engenharia Química, Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 2001.

CASTANHEIRA, A.C.G. **Manual Básico: Controle de qualidade de leite e derivados**. CAP-LAB, São Paulo – SP, jun 2010.

COSTA, W. S. Influência da concentração de Sólidos Solúveis Totais no sinal Fotoacústico da Polpa de Cana. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v.6, n.2, p.141-147, 2004.

CUNHA, L.R. Desenvolvimento e avaliação de embalagem ativa com incorporação de lactase. **Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, SP, 27(supl.): pag. 23-26, ago. 2007.

CUNHA, M. E. T. **Intolerância à Lactose e Alternativas Tecnológicas**. UNOPAR, Universidade do Norte do Paraná. Ciênc. Biol. Saúde, Londrina, v. 10, n. 2, p. 83-88, Out. 2008.

DSM Food Specialties Dairy Ingredients - DSM em Alimentos, bebidas e suplementos dietéticos. Disponível em: <<http://www.dsm.com/corporate/home.html>> Acesso em: 20 set. 2016

FACHINELLI, C. **Controle de Qualidade do Leite – Análises Físico-químicas e Microbiológicas**. Trabalho de conclusão de curso, Tecnologia em Alimentos. Instituto Federal, de Educação, Ciência e Tecnologia. Bento Gonçalves, RS. 2010.

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

GRANOTEC; **Colorimetria**. Disponível em: <http://www.granotec.com.br/arquivos/COLORIMETRIA.pdf>/. Acesso em: 28 nov. 2016

GIESE, E.C. **Produção, propriedades e aplicações de oligossacarídeos**. Seminário de Ciências Agrárias, Londrina, v. 32, n. 2, p. 683-700, abr/jun. 2011.

JUNIOR, G.B.V. **Bioestatística: Teste T student**. Disponível em: [http://www.cpaqv.org/estatistica/teste\\_t.pdf](http://www.cpaqv.org/estatistica/teste_t.pdf)/. Acesso em: 11 dez. 2016.

LONGO, G. **Influência da adição de Lactase na produção de iogurtes**. 2006. 109 f. Dissertação (Mestrado) - Programa de pós-graduação em Tecnologia em Alimentos. Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR. 2006.

MANERA, A. P. **Síntese de Galacto-Oligossacarídeos a partir de células permeabilizadas de *Kluyveromyces marxianus***. 2010. 174 f. Tese (Doutorado) – Departamento de Engenharia de Alimentos. Universidade Estadual de Campinas. Campinas, SP. 2010.

MATTAR, R.; MAZO, D.F.C. **Intolerância a lactose: mudança de paradigmas com a biologia molecular**. Departamento de Gastroenterologia, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. São Paulo. Ver Assoc Med Bras, 2012; p 230-236.

MILKPOINT, **o ponto de encontro da cadeia produtiva do leite. Intolerância à lactose: parte 1 - etiologia, epidemiologia e prevalência**. Publicado em 29/06/2005 por Juliana Santim. Disponível em: <<http://www.milkpoint.com.br/cadeia-do-leite/leite-saude/intolerancia-a-lactose-parte-1-etilogia-epidemiologia-e-prevalencia-25559n.aspx>> Acesso em: 01 ago. 2016.

ORDÓNEZ, J. A. **Tecnologia em Alimentos**. Alimentos de Origem Animal; vol. 2. Porto Alegre: Artemed, 2005.

RODRIGUES, E. **Qualidade do Leite e Derivados. Processos, Processamento Tecnológico e Índices**. Manual Técnico 37, ISSN 1983-5671. Programa Rio Rural, Niterói, RJ. 2013.

ROSA, L. S. Avaliação da qualidade físico-química do leite ultra pasteurizado comercializado no município de Erechim. **Revista Vigil. Sanit**, Erechim, RS. debate 2015; vol. 3, pag. 99-107. RS. Instituto Federal de Educação e Tecnologia do Rio Grande do Sul (IFRS).

SANTANA, L. N. S. **Imobilização e estabilização de  $\beta$ -Galactosidase por ligações multipontuais em Duolite A568**. Dissertação (Mestrado). Programa de pós Graduação em Engenharia Química. Universidade Federal de Uberlândia. Uberlândia, MG, 2012.

SANTIAGO, P. A. Estudo da Produção de  $\beta$ -Galactosidase por fermentação de soro de queijo com *Kluyveromyces marxianus*. **Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, 24(4): 567-572, out.-dez. 2004.

SANTOS, D. Blog do Professor Djalma Santos, Educação, Biologia e Afins. Publicação de 12/03/2011, disponível em : <<https://djalmasantos.wordpress.com/2011/03/12/operon/>> Acesso em: 01 ago. 2016.

SILVA, G. **Produção Alimentícia: Processamento do Leite**. Rede E-TEC Brasil. UFRPE/CODAI, 2012.

SILVA E SILVA, L. P. **Propriedades termofísicas e comportamento reológico do leite e soro de búfala**. Universidade Estadual do Sudoeste de Bahia – UESB. Departamento de pós-graduação em Engenharia de Alimentos. Itapetinga, BA, 2014.

TREVISAN, A. P. **Influências de diferentes concentrações de Enzimas Lactase e Temperaturas sobre a Hidrólise da Lactose em Leite Pasteurizado**. 2008. 60 f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos, Universidade Federal de Santa Maria. Santa Maria, RS. 2008.

TREMARIM, A. **Condições operacionais na hidrólise enzimática da lactose em reator a membrana**. 2007. 104 f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-graduação em Engenharia de Alimentos. Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, SC. 2007.

VALSECHI, O. A. **O Leite e seus Derivados**. Tecnologia de Produtos de Origem Animal, Departamento de Tecnologia Agroindustrial e Socioeconômica Rural. Universidade Federal de São Carlos. Araras, SP, 2001.

VENTURINI, K. S.; SARCINELLI, M. F.; SILVA, L. C. da. Características do leite. Vitória: Universidade Federal do Espírito Santo/Pró-Reitoria de Extensão, Programa Institucional de Extensão, 2007. (**Boletim Técnico** - PIE-UFES: 01007).

WANDERLEY, C. H.; SILVA, A. C. de O.; SILVA, F. E. R.; MÁRSICO, E. T. M.; CONTE, JUNIOR. C. A. **Avaliação da sensibilidade de métodos analíticos para verificar fraude em leite fluido**. Rev. de Ci. da Vida, RJ, EDUR, v. 32, n 2, jul / dez, p. 34-42, 2012.

WHATTAM, D. **Lactose Intolerance**. Disponível em: <https://prezi.com/nf5bqut69v2y/lactose-intolerance/>. Acesso em: 02 ago. 2016.

WORTMANN, A. C. **Análise molecular da hipolactasia primária do tipo adulto**.

\_\_\_\_\_. Uma nova visão do diagnóstico de um problema antigo e frequente. **Revista da AMRIGS**, Porto Alegre, 57 (4): 335-343, out.-dez. 2013.