

**UNIVERSIDADE DE PASSO FUNDO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E
TECNOLOGIA DE ALIMENTOS**

Creciana Maria Endres

**Produção de xarope hidrolisado de lactose do permeado de soro
de leite e aplicação em bebida láctea fermentada**

Passo Fundo

2016

Creciana Maria Endres

**Produção de xarope hidrolisado de lactose do permeado de soro
de leite e aplicação em bebida láctea fermentada**

Dissertação de Mestrado apresentada
para obtenção do título de Mestre em
Ciência e Tecnologia de Alimentos
Orientador: Prof.^a Dr.^a Vera Maria
Rodrigues
Co-orientador: Prof. Dr. Vandr e Barbosa
Brião

Passo Fundo

2016

**UNIVERSIDADE DE PASSO FUNDO
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE
ALIMENTOS**

A comissão examinadora, abaixo assinada, aprova a Dissertação de Mestrado

Produção de xarope hidrolisado de lactose do permeado de soro de leite e aplicação
em bebida láctea fermentada

Elaborada por
Creciana Maria Endres

Como requisito parcial para a obtenção do grau de
Mestra em Ciência e Tecnologia de Alimentos

Comissão Examinadora


**Vera Maria Rodrigues, Dra; UPF
(Orientador/Presidente)**


Vandrê Barbosa Brião, Dr., UPF


Luciane Maria Colla, Dra., UPF


Andréia Maria Faion, Dra., Senai

**Passo Fundo, RS, Brasil
2016**

CIP – Catalogação na Publicação

- E56p Endres, Creciana Maria
Produção de xarope hidrolisado de lactose do permeado de soro de leite e aplicação em bebida láctea fermentada / Creciana Maria Endres. – 2016.
103 p. : il. color. ; 30 cm.
- Orientador: Prof.^a Dr.^a Vera Maria Rodrigues.
Coorientador: Prof. Dr. Vandré Barbosa Brião.
Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade de Passo Fundo, 2016.
1. Soro do leite. 2. Xaropes. 3. Hidrólise. 4. Lactose.
I. Rodrigues, Vera Maria, orientador. II. Brião, Vandré Barbosa, coorientador. III. Título.

CDU: 637.1

A Ederson Cleiton Justino...

AGRADECIMENTOS

Á Deus, Ser Supremo.

Á Professora Vera Maria Rodrigues, incentivadora, conselheira, exemplo seguido.

Ao Professor Vandr  Barbosa Brião, auxílio, coorientação.

Aos colegas Bruna, Sandrini, Gabriel, Vinicius, Alessandra, Clarice, João,
Silvio, pelo grupo de trabalho perfeito.

As empresas fornecedoras das enzimas, muito agradecida.

Ao Ederson, por tudo.

Aos meus pais, pela confiança e segurança.

Aos colegas Elisa, Maristela, Ricardo, pela ajuda.

Aos meus irmãos Criz li e Cleociano, pelo
apoio.

  Suzane, por ser a melhor amiga.

Aos Professores PPGCTA, pelo
conhecimento e oportunidade de aprendizado.

Ao SENAI, continuidade.

*“Onde você trabalha as pessoas sempre te dão as opiniões mais honestas?
Fazem perguntas que ninguém pensaria fazer?
Você consegue debater com gente que realmente quer formar a sua própria opinião?
Trabalhe com as pessoas mais interessantes do mundo.
Seja um professor!”
(Campanha do Ministério da Educação)*

*“Deus nos fez perfeitos e não escolhe os capacitados, capacita os escolhidos.”
(Albert Einstein)*

RESUMO

O soro de leite é originado do processo de elaboração de queijos, este é produzido em grande quantidade pela indústria láctea. Este apresenta em sua composição em média 4,6% de lactose, que é o principal carboidrato do soro de leite. A lactose do soro de leite apresenta alta potencialidade de aplicação em formulações alimentícias, além de ser uma potencial matéria prima para produção de glicose e galactose, por meio de hidrólise originando um xarope rico em glicose e galactose, com maior poder adoçante que a própria lactose que pode ser empregada na formulação de alimentos. O objetivo deste trabalho foi desenvolver um processo para utilizar o permeado da ultrafiltração, possibilitando a elaboração do xarope de glicose e galactose bem como sua aplicação em formulação alimentícia. A elaboração do xarope ocorreu por processo de tratamento da lactose concentrada, hidrólise enzimática, seguido da etapa de concentração, após a elaboração do xarope procedeu-se com a aplicação do mesmo em formulação de bebida láctea fermentada sem lactose. A hidrólise enzimática procedeu-se com quatro diferentes enzimas comerciais, A, B, C e D e diferentes concentrações de enzima, (0,07 %, 0,1 %, 0,5 % e 1 %). Os produtos foram caracterizados por suas propriedades físico-químicas. Os resultados demonstraram que a enzima C apresentou melhores resultados, quando a concentração escolhida foi 0,1 % (v/v) de enzima. Quando substituído a sacarose por 25 % de xarope na formulação de bebida láctea, teve-se uma boa aceitação pelo painel sensorial, demonstrando que o xarope pode ser aplicado na bebida láctea sem lactose e inclusive esta pode ser consumida por pessoas intolerantes, pois apresentou residual de lactose <0,5 % tornando-se um produto com baixo teor de lactose. Com isso o processo sugerido poderá ser reproduzido em escala industrial para elaboração do xarope, trazendo alternativas de reutilização do subproduto permeado da ultrafiltração, tornando-se uma alternativa viável para o setor lácteo.

Palavras-chave: Permeado de soro de leite. Hidrólise. Xarope hidrolisado.

ABSTRACT

The whey is derived from the preparation of cheeses process, it is produced in large quantities by the dairy industry. This presents in its composition on average 4.6% lactose, which is the major whey carbohydrate. The lactose in the whey has a high potential application in food formulations, in addition to being a potential raw material for producing glucose and galactose by hydrolysis yielding a rich syrup into glucose and galactose, more sweetening power than lactose own which can be used in food formulation. The aim of this study was to develop a process to use the permeate ultrafiltration, enabling the development of glucose syrup and galactose as well as its application in food formulation. The preparation of syrup occurred concentrated lactose treatment process, enzymatic hydrolysis, followed by the concentration step, the preparation of the syrup proceeded with the application of it in milk beverage formulation fermented without lactose. The enzymatic hydrolysis is carried out with four different commercial enzymes, A, B, C and D different concentrations of enzyme (0.07 %, 0.1 %, 0.5 % and 1 %). The products were characterized by their physicochemical properties. The results showed that C enzyme showed better results when the selected concentration was 0.1 % (v / v) enzyme. When replaced sucrose by 25% syrup in the milk beverage formulation had to be a good acceptance by the sensorial panel, showing that the syrup can be applied in dairy drink lactose-free and even this can be consumed by intolerant people because it had residual lactose <0.5 % making up a product with low content of lactose. It suggested the process could be played on an industrial scale for the preparation of syrup, bringing alternative reuse of by-product permeate ultrafiltration, making it a viable alternative to the dairy sector.

Key-words: Whey permeate. Hydrolysis. Hydrolyzate syrup.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Molécula química da lactose.....	22
Figura 2 - Molécula de lactose hidrolisada	25
Figura 3 - Fluxograma de elaboração de bebida láctea fermentada	29
Figura 4 - Fluxograma obtenção da lactose concentrada.....	31
Figura 5 - Fluxograma geral	32
Figura 6 - Fluxograma do processo de fabricação da bebida láctea fermentada sem lactose	38
Figura 7 - Grau de crioscopia do permeado do soro de leite	44
Figura 8 - Precipitado formado no processo de congelamento.....	45
Figura 9 - Grau de hidrólise da lactose utilizando-se enzimas A, B, C e D	49
Figura 10 - Conversão da lactose em glicose	50
Figura 11 - Xaropes hidrolisados e concentrados	52
Figura 12 - Grau de hidrólise para as diferentes concentrações da enzima C	53
Figura 13 - Aspecto final do xarope hidrolisado e concentrado	57
Figura 14 - Aspecto visual da Bebida Láctea formulada saborizada de coco	59
Figura 15 - Cromatograma Bebida Láctea.....	64

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Composição média do soro lácteo bovino	19
Tabela 2 - Composição dos diferentes tipos de soro	20
Tabela 3 - Poder adoçante de açúcares	22
Tabela 4 - Formulação das bebidas lácteas.....	37
Tabela 5 - Caracterização lactose concentrada e xarope de lactose	46
Tabela 6 - Caracterização dos sais presentes na lactose concentrada (LC).....	47
Tabela 7 - Comparação da lactose concentrada com os dados de Andrade et al. (2013)	47
Tabela 8 - Percentual de hidrólise ao final das 4 h de reação	48
Tabela 9 – Teor de lactose inicial e final do xarope	51
Tabela 10 - Análise estatística das concentrações	55
Tabela 11 - Caracterização do xarope hidrolisado e concentrado com 0,1% de enzima	57
Tabela 12 - Caracterização das bebidas lácteas fermentada	59
Tabela 13 - Resultados análises microbiológicas	61
Tabela 14 - Testes afetivos, de aceitabilidade e de intenção de compra para as bebidas lácteas	62
Tabela 15 - Teste discriminativo de diferença do controle para as bebidas lácteas.	63

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Análises empregadas para caracterização do xarope	40
--	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

ABIQ: Associação Brasileira das Indústrias de Queijos

ANOVA: Analysis of Variance

ANVISA: Agência Nacional de Vigilância Sanitária

AOAC: Association of Official Analytical Chemists

APHA: American Public Association

CAAE: Certificado de Apresentação para Apreciação Ética

CPS: Concentrado Proteico de Soro

DBO: Demanda Biológica de Oxigênio

DF: Diafiltração

DQO: Demanda Química de Oxigênio

ELFA: Enzyme Linked Fluorescent Assay

ESD: Extrato Seco Desengordurado

EST: Extrato Seco Total

HPAEC-PAD: High Performance Anion Exchange Chromatography with Pulsed Amperometric Detection

KDa: Kilodaltons

LC: Lactose Concentrada

MAPA: Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento

Mn⁺²: Manganês

Na⁺: Sódio

NF: Nanofiltração

NMP: Número Mais Provável

pH: Potencial Hidrogeniônico

RDC: Resolução da Diretoria Colegiada

SENAI: Serviço Nacional de Aprendizagem Industrial

TCLE: Termo de Consentimento Livre e Esclarecimento

UF: Ultrafiltração

UFC: Unidade Formadora de Colônia

UFP: Permeado da UF

UHT: Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

UPF: Universidade de Passo Fundo

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	16
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	19
2.1	SORO DE LEITE BOVINO	19
2.1.1	Lactose presente no soro de leite	21
2.1.2	Hidrólise da lactose.....	23
2.1.3	Utilização do permeado do soro de leite para obtenção da lactose concentrada.....	26
2.2	BEBIDAS LÁCTEAS FERMENTADAS	28
3	MATERIAL E MÉTODOS	30
3.1	MATÉRIA-PRIMA	30
3.2	MÉTODO DE TRABALHO.....	30
3.2.1	Método para produção da lactose concentrada	30
3.2.2	Método para produção do xarope de lactose	31
3.2.3	Método para a escolha da enzima <i>β-galactosidase</i>	33
3.2.4	Método para produção da bebida láctea fermentada	36
3.2.5	Caracterização dos produtos	39
3.2.6	Análise sensorial da bebida láctea	41
3.2.7	Análises dos dados.....	42
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	44
4.1	RESULTADOS PRELIMINARES	44
4.2	CARACTERIZAÇÃO DA LACTOSE CONCENTRADA E PRODUÇÃO DO XAROPE DE LACTOSE.....	45
4.3	ESCOLHA DA MELHOR ENZIMA	48
4.3.1	Escolha da Concentração da Enzima Seleccionada.....	53
4.4	PRODUÇÃO DA BEBIDA LÁCTEA FERMENTADA	58
4.4.1	Análise sensorial das bebidas lácteas	62
5	CONCLUSÃO	65
	SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	66
	REFERÊNCIAS	67
	APÊNDICE A - PARTICIPAÇÃO EM EVENTOS.....	77

APÊNDICE B - RELATÓRIO DE ENSAIO CROMATOGRAFIA.	78
APÊNDICE C - RELATÓRIO DE ENSAIOS MICROBIOLÓGICOS	80
APÊNDICE D - TABELAS NUTRICIONAIS	84
ANEXO A - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE - TCLE.....	85
ANEXO B - PARECER DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA	87
ANEXO C - FICHA DE ANÁLISE PARA O TESTE DE ACEITABILIDADE DO PRODUTO.....	90
ANEXO D - FICHA PARA A DIFERENÇA DO CONTROLE.....	91

1 INTRODUÇÃO

A indústria de laticínios encontra-se em constante crescimento no Brasil e dentre os produtos lácteos, destaca-se o queijo como um produto de elevado consumo. Com o aumento da produção de queijo, aumenta igualmente o volume de soro produzido, sendo que grande parte deste fluido não é utilizado no processo mas destinado à alimentação animal ou descartado de forma indevida, deixando de agregar valor a este subproduto lácteo. Segundo dados da Associação Brasileira das Indústrias de Queijo (Abiq) a produção de soro está em constante crescimento e estima-se que em 2014 foram produzidos 6,6 milhões de toneladas deste líquido. As indústrias nacionais, tem gerado grandes desafios tecnológicos com vistas a sua aplicação em processos industriais alternativos.

Rico em nutrientes, o soro de leite, pode ser uma alternativa para a indústria de alimentos, utilizando-o em formulações alimentícias, na perspectiva de otimizar o valor comercial do soro e dar uma destinação adequada a este importante fluido industrial.

O soro de leite apresenta em média 4,6% de lactose, que é o principal carboidrato do soro de leite. A lactose do soro de leite apresenta alta potencialidade de aplicação em formulações alimentícias, como em produtos panificados e balas, além de ser utilizada, quando pura, pela indústria farmacêutica. Outra aplicação bastante visível é sua utilização para produção de glicose e galactose, por meio de hidrólise (ALMEIDA et al., 2015; SOUZA et al., 2010).

Embora o soro de leite já seja utilizado na elaboração de bebida láctea e ricota, esta aplicação não tem agregado valor a este subproduto nutritivo. Novas alternativas estão sendo estudadas, para diferentes aplicações, como por exemplo, a separação, dos componentes presentes neste fluido, por membranas. Esse processo possibilita a recuperação e a concentração das proteínas do soro, para a obtenção de *whey protein*, assim como permite, também, o reaproveitamento da água do processo, aspectos importantes para a indústria na atualidade (BALDASSO, 2008).

A separação dos constituintes do soro de leite, pela tecnologia de separação por membranas, apresenta resultados positivos quanto a separação, concentração e purificação dos constituintes. O soro submetido ao processo de ultrafiltração, permite a recuperação das proteínas e, a corrente que permeia a membrana de ultrafiltração, denominada de permeado da ultrafiltração, permite a recuperação de lactose e dos sais.

Para concentrar e purificar este permeado, ele é submetido ao processo de Nanofiltração seguida de dialise, originando a lactose concentrada, que pode ter inúmeras aplicações industriais (BALDASSO et al., 2011; FAEDO et al., 2013).

A lactose concentrada, com alto teor de lactose e grande quantidade de água, ainda é pouco utilizada no laticínio. A alternativa é submetê-la ao processo de hidrólise, obtendo a glicose e galactose, com posterior processo de concentração, para retirada da água, dando origem ao xarope de lactose ou quando hidrolisado, ao xarope de glicose e galactose.

O processo de hidrólise e concentração desses açúcares representa um processo tecnológico rentável para a indústria alimentícia, pois possibilita a elaboração de xaropes com alto poder adoçante e que pode substituir a sacarose usualmente empregada em alimentos.

Para a realização da hidrólise, ou seja, a conversão da lactose e conseqüentemente formação da glicose e galactose, são aplicados processos enzimáticos sob condições específicas. A hidrólise enzimática pode variar de acordo com a temperatura, pH e por outros fatores como, a concentração de enzima e o tipo de substrato empregado. As enzimas, responsáveis pela hidrólise, são de fácil obtenção, podendo ser extraídas de fontes como, plantas, animais, fungos, bactérias e leveduras e são facilmente encontradas no mercado a preços razoáveis (KLEIN, 2010).

Este projeto teve como foco apresentar uma inovação para a indústria de laticínios quanto a utilização do permeado do soro de leite e sua aplicação em bebidas lácteas, visando dar um destino mais nobre à lactose.

A lactose oriunda do permeado do soro de leite, possibilitou sua aplicação em bebida láctea com fins especiais, ou seja, que pode ser consumido por pessoas intolerantes a lactose, assim como, pode ser adquirida pela população, com menor poder aquisitivo, pois bebida láctea tem custo de produção não tão elevado, como são produtos desta natureza, no mercado tradicional.

O objetivo geral do trabalho foi desenvolver um processo para utilizar o permeado da ultrafiltração, possibilitando a elaboração do xarope de glicose e galactose bem como sua aplicação em formulação alimentícia. Para isso foram utilizados o permeado da ultrafiltração; a elaboração do xarope de glicose e galactose; a caracterização do xarope e a elaboração de uma bebida láctea sem lactose, para atender o público que possui alergia a ela. Este projeto também teve como foco substituir a

sacarose empregada na formulação de bebida láctea pelo xarope produzido e avaliar sensorialmente o produto final.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 SORO DE LEITE BOVINO

Segundo a Abiq (2014), o Brasil produz elevado volume de queijo anualmente e, por consequência, grandes volumes de soro já que, para produzir um quilograma de queijo são gerados nove litros de soro. E em 2011 o país produziu 867 mil toneladas de queijo, com um aumento na produção em 9,4% em relação a 2010.

Levando em consideração que no Brasil são produzidas 450.000 toneladas de queijo por ano, são geradas 4.050.000 toneladas de soro de leite, ou seja a quantidade de soro gerada é maior do que a utilizada em formulações de alimentos (POPPI et al., 2010).

O soro de leite é o principal subproduto da indústria de laticínios, pois o leite fluído e o queijo são os principais produtos do setor. Desta forma o soro, por apresentar alto teor de nutrientes, pode ser reaproveitado na formulação de outros alimentos como a ricota, por exemplo.

O soro de leite é, portanto, a fração líquida após a remoção de caseína e outras proteínas durante a coagulação do leite, no processamento do queijo. A Tabela 1 descreve a composição média do soro de leite bovino.

Tabela 1 - Composição média do soro lácteo bovino

Componente	Teor (%)
Água	93,4
Lactose	4,60
Proteína	0,70
Cinzas	0,65
Cálcio	0,10
Fósforo	0,08
Gordura	0,05
Outros	0,42

Fonte: Adaptado de Carminatti (2001)

Conforme observado na Tabela 1 o soro de leite apresenta uma quantidade significativa de lactose (4,6%) e esta composição varia com a qualidade do leite

utilizado, com o tipo de queijo produzido e conforme é realizada a coagulação do leite, que pode ser na forma ácida ou enzimática (TRINDADE, 2002). O processo utilizado na coagulação é o responsável pelo tipo de soro gerado que pode ser soro doce ou soro ácido, conforme mostra a Tabela 2.

Tabela 2 - Composição dos diferentes tipos de soro

Constituintes	Soro Doce (%)	Soro Ácido (%)
Sólidos Totais	6,4	6,2
Proteína	0,8	0,75
Gordura	0,5	0,04
Lactose	4,6	4,2
Cinzas	0,5	0,8
Ácido Lático	0,05	0,4

Fonte: Adaptado de Aires (2010)

O soro de leite doce é o tipo predominante de soro, sendo mais rico em lactose que o soro ácido. Isto decorre do processo de fermentação, pois no processo de obtenção do soro ácido, uma fração da lactose é transformada em ácido lático. Por outro lado o soro ácido apresenta maior teor de cálcio e fósforo, devido à solubilidade do complexo cálcio-fósforo, existentes nas micelas de caseína, em pH ácido.

O soro de leite doce é obtido por coagulação enzimática do leite, através da adição da enzima coagulante chamada de renina. O soro de leite doce apresenta pH de 6 a 7, menor quantidade de sais, pois a ação da enzima renina não provoca a redução do pH, deixando os íons de cálcio retidos e associados às caseínas no queijo e não sendo liberados para o soro de leite. O soro de leite ácido apresenta pH de 4,3 a 4,6, sendo obtido por meio da coagulação ácida e a composição proteica, em ambos os soros, é semelhante. Por apresentar muitos nutrientes, em especial pelo teor de proteínas, este fluido pode ser reaproveitado pela indústria como matéria-prima na elaboração de outros alimentos (ALVES et al., 2014; AIRES, 2010).

O reaproveitamento é uma maneira de aumentar a rentabilidade e a competitividade dos laticínios, pois além de evitar o gasto com o tratamento de efluentes, há a possibilidade de lucrar com a fabricação de novos produtos (GOMES; PENNA, 2009).

Uma das alternativas tem sido destinar o soro para a produção de soro de leite em pó e compostos lácteos, bem como sua utilização como insumo na produção de

bebida láctea e ricota. O soro de leite constitui cerca de 50% das formulações de bebidas lácteas comercializadas atualmente no país e esta utilização constitui-se numa forma racional de aproveitamento desse produto secundário no laticínio (ALMEIDA et al., 2001). Além da aplicação em bebidas lácteas, o soro de leite pode ser utilizado em outros produtos como: doce de leite (COSTA et al., 2008; MADRONA et al., 2008), gelados comestíveis (FASSIO et al., 2009), bolos (ZAVAREZE et al., 2010), achocolatados (EDUARDO; LANNES, 2004), sorvete (SILVA et al., 2004), substrato para fermentação e produção de aguardente (BARBOSA et al., 2010) dentre outros. Contudo, segundo Baldasso (2008) estima-se que somente 50% do soro seja processado, sendo o restante destinado a outras aplicações como ração animal, por exemplo.

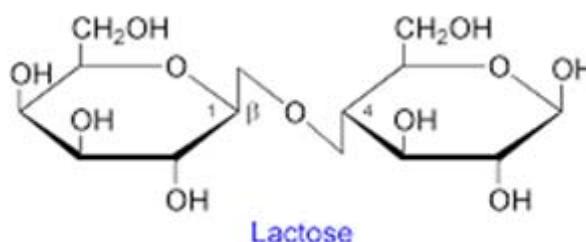
Com isso surge a necessidade de novos processos de otimização do soro, pois ainda se produz muito mais do que é processado atualmente. A separação dos constituintes do soro é uma alternativa. A separação e a recuperação das frações proteicas do soro têm ganhado crescente interesse nos últimos anos devido aos benefícios substanciais para as várias aplicações em alimentos, originando produtos como os concentrados proteicos, os hidrolisados proteicos, entre outros. Na produção de concentrados de proteína de soro de leite, também se obtém o permeado de soro de leite que contém uma quantidade importante de lactose. Este produto pode ser utilizado em formulações de alimentos, desempenhando papel importante (VOORDE et al., 2014). A lactose pode também ser utilizada em processos fermentativos, dando origem a alguns produtos como, por exemplo, etanol, biomassa, acetona, butanol, ácido láctico, lactato de amônio, ácido cítrico, ácido acético, ácido málico, gomas, aminoácidos, vitaminas, antibióticos, enzimas e metano (CUNHA, 2010).

2.1.1 Lactose presente no soro de leite

Segundo Longo (2006) a lactose é o principal carboidrato do soro de leite o principal açúcar presente no leite de mamíferos, cuja concentração é de aproximadamente 4,8%. É um dissacarídeo de massa molar de 342,3 g/mol, com diâmetro inferior a 1 μ m, formado pela junção de dois monossacarídeos, uma molécula de glicose e uma molécula de galactose, sendo o radical β -D-galactose e o radical α -D-glicose unidos por uma ligação glicídica β -1,4 conforme apresenta a Figura 1.

As moléculas se apresentam na forma de anel piranosídico, sendo assim denomina-se a lactose como 4-0- β -D-galactopiranosil-D-glucopiranoose. Ela é considerada um açúcar redutor, porque o grupo no carbono anomérico da porção de glicose não está envolvido na ligação glicosídica, estando livre para reagir com agentes oxidantes (FISCHER, 2010).

Figura 1 - Molécula química da lactose



Fonte: Adaptado de Friedrich (2013)

Quando comparado o poder adoçante dos carboidratos (Tabela 3) a lactose apresenta o menor poder adoçante dos açúcares, seguido D-galactose, D-glicose, sacarose e frutose. Ainda, apresenta alto poder de cristalização, que está associado a vários fatores, como a velocidade de mutarrotação das formas α e β , viscosidade, pH, temperatura utilizada e saturação da solução, pois quando se trabalha com partículas superiores a 10 micrômetros, contribui para o aparecimento de uma estrutura arenosa no produto final (FISCHER, 2010).

Tabela 3 - Poder adoçante de açúcares

Componente	Teor (%)
D-Frutose	173
Sacarose	100
D-Glicose	74
D-Galactose	32
Lactose	16

Fonte: Adaptado de Carminatti (2001)

A lactose pode ser utilizada em produtos como sorvete, leite condensado e doce de leite e também em produtos que se busca um alto grau de cristalização como por

exemplos balas. Para produtos onde não seja benéfico a utilização da lactose, devido a intolerância e a cristalização indesejável, tem-se a alternativa de efetuar a hidrólise da lactose formando glicose e galactose que são açúcares mais solúveis quando comparados à lactose e, portanto menos propensos à cristalização, além de possuírem maior poder adoçante (CARMINATTI, 2001; KLEIN, 2010; FISCHER, 2010).

Uma das principais alternativas para a elaboração do xarope hidrolisado do permeado do soro de leite é hidrólise da lactose, esta pode ser realizada por processos enzimáticos e ácidos, dando origem ao xarope deslactosado, que é evaporado a 60% dos sólidos totais, originando um xarope viscoso. Este pode ser aplicado em alimentos, como sorvetes, sobremesas lácteas, molhos e também em barras de cereais (ZENI, 2013).

Nos laticínios o processo de hidrólise da lactose é a mais nova alternativa tecnológica, visando ampliar as possibilidades de uso, além de auxiliar na redução dos impactos ambientais, causados pelo efeito poluidor da lactose presente no soro de leite (MUKHOPADHYAY et al., 2003).

2.1.2 Hidrólise da lactose

A hidrólise da lactose é um processo promissor para a indústria, pois possibilita o desenvolvimento de novos produtos destinados aos consumidores com restrições a esse dissacarídeo, além de oferecer vantagens tecnológicas, como a diminuição da cristalização da lactose em produtos lácteos e o aumento do poder adoçante (FISCHER, 2010).

Cerca de 25 % da população brasileira apresenta algum grau de intolerância à lactose (BVSMS, 2015), não podendo ingerir este carboidrato sob pena de sofrer sintomas como flatulências, dores abdominais, diarreia, náuseas e vômitos. Logo, a separação e purificação da lactose combinada com outros processos como a hidrólise, resolve o problema como um todo e permite melhor aproveitamento de nutrientes importantes, além da possibilidade de reutilização da água fluída contida na sua composição.

Segundo Cunha (2010), o produto formado apresenta vantagens tecnológicas em relação ao substrato. Os produtos gerados possuem alto poder adoçante e são menos suscetíveis a cristalização nos produtos lácteos, como doce de leite, leite condensado,

misturas para sorvetes e iogurtes e melhoram as características sensoriais destes alimentos como cor e sabor, e aumentam a cremosidade em misturas para sorvete, por exemplo.

O processo de hidrólise da lactose pode ser realizado por métodos ácidos ou enzimáticos, fornecendo os mesmos açúcares, a glicose e a galactose.

A hidrólise ácida ocorre em condições de processo bem específicos e por isso não pode ser empregada em todos os alimentos, pois pode afetar a qualidade final do produto. O produto gerado pela hidrólise ácida pode apresentar algumas alterações, como a degradação de proteínas e alterações nas características sensoriais no produto final. Isso ocorre devido à alta temperatura empregada e ao pH ácido utilizado no processo. O ponto positivo desta aplicação é o baixo custo, mas deve-se tomar cuidado com o ácido utilizado e a neutralização da reação ao final do processo (FERREIRA et al., 2013).

O processo de hidrólise enzimática é realizado por meio de enzimas, um exemplo é a β -galactosidase, que ocorre em condições de temperatura e pH mais brandas quando comparada com a hidrólise ácida (CARMINATTI, 2001). No entanto pode ser influenciada por diversos fatores, como: temperatura, pH, pressão, concentração de produtos e reagentes. Para que ocorra uma reação positiva, o pH deve ser o pH ótimo da enzima, isto é, deve ser ajustado, pois em pH ácido a enzima é inativada (BRAGA, 2012).

O pH exerce grande influência sobre a reação de hidrólise. A grande maioria das enzimas apresentam pH ótimo para a reação, já a temperatura se comporta de forma diferente, pois aumentando a temperatura aumento a velocidade de reação, isso ocorre pois concomitante a isso aumenta a energia cinética das moléculas. A melhor temperatura a ser empregada no processo de hidrólise é a maior temperatura em que a enzima possui atividade constante ao longo do período de reação (FISCHER, 2010). Porém quando utilizada temperaturas superiores da atividade enzimática ocorre a inativação (FENNEMA; DAMODARAN; PARKIN, 1996).

Os íons presentes no substrato também são interferentes importantes, pois algumas enzimas necessitam dos íons de Mn^{+2} e Na^{+} que atuam como cofatores no processo de hidrólise (FISCHER, 2010).

Segundo Faedo et al. (2013) a vantagem do método de hidrólise enzimática é que a reação se processa a temperatura relativamente baixa, numa faixa que pode variar de 4°C a 40°C, sendo a temperatura ótima entre 30°C a 40°C.

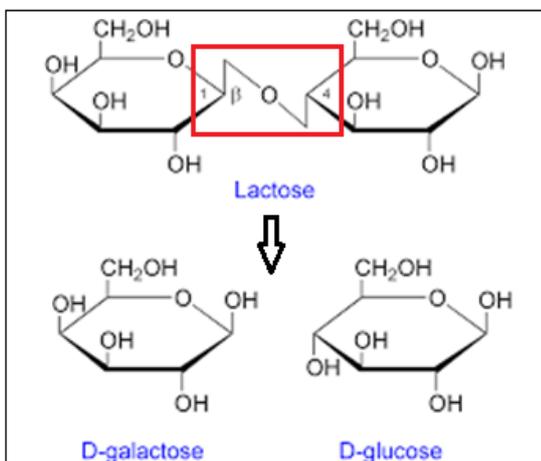
A lactase é o nome utilizado para a enzima β -galactosidase. Ela catalisa a hidrólise da lactose, sendo capaz ainda de catalisar a síntese de certos oligossacarídeos (CUNHA, 2010). Esta enzima hidrolisa a ligação β (1-4) da molécula de lactose, dando origem aos seus monômeros, glicose e galactose conforme mostra a Figura 2, sendo o produto formado, de grande interesse para a indústria de laticínios (VIEIRA, 2009).

Segundo Voorde et al. (2014) o xarope de D-glicose e D-galactose, pode ser aplicado como um substituto para o xarope de milho em refrigerantes e produtos de confeitaria. Por causa do crescente interesse por xaropes e a otimização dos produtos secundários, está sendo muito estimulado o estudo da hidrólise da lactose em produtos lácteos.

A enzima lactase que é utilizada neste processo, pode ser encontrada nas superfícies externas das células epiteliais, nas bordas das microvilosidades do intestino delgado e de acordo com a idade do indivíduo, pode se mostrar mais eficiente, sendo sua atividade maior e vital durante a infância (BRAGA, 2012). Esta pode ser produzida por uma grande variedade de seres vivos e fontes distintas (FISCHER, 2010).

Para a produção de enzima, deve ser levado em consideração o processo de purificação que pode ser realizado por diferentes métodos, sendo comumente utilizados precipitação seguida de diálise, cromatografia de troca iônica, sistema aquoso bifásico, entre outros (BRAGA, 2012).

Figura 2 - Molécula de lactose hidrolisada



Fonte: Adaptado de Friedrich (2013)

Esta enzima é muito utilizada industrialmente no processo de hidrólise da lactose que tem como objetivo produzir produtos com baixa lactose. Esse processo pode acontecer antes do tratamento térmico, ou, antes do envase do produto. Ao ser adicionada ao leite e seus derivados, a enzima β -galactosidase efetua a quebra da molécula de lactose da mesma forma que ocorre no nosso organismo com a lactase intestinal.

Os produtos oriundos desta hidrólise podem ser consumidos por aqueles que possuem a deficiência desta enzima e a possibilidade de usufruir dos outros nutrientes do leite, evitando os inconvenientes e desconfortos causados pela má absorção da lactose (FISCHER, 2010).

Segundo a Portaria nº 29, de 13 de janeiro de 1998, que normatiza o Regulamento Técnico referente a Alimentos para Fins Especiais, fica claro que alimentos especialmente formulados para atender às necessidades de portadores de intolerância à ingestão de dissacarídeos e/ou portadores de erros inatos do metabolismo de carboidratos, podem conter no máximo 0,5 g do nutriente em referência, por 100 g ou 100 mL do produto final (ANVISA, 1998). Desta forma para que os produtos lácteos sejam considerados deslactosados, estes devem apresentar residual de lactose menor que 0,5 g/100 g. Para ter garantia de que houve a conversão da lactose no processo de hidrólise, é necessário fazer análise do residual de lactose, que pode ser realizado por análise cromatográfica ou também pode ser efetuada pela medida da formação da glicose, pois para cada molécula de lactose, forma uma de glicose e uma de galactose (CARMINATTI, 2001).

2.1.3 Utilização do permeado do soro de leite para obtenção da lactose concentrada

Industrialmente, o soro pode ser processado mediante diversas técnicas, tais como a filtração, centrifugação, evaporação, secagem, ultrafiltração, nanofiltração, osmose inversa, tratamento térmico, fermentação, desmineralização e cristalização (LEINDECKER, 2011).

Os processos de separação por membranas, como a ultrafiltração, apresentam alta eficiência energética, baixo consumo de energia e ocupam pequeno espaço físico (BRIÃO, TAVARES 2012; BRIÃO; TAVARES 2007).

No processo de obtenção do concentrado proteico de soro de leite, tem-se um subproduto, que é permeado da ultrafiltração (UF), composto basicamente por lactose (FISCHER, 2010). Este permeado ainda é considerado um resíduo pela indústria de laticínios, devido sua alta carga orgânica. Esta possui uma demanda biológica de oxigênio de 30.000 a 45.000 mg O₂ L⁻¹ (ATRA et al., 2005).

Uma alternativa para utilização deste permeado é utilizar processos integrados de separação por membranas, processo de nanofiltração (NF) seguido de diálise, para concentração e purificação da corrente contendo lactose e sais, dando origem a lactose concentrada.

Segundo Suárez et al. (2009) o permeado da UF apresenta em média 4,5 a 4,8 % de lactose, isso mostra que o processo de concentração das proteínas é eficiente, sendo que a lactose presente no soro de leite permeia no processo juntamente com os compostos de baixo peso molecular tais como sais minerais. Com isso o permeado da UF apresenta altos teores de sais sendo em média 1700 mg L⁻¹ de potássio, 1640 mg L⁻¹ de cloretos, 460 mg L⁻¹ de sódio e quantidades menores de magnésio, sulfatos, cálcio, fosfatos (CUARTAS-URIBE et al., 2009).

O processo de nanofiltração é um processo na qual a membrana possui um tamanho de poros que retém os açúcares e permite a passagem dos sais, deste modo retendo a lactose e separando-a dos sais (HABERT et al., 2006) e sendo o nível máximo desmineralização por NF é de cerca de 35% de redução do teor de cinzas (LIPNIZKI, 2010). Com isso, a nanofiltração retém os sais bivalentes (tais como cálcio, magnésio e fosfatos) e permite a permeação dos sais monovalentes (sódio e potássio), mas os sais monovalentes não são totalmente removidos durante a concentração e, portanto, a lactose permanece com uma porcentagem destes sais. Por isso a dessalinização final deverá ser realizada pela diálise, adicionando-se uma solução dialisante (água purificada) de modo a favorecer a passagem dos sais através da membrana, desmineralizando a lactose.

A nanofiltração é aplicada para desmineralização parcial do soro, assim como do permeado da ultrafiltração. Ela tem desempenhado um importante papel na indústria de laticínios uma vez que permite simultaneamente separar, concentrar e desmineralizar

de forma parcial e seletiva seus componentes (GAREM; JEANTET, 1995). Este sistema é aplicado para remoção de sais com dimensões aproximadas de 0,001 mm, atingindo reduções de até 50 % do teor de cinzas do soro de leite e do permeado da UF (GEA, 2014).

O permeado da UF, após ser tratado pelo processo de NF e diafiltração (DF), apresenta características desejáveis para aplicação em formulações de alimentos, conferindo sabor agradável ao alimento.

A lactose utilizada na formulação de produtos assados promove a reação de Maillard, o que melhora a coloração da crosta do alimento. Em altas temperaturas, a lactose carameliza e contribui para o sabor e cor (SOUZA et al., 2010; ZACARCHENCO et al., 2012). Já a lactose concentrada, que passou pelo processo de hidrólise, pode ser utilizada como um xarope de glicose e galactose e, este, quando aplicado em alimentos, melhora as características tecnológicas e sensoriais do produto aumentando a sua digestibilidade e cremosidade. A glicose e a galactose, por serem mais doces que a lactose, diminuem a quantidade de adoçante a ser adicionada, resultando numa menor quantidade de calorias no produto final (CUNHA, 2010; FISCHER, 2010).

O xarope de açúcares elaborado da lactose do permeado do soro de leite pode ser utilizado em laticínios, confeitaria, panificação e na indústria de refrigerantes (KLEIN, 2010). A aplicação do xarope de açúcares na produção de alimentos diferenciados pode auxiliar o setor industrial no desenvolvimento de alimentos com alto valor agregado, pois conjuga o estudo de processos e o desenvolvimento de novos produtos na indústria alimentícia.

2.2 BEBIDAS LÁCTEAS FERMENTADAS

O Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Bebidas Lácteas especifica que bebida láctea é o produto obtido, a partir de leite ou leite reconstituído e/ou derivados de leite, fermentado ou não, com ou sem adição de outros ingredientes, onde a base láctea representa, pelo menos, 51% (m/m) do total de ingredientes do produto (BRASIL, 2005).

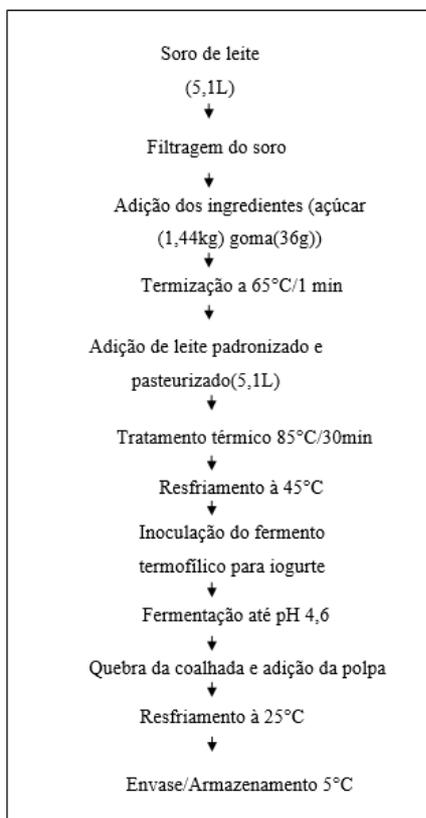
Como forma de reaproveitamento do soro realiza-se a fabricação da bebida láctea, tornando o uso deste subproduto uma forma de agregação de valor e uma forma racional de aproveitamento (ZERBIELLI, 2014).

O processamento industrial das bebidas lácteas é bastante promissor, pois os laticínios que produzem iogurte, já possuem a infraestrutura necessária para seu processamento. O processo industrial é rápido, eficiente e não exige maiores cuidados que aqueles adotados para a fabricação do iogurte ou outros alimentos.

Paula et al. (2012), estudaram o processo de elaboração de bebida láctea fermentada com adição de soro de leite. O fluxograma do processo de Paula e colaboradores (2012), está descrito na Figura 3.

Além do soro de leite, as bebidas lácteas podem apresentar, em sua formulação, leite, acidulantes, aromatizantes, corantes, reguladores de acidez, espessantes, emulsificantes, conservantes, pedaços de frutas, polpas, sucos e mel (BRASIL, 2005). As bebidas lácteas fermentadas devem apresentar contagem viáveis de bactérias lácticas de 10^6 UFC/g, no produto final, durante todo o prazo de validade do alimento (SILVA et al., 2014).

Figura 3 - Fluxograma de elaboração de bebida láctea fermentada



Fonte: Adaptado de Paula et al. (2012)

3 MATERIAL E MÉTODOS

O projeto de pesquisa foi inicialmente submetido ao comitê de ética da UPF para avaliação e apreciação sob o número 50021815.1.0000.5342. O parecer foi favorável, sendo obtido o Certificado de Apresentação para Apreciação Ética (CAAE) deferido sob o número 1.318.137.

3.1 MATÉRIA-PRIMA

O soro de leite fluído desnatado e pasteurizado foi cedido pela empresa Relat de Estação/RS. Este foi transportado sob refrigeração (0°C) em embalagens plásticas térmicas até a Universidade de Passo Fundo, sem sofrer aquecimento. Ao chegar ao laboratório foi mantido sob refrigeração (0°C) e após foi submetido a separação dos seus constituintes por processos de separação por membranas.

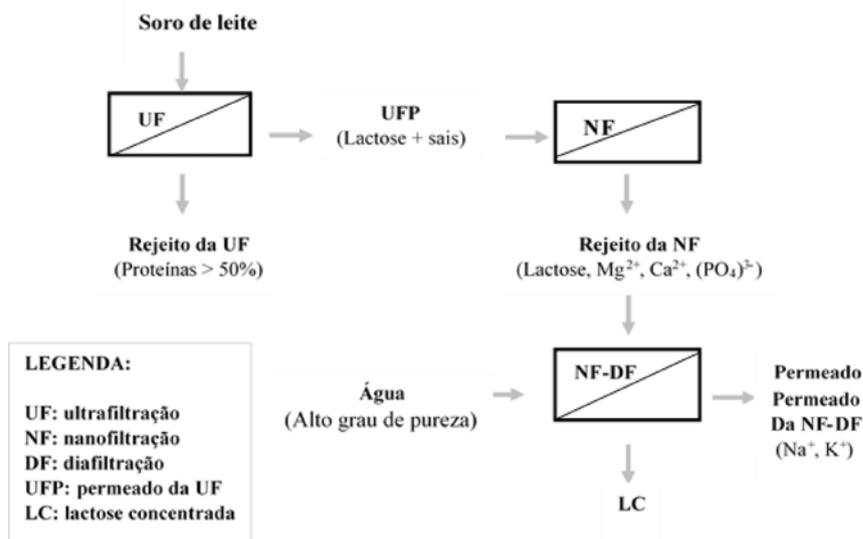
3.2 MÉTODO DE TRABALHO

O soro de leite foi processado através das operações de ultrafiltração, dando origem ao permeado da ultrafiltração (UF). O permeado da UF foi processado pelas etapas combinadas de nanofiltração (NF) e diálise (DF) com objetivo de originar a lactose concentrada (LC), matéria prima deste estudo.

3.2.1 Método para produção da lactose concentrada

A Figura 4 apresenta um fluxograma das etapas de obtenção da lactose concentrada, sendo que estas etapas foram realizadas por outro projeto de pesquisa do mesmo grupo de trabalho, não sendo o foco deste estudo.

Figura 4 - Fluxograma obtenção da lactose concentrada



Fonte: Autor (2016)

A ultrafiltração foi necessária para separar as proteínas de maior peso molecular e originar uma corrente líquida, o permeado, que era uma solução rica em lactose e sais, mas com baixo teor de proteína, este de interesse para nosso estudo.

Os sais presentes na solução de lactose foram separados da lactose pela operação de nanofiltração, permeando o sódio e o potássio e concentrando a lactose, tendo como retido da membrana, uma solução rica em lactose e alguns sais residuais. Para retirada dos sais remanescentes da solução de lactose realizou-se a operação de diálise, obtendo-se uma solução concentrada em lactose, aqui denominado de lactose concentrada (LC), que foi utilizado como matéria prima nos experimentos deste trabalho.

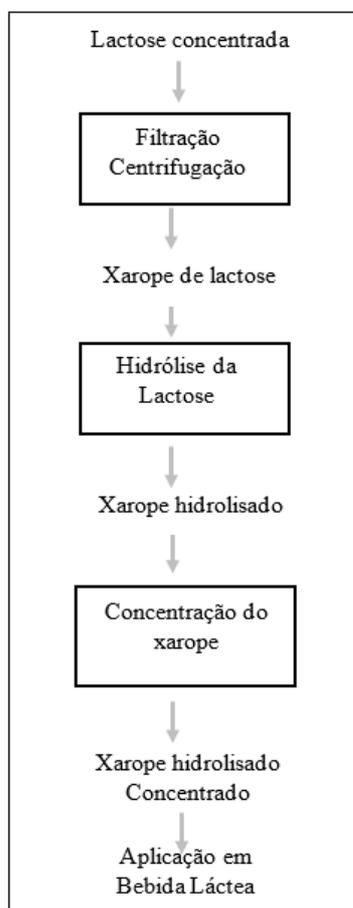
3.2.2 Método para produção do xarope de lactose

A lactose concentrada foi armazenada em embalagens plásticas hermeticamente fechadas, submetidas ao congelamento lento (-18°C) em freezer, até o momento dos experimentos, não ultrapassando o período de seis meses de estocagem. Antes do congelamento uma amostragem foi retirada para a realização de análises físico-químicas com objetivo de caracterização, através da metodologia de Espectroscopia no infravermelho próximo (FTIR), baseado na legislação Internacional Standard 141 IDF

(2013), determinando-se gordura, proteínas, lactose, sólidos totais, sólidos solúveis e pH.

No momento dos experimentos, a lactose concentrada foi previamente descongelada em refrigerador a 4°C. Posteriormente foi aquecida a 35°C em chapa aquecedora, sob leve agitação para completa solubilização dos sólidos que foram precipitados pelo processo de congelamento. Após, foi filtrado em papel qualitativo para remoção do material precipitado. O filtrado foi novamente tratado termicamente a 80°C, em chapa aquecedora por 20 min, para desnaturação e precipitação das proteínas residuais e após, foi centrifugado a 3000 rpm por 20 min., em centrífuga de tubos (Presvac) para completa separação do precipitado. O precipitado foi descartado e o líquido translúcido utilizado. A lactose concentrada foi caracterizada quanto ao teor de lactose, gordura, proteínas, sólidos totais, sólidos solúveis e pH pela metodologia de Espectroscopia no infravermelho próximo (FTIR), sendo este denominado de xarope de lactose. A Figura 5 apresenta um fluxograma geral do método utilizado para produção do xarope.

Figura 5 - Fluxograma geral



Fonte: Autor (2016)

3.2.3 Método para a escolha da enzima *β-galactosidase*

O processo de hidrólise do xarope de lactose foi realizado com enzimas comerciais *β-galactosidase* obtidas pela levedura *Kluyveromyces lactis*, codificadas como enzima A, B, C e D. Estas foram fornecidas pelos fabricantes na forma líquida e chegaram ao laboratório resfriadas. Foram mantidas em refrigeração (5°C) até o momento dos experimentos, em recipientes hermeticamente fechados, observando-se o prazo de validade de cada uma delas.

Objetivou-se com isso, conhecer o comportamento de enzimas de diferentes marcas comerciais, pois existem poucos estudos sobre hidrólise da lactose concentrada a partir do soro de leite. Desta forma há necessidade de testar diferentes marcas de enzimas e diferentes concentrações.

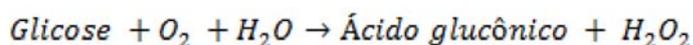
A hidrólise da lactose foi realizada em erlenmeyers contendo 200 mL de xarope de lactose cuja temperatura foi ajustada e mantida constante em 37°C utilizando banho-maria dotado de sistema de agitação (Tecnal TE-0532) a 200 rpm. O pH do meio reacional foi ajustado em 6,6 através de uma solução de hidróxido de potássio (1 mol.L⁻¹). A hidrólise foi realizada por 4 h e as enzimas foram adicionadas separadamente na concentração de 0,1 % (v/v) de enzima *β-galactosidase* em relação ao volume de xarope. Esta concentração foi sugerida pelos fabricantes das enzimas assim como as condições operacionais do processo. Os xaropes hidrolisados foram denominados como xarope hidrolisado A, B, C e D.

O processo de hidrólise da lactose foi monitorado pela retirada de alíquotas de 5 mL do meio hidrolisado, em intervalos predeterminados de 30 min de reação até findar o tempo de 4 h de reação. As alíquotas, após recolhidas, foram imediatamente inativadas em tubos de ensaio longos e imersos em banho-maria (Marconi MA-127) na temperatura de 100°C por 5 min para completa interrupção da hidrólise (ESCOBAR et al., 2014).

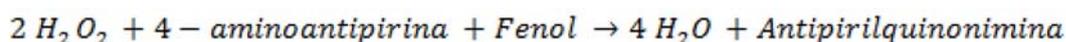
O grau de hidrólise foi medido pelo teor de glicose formada, utilizando um kit enzimático comercial (Analisa) que quantifica a glicose monoreagente liberada pela ação da enzima sobre a lactose, formando um complexo de cor vermelha que pode ser medido por absorvância. A intensidade da coloração é proporcional a quantidade de glicose presente na amostra (CARMINATTI, 2001).

A quantidade de glicose foi determinada no tempo inicial e a cada 30 min. até findar as 4h. Em tubos de ensaio colocou-se 10 μL da amostra do xarope e 1000 μL do reagente de cor. Os tubos de ensaios foram homogeneizados em agitador vortex por 10 s e incubados em banho maria (Marconi MA-127) na temperatura de 37°C durante 10 min e a leitura foi realizada em espectrofotômetro em, no máximo, meia hora, devido a estabilidade da cor. O espectrofotômetro (Unico) foi ajustado para absorvância a 505 nm. Para calibração do espectrofotômetro foi utilizado um branco contendo apenas 1000 μL de reagente de cor e uma solução padrão (10 μL do padrão de glicose e 1000 μL de reagente de cor). A linearidade do teste foi garantida pela concentração de glicose de 4 mg.dL^{-1} . Acima desta concentração foram realizadas diluições das amostras para a adequação na faixa de análise do teste.

Conforme apresenta as Equações 1 e 2, a glicose oxidase catalisa a oxidação da glicose para ácido glucônico e peróxido de hidrogênio. Através de uma reação oxidativa de acoplamento catalisada pela peroxidase. O peróxido de hidrogênio formado reage com 4-aminoantipirina e fenol formando um complexo de cor vermelha (antipirilquinonimina).



(1)



(2)

A quantidade de glicose formada ao longo da reação, foi calculada através da Equação 3.

$$C_t = \frac{A_t \cdot C_p}{A_p}$$

(3)

Em que:

C_t = Concentração da amostra de xarope de glicose e galactose (mg.dL^{-1})

C_p = Concentração da glicose padrão (100 mg.dL^{-1})

A_p = Absorvância do padrão (100 mg.dL^{-1})

At = Absorbância da amostra de xarope de glicose e galactose

Sabendo a concentração de glicose formada calculada pela Equação 3 e a concentração de lactose inicial, medida pela análise de Espectroscopia no infravermelho próximo (FTIR), foi possível estimar a quantidade de glicose formada no final da reação, considerando hidrólise total. Com estes dados transformou-se o resultado em percentual de hidrólise segundo a Equação 4.

$$\% \text{ Hidrólise} = \left(\frac{C_g}{C_{gt}} \right) \cdot 100$$

(4)

Em que:

C_g é a quantidade de glicose medida na amostra de xarope de glicose e galactose

C_{gt} é a quantidade de glicose que seria formada considerando-se a hidrólise total da lactose presente no xarope de glicose e galactose.

Foi avaliada como melhor enzima para a hidrólise da lactose, àquela que apresentou maior conversão em glicose, no período de 4 h de reação, nas condições experimentais testadas.

Os xaropes hidrolisados foram posteriormente concentrados para reduzir o teor de água. A concentração do xarope hidrolisado foi realizada em evaporador rotativo (Fisatom-801), até obter um xarope com teor de sólidos próximos de 80 °Brix. O aumento do teor de sólidos totais do xarope foi acompanhado utilizando refratômetro digital (Atago) devidamente calibrado. A temperatura do banho de aquecimento no evaporador rotativo foi de 90 °C, vácuo de 500 mmHg e tempo de concentração em torno de três horas. As amostras hidrolisadas e concentradas foram denominadas de xarope hidrolisado concentrado A, B, C e D.

A presença de cor, odores e sabores residuais das enzimas nos xaropes concentrados foram avaliadas por uma equipe treinada de 10 julgadores, aplicando-se a análise descritiva quantitativa (ADQ). Este teste foi realizado para verificar a possibilidade de ocorrência de sabor e odor residuais decorrentes do processo de hidrólise.

A escolha da enzima baseou-se no grau de hidrólise assim como na ausência de sabor e odor residual após a concentração do xarope.

Após a seleção da enzima estudou-se o efeito da sua concentração no processo de hidrólise do xarope de lactose. Esta etapa se fez necessária para verificar o efeito das diferentes concentrações, na conversão da lactose no xarope e não no leite, como costumeiramente é realizado.

Para identificar a interferência da concentração de enzima no processo de hidrólise do xarope, foram testadas quatro concentrações da enzima C, no substrato xarope de lactose. Estas concentrações foram de: 0,07 %; 0,1 %, 0,5 % e 1 % (v/v) denominadas de Concentração 1, Concentração 2, Concentração 3 e Concentração 4, respectivamente. A finalidade desta etapa foi definir a concentração ótima de enzima para a hidrólise da lactose, nas mesmas condições experimentais utilizadas nas etapas anteriores. Estas concentrações foram definidas, baseadas na literatura (ALMEIDA et al., 2015; ANDRADE et al., 2013; ESCOBAR et al., 2014; FAEDO et al., 2013).

A partir dos dados de grau de hidrólise obtidos foi selecionada a melhor concentração de enzima a ser utilizada na hidrólise do xarope. Os próximos experimentos de hidrólise foram realizados com a concentração de enzima assim definida.

Após a definição da concentração da enzima, realizou-se a concentração deste xarope, sua caracterização e aplicação na bebida láctea.

3.2.4 Método para produção da bebida láctea fermentada

O xarope hidrolisado e concentrado foi adicionado em bebida láctea como substituto parcial ou total da sacarose, esta tradicionalmente utilizada em formulações convencionais desta bebida.

Foram elaboradas quatro formulações de bebidas lácteas, saborizadas com polpa comercial de coco (Gemacon), com diferentes percentuais de xarope hidrolisado e concentrado, conforme descritas na Tabela 4.

Tabela 4 - Formulação das bebidas lácteas

Ingredientes	Formulação padrão	Formulação 20	Formulação 40	Formulação 80
Leite (g)	536,38	536,38	536,38	536,38
Soro <i>in natura</i> (g)	369,87	369,87	369,87	369,87
Sacarose (g)	80,00	60,00	40,00	--
Xarope hidrolisado e concentrado (g)	--	20,00	40,00	80,00
Cultura láctea (g)	12,5	12,5	12,5	12,5
Enzima lactase (mL)	1,00	1,00	1,00	1,00
Polpa (g)	0,25	0,25	0,25	0,25
Total	100,00	100,00	100,00	100,00

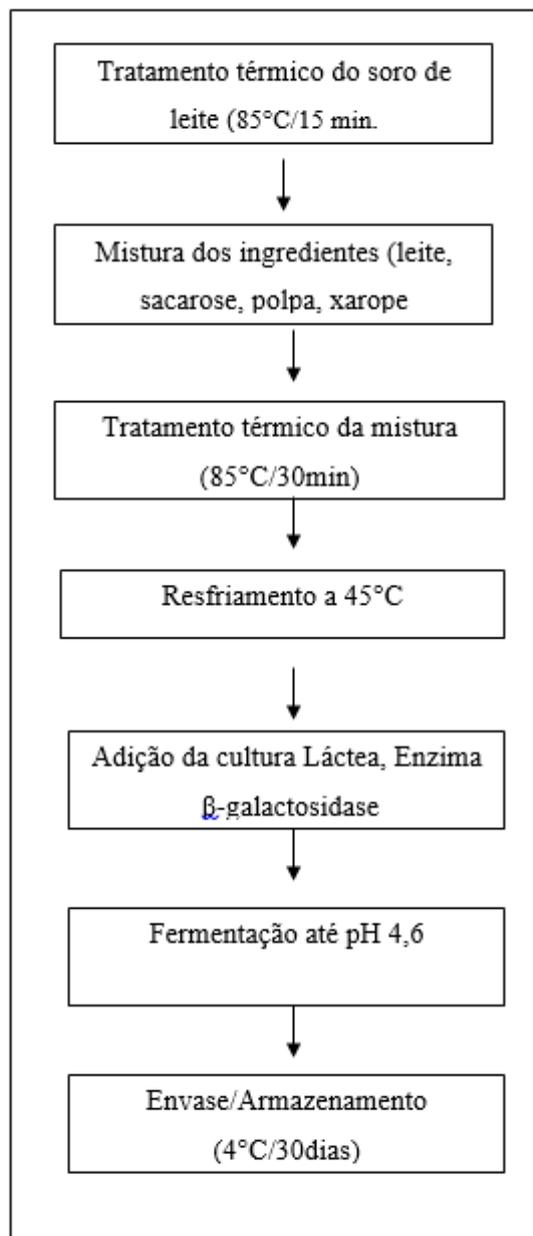
Fonte: Autor (2016)

A Instrução Normativa N^o 16 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA, 2005) determina que seja utilizada, no mínimo, 51% de base láctea na formulação da bebida. A formulação padrão da bebida foi sugerida por fornecedores dos ingredientes. As demais formulações foram elaboradas modificando as proporções de xarope hidrolisado e concentrado e de sacarose, no intuito de obter um produto com características sensoriais próximas à formulação padrão, mas substituindo total ou parcialmente a sacarose. Adicionou-se a enzima lactase às formulações pois tanto o leite como o soro apresentavam lactose e para não ter interferência desta, foi necessário hidrolisá-las no meio.

Na formulação 20, substituiu-se 25 % da sacarose, na formulação 40 teve quantidades iguais de sacarose e xarope, substituindo 50 %. Já na formulação 80, substituiu-se totalmente a sacarose pelo xarope. Estes percentuais foram baseados em trabalhos anteriores do grupo (MILANI; GIRARDELLI, 2015).

O fluxograma da Figura 6 apresenta o processo de elaboração da bebida láctea fermentada sem lactose.

Figura 6 - Fluxograma do processo de fabricação da bebida láctea fermentada sem lactose



Fonte: Autor (2016)

Para a elaboração da bebida láctea, inicialmente realizou-se a pasteurização do soro de leite em banho-maria (85°C/15 min). Após, este foi filtrado em dessorador, para retirada dos precipitados e imediatamente resfriado até 45 °C em banho de gelo. Em seguida, adicionou-se ao soro, o leite pasteurizado UHT adquirido no comércio local. Este leite foi selecionado por apresentar teor de gordura padronizado (3 %). Após adicionou-se os demais ingredientes sacarose, xarope hidrolisado e concentrado e a polpa de fruta.

A próxima etapa foi a pasteurização lenta, da mistura, em banho-maria na temperatura de 85°C por 30 min, fundamental para redução das possíveis bactérias deteriorantes presentes, e melhorar as características gerais do produto final.

Após foi feita a inoculação da cultura láctea, responsável pela fermentação da bebida, na temperatura de 45°C, sendo adicionada a esta mistura a enzima β -galactosidase na concentração previamente selecionada. Com a adição da enzima objetivou-se elaborar um produto sem lactose para fins especiais, sendo um diferencial quando comparado a um produto comercial. A fermentação ocorreu no período de aproximadamente 4 h em estufa de fermentação (Tecnal/ BOD TE – 391) com controle da temperatura em 45°C e até a mistura atingir pH 4,6 (Digimed).

As culturas lácteas utilizadas no processo de elaboração da bebida láctea fermentada eram compostas por *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* e *Streptococcus thermophilus* fornecidas pelo fabricante.

Após completado o processo de fermentação, a bebida foi resfriada em geladeira (4°C). Este resfriamento teve como objetivo cessar o processo fermentativo e evitar a queda excessiva do pH. Após, a bebida foi homogeneizada por agitação manual e envasada em embalagens asséptica e armazenadas até o momento das demais análises. A bebida ficou refrigerada pelo período máximo de 30 dias após a elaboração.

3.2.5 Caracterização dos produtos

O xarope hidrolisado e concentrado e as bebidas lácteas foram caracterizados quanto às suas propriedades físicas, químicas e microbiológicas (Quadro 1). A RDC 12/2001 da ANVISA foi utilizada para definição das análises microbiológicas.

O fator de conversão de nitrogênio para proteína usado foi 6,38 (NIELSEN, 1998).

A determinação de extrato seco total (EST) e extrato seco desengordurado (ESD) foi determinado conforme as Equações 5 e 6.

$$EST = 100 - \text{umidade} \quad (5)$$

$$ESD = EST - \text{lípidios} \quad (6)$$

Quadro 1 - Análises empregadas para caracterização do xarope

Compostos	Metodologia	Referência
Umidade	Secagem em estufa a 105 °C	AOAC (1995) / INSTITUTO ADOLFO LUTZ (2008)
Proteína	Método de Kjeldahl	MAPA (2006) / INSTITUTO ADOLFO LUTZ (2008)
Lipídeos	Método de Gerber	MAPA (2006)
Cinzas	Incineração em Mufla a 500°C	AOAC (1995) / INSTITUTO ADOLFO LUTZ (2008)/ MAPA (2006)
Carboidratos	Diferenças de peso	ANVISA (2003)
Valor calórico	Cálculo de fator de conversão	ANVISA (2003)
Acidez Titulável	Titulometria	MAPA (2006)
Extrato seco total (EST)	Secagem em estufa a 105°C	MAPA (2006)/ AOAC (1995) / INSTITUTO ADOLFO LUTZ (2008)
Extrato seco desengordurado (ESD)	Secagem em estufa a 105°C	MAPA (2006)/ AOAC (1995) / INSTITUTO ADOLFO LUTZ (2008)
Sódio	Fotômetro de chama	INSTITUTO ADOLFO LUTZ (2008)
<i>Salmonella</i> sp.	“Screening” (VIDAS®)	AOAC (2011)
Coliformes 45°C	Número Mais Provável (NMP)	MAPA (2003)
Coliformes Totais	Número Mais Provável (NMP)	MAPA (2003)
Bactérias Lácticas	Enumeração em placas	ISO 15214 (1998)

A determinação do pH foi realizada pelo método potenciométrico com o auxílio de um pHmêtro (Digimed). O método consiste na imersão do eletrodo do potenciômetro diretamente na amostra.

A massa específica (ρ) foi determinada pelo método de picnometria. Este método é utilizado para determinar a massa específica de uma substância, conhecendo sua massa e o volume por ela ocupado, num picnômetro. A massa específica foi obtida conforme Equação 7.

$$\rho = \frac{\text{massa da amostra}(g)}{\text{volumepicnometro}(mL)} \quad (7)$$

Uma vez comprovada as condições higiênico-sanitárias do produto, foi possível a realização das avaliações sensoriais do produto.

A amostra de bebida láctea que apresentou melhores resultados na avaliação sensorial foi caracterizada quanto aos açúcares presentes por cromatografia iônica de alta performance baseada na metodologia HPAEC-PAD (*High Performance Anion Exchange Chromatography with Pulsed Amperometric Detection*), descrita pela *Association of Official Analytical Chemists International* (AOAC 2009.01) e foram realizadas por laboratório terceirizado ALAC /Eurofins de Garibaldi/RS.

A cromatografia é um método físico-químico de separação de substâncias ou compostos. Ela é fundamentada na migração diferencial dos componentes de uma mistura que ocorre devido a diferentes interações, entre duas fases imiscíveis, a fase móvel e a fase estacionária. Este método pode ser utilizado para a identificação e separação de compostos, com utilização de padrões previamente existentes, para a purificação de compostos, separando-se as substâncias indesejáveis e para a separação dos componentes de uma mistura. Na cromatografia de troca iônica a fase estacionária é constituída por um suporte onde são adicionados grupos ionizáveis: Grupos carregados positivamente, retendo ânions e grupos carregados negativamente retendo cátion. A fase móvel é uma solução iônica com propriedades tamponantes compatível (CIOLA, 1998).

3.2.6 Análise sensorial da bebida láctea

A análise sensorial foi realizada para a bebida láctea com diferentes concentrações do xarope hidrolisado utilizando um painel de 100 julgadores não treinados, com idade mínima de 18 anos. Foram realizadas as seguintes análises sensoriais, teste de aceitabilidade do produto, teste de intenção de compra do produto e teste de diferença do controle.

Análise de aceitabilidade foi realizada por meio de teste hedônico com escala de 1 a 9 pontos, variando a escala em “desgostei muitíssimo (1)” até a escala máxima “gostei muitíssimo (9)”.

O teste de intenção de compra do produto tem uma escala de 1 a 5, variando da escala mínima “certamente não compraria (1)” até a escala máxima “certamente compraria (5)”.

No teste de diferença do controle avaliou-se a diferença do produto com um produto padrão considerando o aspecto global do produto, cuja escala varia de 1 “(nenhuma diferença entre as amostras)” até a escala máxima “5 (extrema diferença entre as amostras)”

Todos os provadores foram orientados sobre os procedimentos da análise sensorial aplicada e preencheram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) conforme mostra o Anexo A.

As análises sensoriais foram realizadas em cabines sensoriais próprias e individuais sob condições adequadas de luz, som e isolamento, em laboratório de análise sensorial da UPF.

Aos provadores foram servidas as amostras das bebidas em copos plásticos brancos, codificados com três algarismos aleatórios, contendo aproximadamente 25 mL de cada amostra da bebida refrigerada (4°C), assim como foi servido um copo com água para limpeza do paladar. Foi entregue a ficha de avaliação em que o provador completou sua análise.

3.2.7 Análises dos dados

Os resultados obtidos foram expostos à análise estatística através da Análise de Variância (ANOVA), utilizando o Software Action, seguido pelo teste de comparação de médias de Tukey, a 5 % de significância. A análise estatística foi utilizada para verificar se a diferença existente é significativa, ou seja, dizer que um resultado é estatisticamente significativo, significa que as diferenças encontradas são grandes o suficiente para não serem atribuídas ao acaso.

Para avaliar os resultados utilizou-se a análise de variância, que constitui-se em um procedimento estatístico utilizado para testar a significância das diferenças entre as médias de três ou mais grupos, e após o teste de comparação entre as médias, identificando os grupos iguais ou diferentes. Neste teste foi avaliado o valor de (p), que corresponde ao menor nível de significância que pode ser assumido para rejeitar a hipótese nula. Pode-se dizer que há significância estatística quando o p-valor foi igual

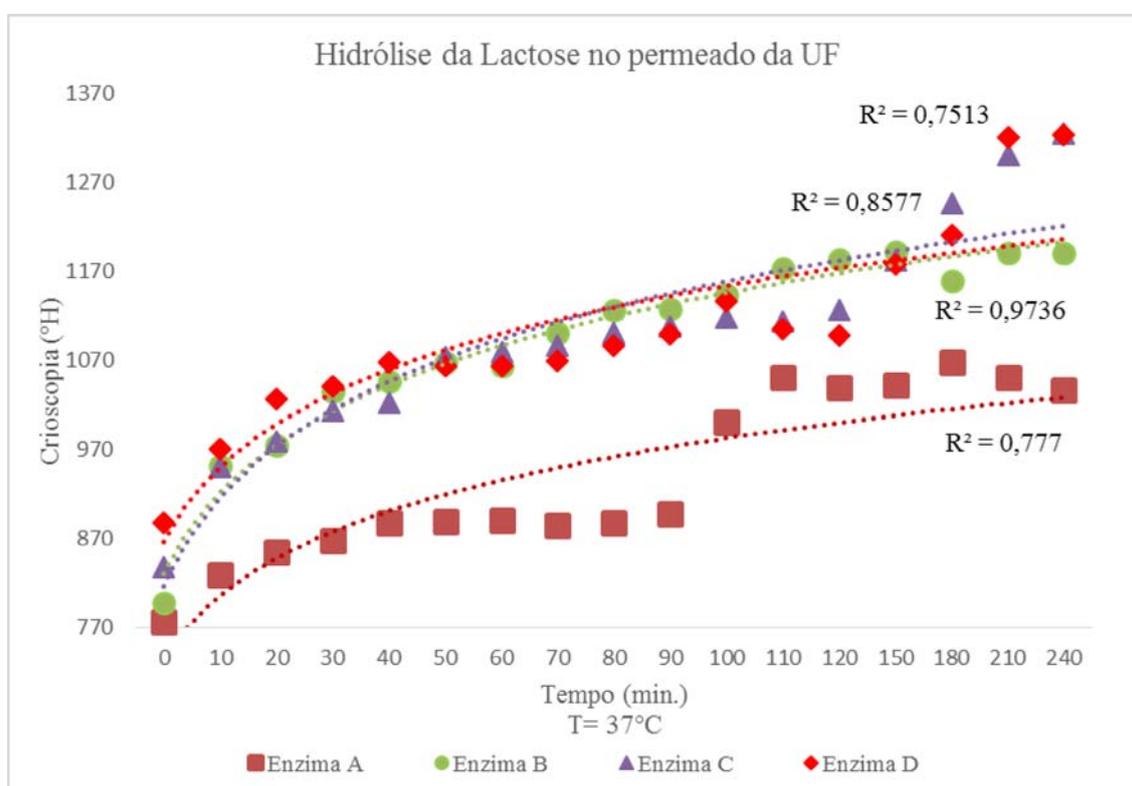
ou menor que o nível de significância adotado geralmente 5% ou $p < 0,05$ (OLIVEIRA, 2016).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 RESULTADOS PRELIMINARES

A hidrólise enzimática pode ser verificada por diversos métodos, um comumente utilizado pela indústria láctea para verificação do processo de hidrólise é a crioscopia. Diante da sua vasta aplicação foram realizados testes preliminares para conhecer o comportamento deste método na avaliação da hidrólise do permeado do soro de leite (Figura 7).

Figura 7 - Grau de crioscopia do permeado do soro de leite



Fonte: Autor (2016)

A crioscopia para avaliação da hidrólise da lactose pode ser utilizada. Conforme apresenta a Figura 7 o grau de crioscopia foi aumentando ao longo do tempo demonstrando que ocorreu hidrólise da lactose. As enzimas A (45,75%) e B (69,15%) tiveram grau de hidrólise menor que as enzimas C (85,86 %) e D (78,20 %), sendo assim a enzima C e D apresentaram grau de hidrólise final superior, porém conforme apresenta gráfico ao longo da reação as enzimas B, C e D apresentaram comportamento

linear bem similar. Conforme apresenta a Figura 7, o valor de R^2 apresenta diferença para cada enzima, sendo que a enzima B seguida da C são as que apresentam os melhores resultados quando ajustados ao modelo.

As autoras Milani; Girardelli, (2015) estudaram o grau de hidrólise no xarope de lactose utilizando a técnica de crioscopia, obtiveram em seu estudo um grau de conversão maior que 50 % nos primeiros 20 min de hidrólise. Sendo que no presente estudo houve um comportamento similar pois nos primeiros 40 min. de reação houve maior atividade hidrolisando aproximadamente 50 % da lactose presente no meio e após a atividade foi menos intensa.

Diante dos resultados além da aplicação da crioscopia para acompanhamento do grau de hidrólise do leite, esta também pode ser aplicada para acompanhar o grau de hidrólise no xarope de lactose obtido do permeado da ultrafiltração.

4.2 CARACTERIZAÇÃO DA LACTOSE CONCENTRADA E PRODUÇÃO DO XAROPE DE LACTOSE

A lactose concentrada obtida preliminarmente por processos de separação por membranas que foi mantida congelada até sua utilização, o que ocasionou uma separação de fases, apresentando certa quantidade de precipitado de cor esbranquiçado, como pode ser observado na Figura 8.

Figura 8 - Precipitado formado no processo de congelamento



Fonte: Autor (2016)

O precipitado, formado durante o congelamento, foi pré-tratado sendo solubilizado novamente durante a etapa de aquecimento e, retidas pequenas quantidades de sólidos nos processos de filtração e centrifugação. A origem destes precipitados pode estar associada à desnaturação das proteínas remanescentes no processo de separação por membranas e devido ao aquecimento aplicado a lactose concentrada. A retirada destes sólidos foi importante para evitar arenosidade no produto final. A Tabela 5 apresenta a caracterização da lactose concentrada antes e após o processo de pré-tratamento, o sobrenadante foi denominado de xarope de lactose que foi submetido ao processo de hidrólise neste estudo.

Tabela 5 - Caracterização lactose concentrada e xarope de lactose

Análise	Unidade	Lactose Concentrada	Xarope de Lactose
		Média±desvio padrão	Média±desvio padrão
Lactose	g/100g	12,94±0,10 ^a	12,30±0,04 ^b
Lípidios	g/100g	0,14±0,02 ^a	0,07±0,01 ^b
Sólidos Totais	g/100g	14,62±0,06 ^a	14,17±0,02 ^b
Proteína	g/100g	0,63±0,0 ^a	0,61±0,0 ^b
Sólidos Solúveis	Brix	15,2±0,00 ^a	15,2±0,00 ^a
pH	-	5,2±0,00 ^a	5,2±0,00 ^a

Os resultados expressam a média ± desvio padrão. Letras iguais na mesma linha não diferem significativamente pelo Teste Tukey ($P > 0,05$)

Mantiveram-se constantes os teores de sólidos solúveis e pH. Para os demais parâmetros observa-se que uma leve redução em alguns parâmetros, no xarope, principalmente para a gordura que foi reduzida após as etapas de centrifugação e filtração. Para todos os demais componentes não foram verificadas alterações relevantes, sendo que o pré-tratamento da lactose concentrada não alterou significativamente a composição do xarope de lactose, quando comparada com a lactose concentrada.

Quando avaliado a quantidade de sais na lactose concentrada obteve-se os resultados apresentados na Tabela 6.

Tabela 6 - Caracterização dos sais presentes na lactose concentrada (LC)

Parâmetros Avaliados	LC
Sódio (mg/L)	254,60
Potássio (mg/L)	675,48
Magnésio (mg/L)	117,22
Cálcio (mg/L)	495,96
Fósforo (mg/L)	317,40

Os resultados expressam a média.

Observa-se que a lactose concentrada ainda apresenta um residual de sódio. O sódio é um composto que tem capacidade de permear na membrana de NF, sabe-se que neste processo não possível reduzir 100 % do sódio, no produto. Segundo Salehi (2014) a permeação máxima de íons monovalentes pela membrana de NF é de 80 %.

Além disso, essa quantidade de sais torna um produto com características importantes, pois pode ser aplicado em alimentos, tornando-o com valor nutricional superior (CUARTAS-URIBE et al., 2009).

A composição da lactose concentrada é muito semelhante ao encontrado na literatura, conforme apresenta a Tabela 7, quando Andrade e colaboradores (2013) estudaram o permeado de leite.

Tabela 7 - Comparação da lactose concentrada com os dados de Andrade et al. (2013)

Análises	Presente estudo	Andrade et al. (2013)
Lactose (%)	12,3	15,0
Sólidos Totais (%)	14,17	15,0
Proteína (%)	0,61	0,18
pH (%)	5,2	6,6

Fonte: Autor (2016)

Os resultados de Andrade et al. (2013), para o permeado do soro de leite obtido da ultrafiltração, foram bem próximos aos apresentados no presente estudo, sendo que o pH apresentou leve diferença, mas isto pode estar associado ao matéria-prima original e ao processamento do soro.

Através desta caracterização foi possível verificar que o xarope de lactose apresenta, em sua composição, teor elevado de lactose (12,3 %), justificando sua utilização para a elaboração de um xarope concentrado em açúcares, através do processo de hidrólise enzimática.

4.3 ESCOLHA DA MELHOR ENZIMA

A Tabela 8 apresenta os percentuais de hidrólise, num período total de reação de quatro horas, quando hidrolisada em temperatura de 37°C e concentração de enzima de 0,1 % (v/v).

Tabela 8 - Percentual de hidrólise ao final das 4 h de reação	
Marcas comerciais	% hidrólise final
Enzima A	65,45±2,03 ^b
Enzima B	66,73±1,56 ^b
Enzima C	91,73±2,10 ^a
Enzima D	89,66±2,50 ^a

Fonte: Autor (2016)

Observa-se que ao final das quatro horas de reação as enzimas com maior percentual da hidrólise da lactose foram as enzimas C (91,73 %) e D (89,66 %), que são estatisticamente iguais. As enzimas A e B também são iguais estatisticamente, todas a um nível de significância de 5 %, porém estas últimas obtiveram um grau de hidrólise menor que as enzimas C e D, ou seja entre 65,45 % e 66,73 % de hidrólise.

Segundo a Tabela 8 tanto a enzima C como a enzima D podem ser utilizadas para a hidrólise da lactose pois não são diferentes estatisticamente. A enzima C embora seja estatisticamente igual a D, tende a ter um percentual de hidrólise, ligeiramente superior a enzima D.

Escobar et al., (2014) estudou a hidrólise no permeado de soro diluído com teor de lactose de 5%, utilizando a enzima β -galactosidase de *Kluyveromyces lactis*, na concentração de 0,075 % (v/v), temperatura de reação de 35°C e pH do meio que variou de 6,0 a 8,0, para um período de reação de 360 min. Obteve hidrólise de 95 % da lactose, quando a melhor condição foi para pH de 7,0.

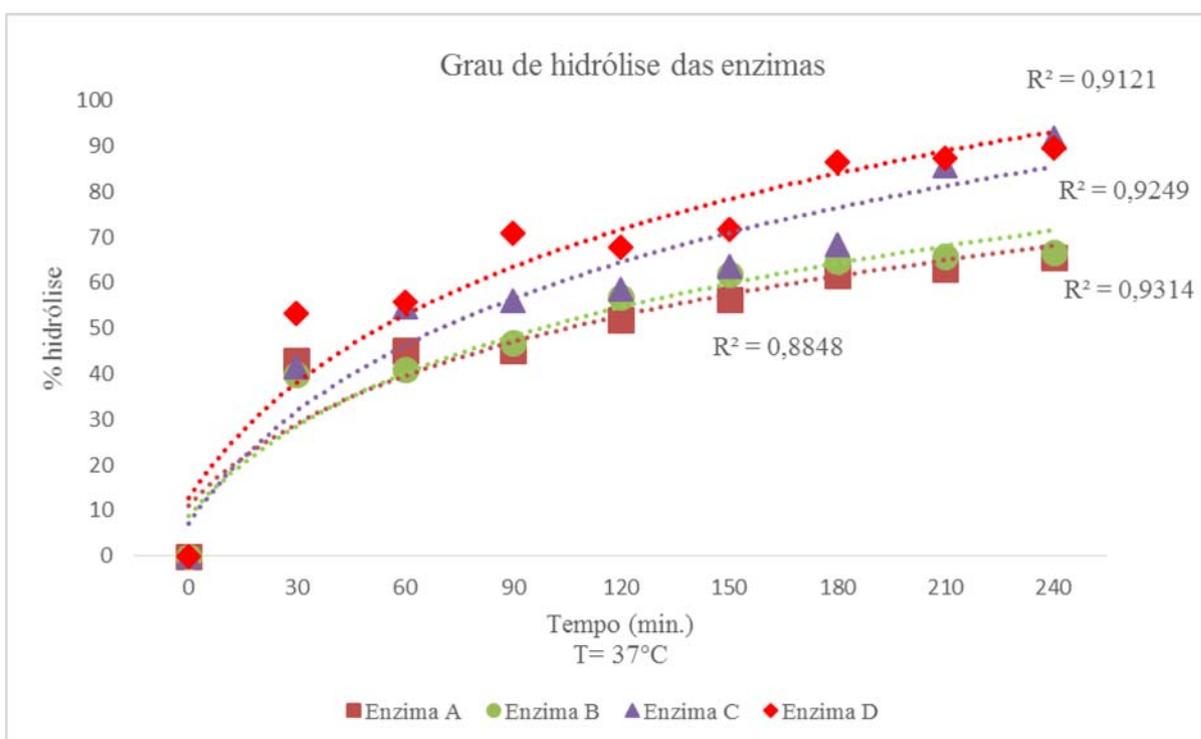
Quando comparado o presente trabalho com o estudo de Escobar et al., (2014), observa-se que o meio reacional neste trabalho possui uma concentração de lactose muito superior, ou seja, de 12,3 %, ao teor de lactose encontrado por Escobar (2014). Embora o teor de lactose no presente estudo tenha sido maior, o grau de hidrólise obtido

no presente estudo é bastante satisfatório, pois ultrapassou a 90%, considerando que o teor de lactose foi o dobro do teor encontrado por Escobar (2014).

Segundo Fischer (2010), a enzima β -galactosidase obtida da levedura *Kluyveromyces lactis* necessita de Mn^{+2} e Na^{+} para acentuar a atividade enzimática e como o meio reacional utilizado foi o xarope de lactose, obtida da lactose concentrada e submetida a nanofiltração e dialise, retirou-se do meio reacional, alguns sais. Isto é, a desmineralização parcial, levou a uma redução dos teores destes íons, que pode ter interferido na hidrólise da lactose no presente estudo. O teor de hidrólise, no presente estudo, quando comparado com o estudo de Escobar (2014), pode ter sido afetado pela ausência destes sais, já que este foi nano e diafiltrado antes de efetuar a hidrólise enzimática.

O comportamento das quatro enzimas pode ser observado na Figura 9. Ela mostra o comportamento das enzimas ao longo das quatro horas de reação. Observa-se que tanto a enzima C como a enzima D apresentaram maiores graus de hidrólise mesmo a partir de 30 min de reação, mantendo este comportamento ao longo de todo o processo.

Figura 9 - Grau de hidrólise da lactose utilizando-se enzimas A, B, C e D



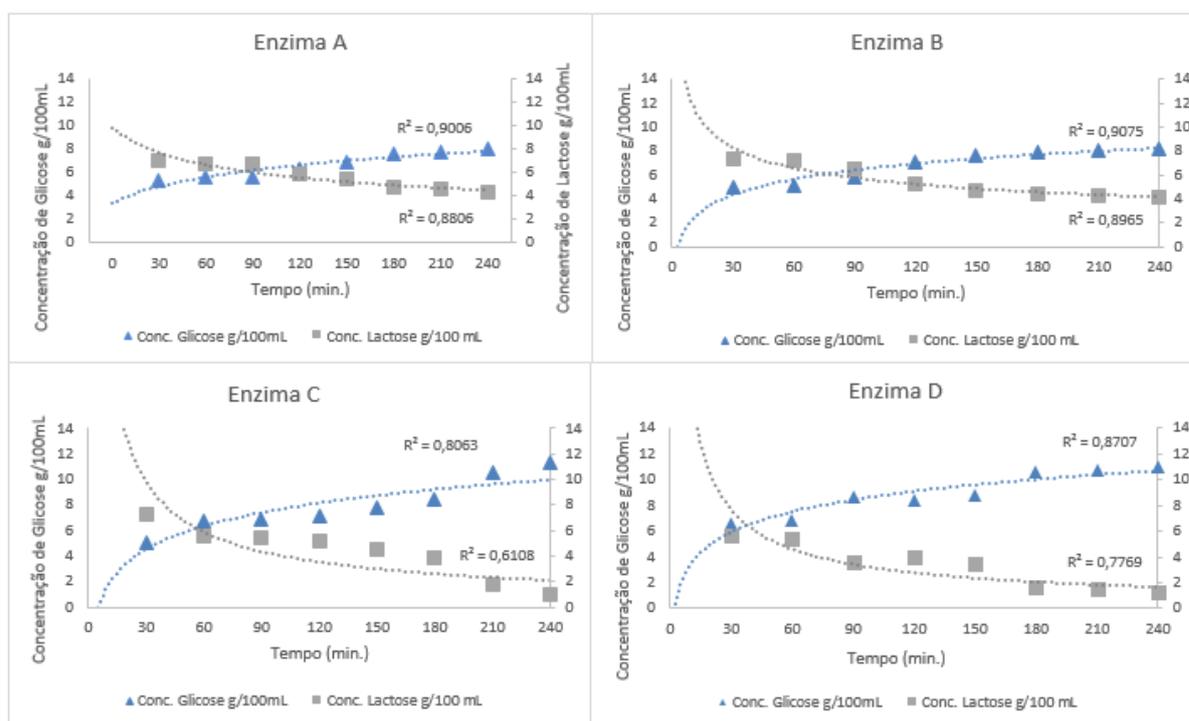
Fonte: Autor (2016)

As enzimas C e D tiveram comportamento tendendo à estabilidade na última hora de reação, ou seja, a última hora de reação não foi impactante no grau de hidrólise obtido pelas duas, pois já tinham atingido o grau de hidrólise final em torno de 180 min.

O comportamento similar foi observado para as enzimas A e B, a partir das duas últimas horas de reação. Isso sugere que num processo industrial o grau de hidrólise pode ser interrompido após 210 min de reação, pois a conversão da lactose em glicose e galactose já atingiu o limite máximo para a enzima. Ao avaliar o valor de R^2 apresentado na Figura 9, as enzimas B e C seguida da D destacaram-se quando ajustadas ao modelo, estas apresentaram R^2 maior que 0,90.

A Figura 10 apresenta as cinéticas da conversão de lactose em glicose para cada uma das quatro enzimas estudadas ao longo de todo o período da reação.

Figura 10 - Conversão da lactose em glicose



Fonte: Autor (2016)

A Figura 10 mostra que as enzimas A e B demoraram duas horas para que o teor de glicose ultrapasse o de lactose, indicando que o processo de quebra da lactose, por estas enzimas é muito lento, pois só após duas horas de reação o teor de glicose superou o teor de lactose. Ao final da reação o teor de glicose ficou próximo a 8%, demonstrando que a conversão da lactose, em glicose, foi próxima de 70 %. Já as

enzimas C e D apresentam um teor de glicose superior ao de lactose a partir de 30 min de reação, ou seja, o teor de glicose formada ultrapassa o teor de lactose, mostrando que o processo de conversão destes açúcares foi eficiente desde o início do processo.

O teor final de glicose para ambas as enzimas foi superior a 10 g/100 mL de solução e o teor de lactose no meio, foi menor de 10 % de lactose residual, ou 2 g/100 mL. O teor de glicose formado foi maior para as enzimas C e D, do que para A e B (Tabela 9).

Tabela 9 – Teor de lactose inicial e final do xarope

Enzima	Teor de Lactose Inicial (g/100mL)	Teor de Lactose Final (g/100mL)
A	12,30	4,42
B	12,30	4,22
C	12,30	0,82
D	12,30	1,64

Fonte: Autor (2016)

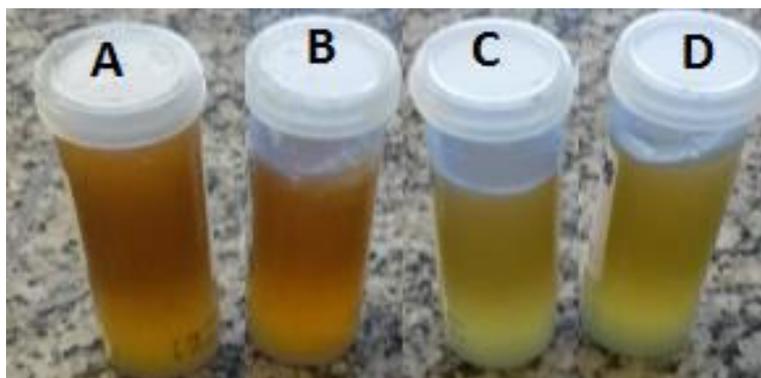
Conforme a Tabela 9 todas as amostras do xarope de lactose pré-tratados, por filtração e centrifugação, apresentaram teor inicial de lactose de 12,3 g/100 g. O teor de glicose formado ao final da hidrólise, para as enzimas A e B foi muito baixo, foi próximo de 8 g/100 mL, ou seja, não foram muito eficientes na hidrólise da lactose e apresentando teor de lactose residual maior do que 4 g/100 mL.

Já nas cinéticas desenvolvidas pelas enzimas C e D, o teor de glicose formada ultrapassou o teor de 11 g/100 mL, evidenciando que a maior parte das moléculas de lactose, foram convertidas em glicose e, confirmando o maior grau de hidrólise proporcionado pela ação desta enzima, nas condições experimentais avaliadas, ficando com aproximadamente 1g/100mL de lactose.

Os xaropes, após a realização da hidrólise, apresentaram um teor médio de sólidos solúveis de 15,2 °Brix. Após estes xaropes já hidrolisado foram concentrados em evaporador rotativo até a concentração de sólidos solúveis atingir 85 °Brix, num banho de aquecimento de 90°C e temperatura da solução em evaporação de 60 °C.

Esta concentração reduziu 75 % do volume de cada xarope hidrolisado e concentrado, sendo que resultou num xarope de glicose e galactose bastante viscoso e de cores variadas, como pode ser observado na Figura 11.

Figura 11 - Xaropes hidrolisados e concentrados



Fonte: Autor (2016)

É possível perceber nitidamente as diferenças visuais de cor entre as amostras obtidas. Os xaropes A e B apresentaram coloração caramelo mais intensa, enquanto que os xaropes C e D apresentaram coloração amarela mais clara. Estas diferenças ocorreram durante o processo de concentração em rotaevaporador, pois as condições de vácuo ou, de temperatura permitiram a formação da cor. Pode ter ocorrido uma leve formação da reação de Maillard e reação de caramelização da lactose residual já que ela é maior nos xaropes onde a hidrólise foi menor, do que nos xaropes das enzimas C e D, onde o teor residual de lactose é menor.

Além da variação de cor entre as amostras, o sabor e odor residual também foram diferentes. Os xaropes B e C foram muito semelhantes em relação ao sabor, levemente adocicado e agradável ao paladar. No entanto, o odor do xarope B não foi agradável, pois apresentou um residual de produto fermentado. Este mesmo odor de fermentado foi percebido nos xaropes concentrados A e D que, inclusive, apresentaram forte sabor residual amargo.

Estas características sensoriais desagradáveis dificultaram a aplicação destes xaropes hidrolisados e concentrados em alimentos, pela possibilidade de transferir estas características desagradáveis ao produto final.

O xarope hidrolisado e concentrado contendo a enzima C foi o que apresentou melhores características e, portanto foi aquele aprovado em relação à cor, sabor e odor residual, sendo escolhido para dar continuidade ao trabalho, no estudo da melhor concentração de enzima e posteriormente para a aplicação em bebida láctea fermentada. Acredita-se que este desempenho está associado ao seu método de purificação, pois segundo o fabricante, esta enzima é, purificada por processos cromatográficos

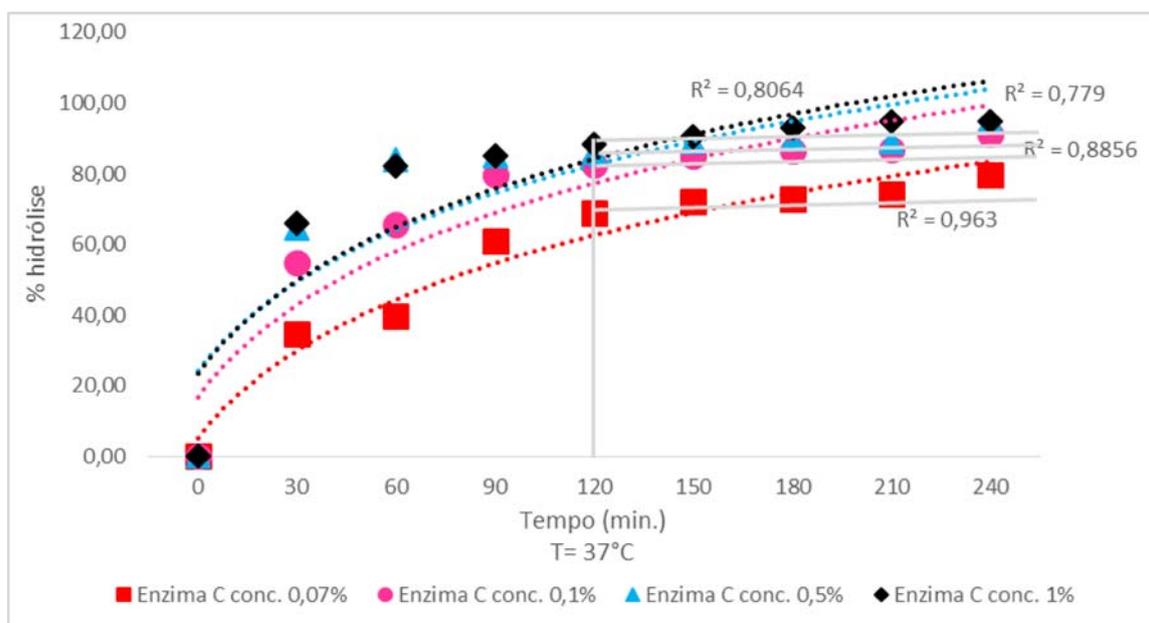
específicos, influenciando diretamente nas características do produto final, tornando um produto com sabor e odor agradável.

A enzima C foi, portanto, a selecionada para continuar o estudo, desta forma testou-se diferentes concentrações desta na hidrólise do xarope de lactose.

4.3.1 Escolha da Concentração da Enzima Selecionada

A Figura 12 apresenta o grau de hidrólise obtido para as diferentes concentrações de enzima C em função do tempo de reação num período total de hidrólise de quatro horas.

Figura 12 - Grau de hidrólise para as diferentes concentrações da enzima C



Fonte: Autor (2016)

Todas as concentrações testadas da enzima C foram eficientes para realizar a hidrólise da lactose, atingindo alto grau de hidrólise da lactose entre 80 a 90 %. Conforme apresenta a Figura 12 o valor de R^2 apresenta diferença para cada concentração, sendo que a concentração 1 e 2 apresentam melhores resultados quando ajustado ao modelo.

Analisando as cinéticas ilustradas na Figura 12, é possível perceber que nas primeiras duas horas, a atividade enzimática é bastante intensa, onde todas atingem mais de 70 % de hidrólise, nesta fase.

Após este período, nas duas horas finais da cinética, a atividade enzimática não cresce com a mesma intensidade, ou seja, em torno de 10 % da lactose residual é hidrolisada, com isso podemos perceber que não é necessário realizar a hidrólise por 240 min. reduzindo tempo da reação e viabilizando quando aplicado o processo em escala industrial.

Este comportamento pode estar associado à redução da quantidade de lactose disponível no meio, ao longo do tempo, tornando a solução cada vez mais diluída em lactose. Isto reduz os sítios ativos disponíveis para a ação da enzima, isto é, dificulta a interação entre a enzima e o substrato (lactose), interferindo na da reação de hidrólise, tornando-se mais lenta (CAMPELLO, 2010).

As concentrações de enzima com maiores percentuais de hidrólise foram as concentrações 3 (0,5 %) e 4 (1 %), ao longo do período de reação embora as concentrações 2 (0,1 %), 3 e 4 tenham atingido no final, o percentual muito semelhante e sem diferenças significativas estatisticamente.

A concentração menos favorecida foi a concentração de 0,07 % de enzima.

A Tabela 9 ilustra as médias e desvios-padrões do grau máximo de hidrólise obtido, ao final de quatro horas de hidrólise, para todas as concentrações.

Os valores médios foram submetidos à análise estatística, sendo realizada a Análise de Variância (ANOVA) e, após, teste de comparação múltipla (Tukey) com significância de 5%. Na Tabela 10, as letras iguais identificam amostras estatisticamente iguais e letras diferentes amostras estatisticamente diferentes.

Tabela 10 - Análise estatística das concentrações

Tempo (min.)	Concentração 1 (0,07 %)	Concentração 2 (0,1 %)	Concentração 3 (0,5 %)	Concentração 4 (1 %)
0	0,28±0,03 ^a	0,3±0,03 ^a	0,24±0,01 ^a	0,02±0,00 ^b
30	34,68±0,30 ^b	54,89±2,41 ^{ab}	64,68±3,61 ^a	65,96±0,90 ^a
60	39,79±0,30 ^c	65,53±0,00 ^b	83,83±4,21 ^a	82,13±0,00 ^a
90	60,85±1,20 ^b	79,58±2,4 ^a	84,90±3,91 ^a	84,90±0,45 ^a
120	68,94±2,41 ^b	82,56±3,01 ^a	86,17±1,50 ^a	88,30±2,26 ^a
150	72,13±0,30 ^c	84,90±1,50 ^c	88,94±0,60 ^{ab}	90,43±0,75 ^a
180	72,77±1,81 ^c	86,60±0,90 ^b	89,58±0,90 ^{ab}	92,98±0,45 ^a
210	74,26±0,90 ^c	87,02±0,30 ^b	89,15±2,71 ^{ab}	94,68±0,75 ^a
240	79,58±2,41 ^b	91,28±3,91 ^a	94,68±0,30 ^a	94,68±0,45 ^a

Os resultados expressam a média do grau de hidrólise \pm desvio padrão. Letras iguais na mesma linha não diferem significativamente pelo Teste Tukey ($P > 0,05$). 0,07 %; 0,1 %, 0,5 % e 1 % (v/v).

A Concentração 1 (0,07 %) da enzima é diferente de todas as demais concentrações, num nível de significância de 5 % ($p < 0,05$). Isto significa que a concentração 1 (0,07 % v/v) forneceu menor grau de hidrólise que as demais, diferindo estatisticamente das concentrações 2, 3 e 4 (0,1 %; 0,5 % e 1 % v/v).

Observa-se também que nas concentrações acima de 0,1 % (v/v) de enzima ocorreram os maiores graus de hidrólise. Isto evidencia que a enzima C na concentração de 0,07 %, (v/v) não é suficiente para converter a lactose em glicose e galactose, ou seja, para atingir grau de hidrólise superior a 79 % deve-se aumentar a concentração da enzima. Como o xarope tem um teor de lactose em torno de 12 % a concentração da enzima C de 0,07 % não consegue hidrolisar toda a lactose do meio, exigindo maior quantidade de enzima para poder converter toda a lactose presente no meio

Comparando estatisticamente as concentrações 2, 3 e 4 da enzima observa-se que elas não apresentaram muitas diferenças entre si nas condições experimentais testadas.

Economicamente, a concentração 2 (0,1 %) da enzima é mais interessante, pois apresenta um grau de hidrólise final elevado (superior a 91 %) que é igual as concentrações 3 (0,5 %) e 4 (1 %). Como os graus de hidrólise para as concentrações 2, 3 e 4 são semelhantes, quanto menor quantidade de enzima for adotada, num processo industrial, mais econômico será o processo e portanto menor gastos na elaboração do produto final.

Almeida et al., (2015) estudou a hidrólise do permeado de soro de leite, onde utilizou a mesma enzima nas concentrações de 0,2 %, 0,7 % e 1 % para tempos de reação de 30, 60 e 90 min; 6,3 de pH do meio e 37 °C de temperatura de reação e, acompanhou o grau de hidrólise por análise cromatográfica. Ele observou que a partir da concentração enzimática de 0,7 % no tempo de 30 min, as formulações se tornaram seguras para o consumo de pessoas intolerantes à lactose, de acordo com níveis mínimos estabelecidos pela legislação que é acima de 95 %. Comparando com o presente estudo nas concentrações testadas as de 0,5 % e 1 %, elas estão próximas de faixa que a literatura sugere. Estas pequenas diferenças podem estar associadas ao substrato usado, em que o autor trabalhou com permeado de soro sem desmineralizar, isto é, fazendo com que os sais presentes auxiliassem no processo de hidrólise, ao contrário do xarope de lactose utilizado no presente estudo que foi previamente desmineralizado pelo processo de separação por membranas.

Carminatti (2001) também realizou ensaios com lactase (β -galactosidase), onde trabalhou com a enzima nas com concentrações de 0,04 %, 0,125 % e 0,2 %, meio com pH de 4 a 7 e temperaturas próximas a 40 °C, nos tempos de hidrólise de até quatro horas. Este autor verificou que quando utilizado temperaturas acima de 40 °C a conversão da lactose foi reduzida, e esta conversão se mantém constante após certo período. Carminatti (2001) também verificou que no pH 4 a conversão foi zero e, em pH 5 a conversão foi de 1 %. Assim as condições ótimas eleitas pelo autor para este ensaio enzimático foram a 30 °C, pH 6 e concentração enzimática de 0,125 %, obtendo grau de hidrólise de 92 %.

Comparando os dados deste estudo e os dados da literatura (ALMEIDA et al., 2015; CARMINATTI, 2001) decidiu-se adotar a concentração 2 (0,1 % v/v) da enzima C, pois assim não ocorre aumento de custos numa produção industrial para produtos com reduzido teor de lactose, já que o grau de hidrólise é estatisticamente igual para as concentrações da enzima de 2, 3 e 4. Por isso, as demais etapas deste trabalho foram realizadas com xarope hidrolisado usando concentração de 0,1 % de enzima C.

O xarope hidrolisado e concentrado com 0,1 % (v/v) de enzima atingiu sólidos solúveis de 85 °Brix e apresentou aspecto final agradável (cor, sabor e odor), conforme ilustrado na Figura 13.

Este xarope apresentou coloração e textura próximas aos xaropes comerciais (xarope de glicose, de amido, mel, Karo®) disponíveis no mercado nacional.

Figura 13 - Aspecto final do xarope hidrolisado e concentrado



Fonte: Autor (2016)

A composição e o valor energético do xarope hidrolisado e concentrado utilizando a enzima na concentração de 0,1 % estão expressos na Tabela 11.

Tabela 11 - Caracterização do xarope hidrolisado e concentrado com 0,1% de enzima

Análise	Unidade	Média±DP
Umidade	g/100g	12,41± 0,33
Proteína	g/100g	0,48± 0,04
Cinzas	g/100g	1,16± 0,00
Carboidratos	g/100g	85,95± 0,38
Calorias	kcal/100g	345,72± 1,35
Acidez	°D	10,41±0,34
pH	-	6,7± 0,00
EST*	g/100g	87,59± 0,33
ESD**	g/100g	87,59± 0,33
Sódio	mg/L	2600± 0,00

*Extrato seco total.

**Extrato seco desengordurado.

Os resultados expressam a média ± desvio padrão.

O xarope hidrolisado e concentrado apresentou alto teor de sólidos, baixa umidade e um pequeno residual de proteína. Esta proteína é remanescente das etapas de separação de membranas que não retiveram totalmente as proteínas e sugere-se que sejam proteínas de menor massa molar.

O percentual encontrado de sódio no xarope concentrado foi de 2600 mg/L. O teor encontrado na determinação não permitiu que o produto fosse considerado com baixo teor de sódio, pela resolução n° 360 de 23 de dezembro de 2003, pois está preconiza que para se enquadrar nesta categoria o produto deve apresentar quantidade

menor que 5 mg de sódio por 100 g⁻¹ de alimento (BRASIL, 2003). Porém este xarope será aplicado em pequenas quantidades nos alimentos como substituto da sacarose e desta forma o teor de sódio no produto final, será menor do que ao encontrado no xarope isoladamente.

Duarte (2010) caracterizou o mel comercial Karo®, que apresentou pH de 4,05 e sólidos solúveis de 80 °Brix, sendo diferente do encontrado no presente estudo. Estas diferenças se referem às matérias primas utilizadas, uma sendo o mel e neste estudo o xarope formado por glicose e a galactose. Comparando os dados do xarope Karo®, com o xarope obtido nesse estudo considera-se que estes estão dentro do esperado, considerando os aspectos gerais para o produto xarope.

O xarope atendeu os requisitos exigidos pela Legislação vigente para a classe de alimentos “Xaropes e Produtos de Confeitaria”, sendo que apresentou ausência para *salmonella* e <1 UFC/g para coliformes a 45°C. Estes resultados demonstram que as condições de segurança e higiene foram seguidas e atendidas durante o processo de produção do xarope hidrolisado e concentrado.

4.4 PRODUÇÃO DA BEBIDA LÁCTEA FERMENTADA

O xarope hidrolisado e concentrado foi incorporado em uma bebida láctea fermentada. Este produto é normalmente processado no mesmo local de origem da matéria-prima, ou seja, nos laticínios que produzem queijo. Assim é possível agregar valor ao subproduto soro de leite aplicando-o novamente nos próprios derivados lácteos, produzidos pelo laticínio e utilizando, inclusive a estrutura e os equipamentos já disponíveis numa fábrica láctea.

O uso do xarope hidrolisado e concentrado na fabricação de alimentos tem como meta substituir a sacarose, reaproveitar e agregar valor a um subproduto lácteo, o soro de leite.

A elaboração da bebida seguiu as formulações da Tabela 4 conforme item 3.2.4 em que se substituiu a sacarose pelo xarope hidrolisado e concentrado em proporções diferentes, (0 ou padrão, 20, 40 e 80 g de xarope) totalizando três formulações com xarope e uma formulação padrão, está última sem adição de xarope, ou seja, apresentando somente com a sacarose.

A bebida láctea, utilizando diferentes teores de sacarose e/ou de xarope hidrolisado e concentrado, não apresentou diferenças quanto aos aspectos visuais gerais. Este aspecto visual pode ser observado na Figura 14.

Por ser saborizada de coco, a bebida manteve a coloração branca, conforme o esperado.

Figura 14 - Aspecto visual da Bebida Láctea formulada saborizada de coco



Fonte: Autor (2016)

A composição centesimal, as características físico-químicas e o valor energético para as bebidas lácteas formuladas estão expressos na Tabela 12.

Tabela 12 - Caracterização das bebidas lácteas fermentada

Análise	Unidade	Formulação Padrão	Formulação 20	Formulação 40	Formulação 80
		Média±DP	Média±DP	Média±DP	Média±DP
Umidade	g/100g	81,45±0,02 ^d	82,19±0,10 ^c	82,69±0,14 ^b	84,80±0,03 ^a
Proteína	g/100g	2,06±0,007 ^a	2,14±0,014 ^a	2,14±0,06 ^a	2,17±0,007 ^a
Lípídeos	g/100g	1,70±0,00 ^b	1,80±0,00 ^a	1,60±0,00 ^c	1,60±0,00 ^c
Cinzas	g/100g	0,62±0,0 ^d	0,71±0,0 ^c	0,76±0,0 ^b	0,91±0,0 ^a
Carboidratos	g/100g	14,07±0,01 ^a	13,15±0,12 ^b	12,80±0,07 ^c	10,51±0,04 ^d
Calorias	kcal/100g	79,84±0,08 ^a	77,38±0,42 ^b	74,2±0,56 ^c	65,14±0,14 ^d
Acidez	°D	6,64±0,05 ^b	7,13±0,04 ^a	7,26±0,13 ^a	6,48±0,07 ^b
pH	-	4,6±0,00 ^a	4,57±0,00 ^c	4,58±0,00 ^b	4,6±0,00 ^a
EST*	g/100g	18,45±0,02 ^a	17,80±0,10 ^b	17,31±0,14 ^c	15,19±0,03 ^d
ESD**	g/100g	16,75±0,02 ^a	16,00±0,10 ^b	15,71±0,14 ^b	13,59±0,03 ^c
Sódio	mg/L	380±0,00 ^d	620±0,00 ^c	960±0,00 ^b	1060±0,00 ^a
Massa específica	kg/m ³	1,0481±0,00 ^a	1,0462±0,00 ^b	1,0449±0,00 ^c	1,0402±0,00 ^d

Os resultados expressam a média ± desvio padrão. Letras iguais na mesma linha não diferem significativamente pelo Teste Tukey (P > 0,05). Letras iguais na mesma linha não diferem significativamente pelo Teste Tukey (P > 0,05). *Extrato seco total. **Extrato seco desengordurado.

Observando a Tabela 12, pode-se perceber que todas as formulações são diferentes estatisticamente quanto aos teores de: umidade, cinzas, carboidratos, calorias, extrato seco total e sódio. São consideradas formulações muito semelhantes quanto a massa específica, pH, acidez Dornic e proteínas, demonstrando que a substituição da sacarose pelo xarope hidrolisado e concentrado, não alterou consideravelmente estas características gerais da bebida láctea.

A Formulação 80, com maior concentração de xarope (80 g), apresentou o menor valor energético. As formulações 40 e 80 (com 40 e 80 g de xarope) são iguais quanto ao teor de lipídeos e as formulações 20 (20 g de xarope) e 40 (40 g de xarope) não apresentam diferença estatística no teor de extrato seco desengordurado.

A substituição de 100 % da sacarose pelo de xarope hidrolisado e concentrado (80 g de xarope) na Formulação 80, resultou em um produto com menor quantidade de carboidratos e maior umidade. Isso se deve justamente ao fato do xarope hidrolisado e concentrado ser uma solução quase pura de glicose com maior poder adoçante que a sacarose, o que permite menor quantidade nas formulações e pode reduzir o valor energético na solução final.

O teor de sódio das bebidas lácteas, no entanto, foi consideravelmente alterado pela presença de xarope hidrolisado e concentrado. Mesmo sendo desmineralizado preliminarmente por Diálise, a adição de xarope concentrado na bebida láctea, resultou no aumento do teor de sódio em relação à Formulação Padrão, justamente por que o xarope após a concentração potencializou o teor de sódio. Segundo a resolução nº 360 de 23 de dezembro de 2003 para que um produto seja considerado com redução de sódio o teor deve ser menor 5 mg 100 g⁻¹ de alimento. Portanto este produto não é considerado com baixo teor de sódio, mas isso não implica em prejuízos na alimentação, pois corresponde somente 5% da ingestão diária recomendada (BRASIL, 2003).

Zerbielli (2014) caracterizou a bebida láctea fermentada e comparando com a formulação padrão do presente estudo, observa-se resultados muito semelhantes: tendo 81,53 % de umidade, 0,66 % de cinzas, 2,80 g/100g de proteína, 2,31 g/100g de lipídios e pH 4,58. As formulações padrão, em ambos os estudos, foram baseadas em formulações comerciais, embora o resultado do autor seja diferente das formulações 20, 40 e 80 já que no presente estudo, tem-se a adição de xarope hidrolisado e concentrado obtido do permeado do soro de leite.

Milani e Girardelli (2015) estudaram a substituição total da sacarose pelo xarope hidrolisado e concentrado na bebida láctea. A bebida apresentou 4,37 % de proteína, 14,07 % de sólidos totais, 0,95 % de cinzas, 3,9 % de gordura e pH 4,44, enquanto no presente estudo para a substituição total da sacarose pelo xarope, na formulação 80 observou-se 2,17 % de proteína, 0,91 % de cinzas, 1,60 de gordura e pH de 4,6. Nota-se que os resultados de pH e cinzas e gordura foram próximos nos dois estudos, porém os teores de proteína no presente estudo, foram menores, justificado pelo processo de separação das proteínas na membrana. O teor alto de proteínas no trabalho de Milani e Girardelli (2015) deve-se ao fato das autoras usarem o CPS na formulação juntamente com o xarope, aumentando consideravelmente o teor de proteína da formulação, o que não ocorreu, no presente estudo, pois o xarope tinha baixo teor de proteínas.

As análises microbiológicas das bebidas formuladas estão expressas na Tabela 13. Os valores representam a média de duas repetições e os valores definidos como Padrão de Legislação estão baseados na Instrução Normativa nº16/2005 do MAPA e na Resolução da Diretoria Colegiada nº 12/ 2001 da ANVISA.

Tabela 13 - Resultados análises microbiológicas

Análise	Formulação	Formulação	Formulação	Formulação	Padrão Legislação
	Padrão	20	40	80	
Bactérias Lácticas	4,09x10 ⁶	1,05x10 ⁶	2,00x10 ⁶	4,20x10 ⁶	10 ⁶ (*)
<i>Salmonella</i> sp./25mL	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência (**)
Coliformes 45°C/mL	<3,0 NMP/mL	<3,0 NMP/mL	<3,0 NMP/mL	<3,0 NMP/mL	<3,0 NMP/mL (**)
Coliformes 35°C/mL	<3,0 NMP/mL	<3,0 NMP/mL	<3,0 NMP/mL	<3,0 NMP/mL	<10 NMP/mL (*)

(*)IN 16/2005 e (**)RDC 12/2001

Todas as formulações elaboradas foram consideradas seguras microbiologicamente, pois atenderam aos requisitos exigidos pela legislação vigente para este produto, demonstrando que as Boas Práticas de Fabricação foram observadas no momento de elaboração do xarope e do produto final. Este mesmo resultado foi observado no estudo de Zerbielli (2014), que comparou as análises de *salmonela* e *coliformes* a 35°C e a 45°C, mostrando que estão adequadas segundo as normas da legislação.

4.4.1 Análise sensorial das bebidas lácteas

A Tabela 14 apresenta os resultados da avaliação sensorial das bebidas lácteas submetidas aos testes afetivos, de aceitabilidade e de intenção de compra do produto.

Tabela 14 - Testes afetivos, de aceitabilidade e de intenção de compra para as bebidas lácteas

Amostra	Cor	Odor	Sabor	Textura	Avaliação Global	Intenção de Compra
Formulação Padrão	7,58±1,17 ^{ab}	7,8±1,13 ^a	7,59±1,26 ^a	7,01±1,47 ^a	7,58±1,09 ^{ab}	4,02±0,88 ^{ab}
Formulação 20	7,73±1,13 ^a	7,77±1,18 ^a	7,53±1,29 ^a	7,14±1,32 ^a	7,67±0,97 ^a	4,12±0,85 ^a
Formulação 40	7,59±1,15 ^{ab}	7,23±1,28 ^b	6,92±1,55 ^b	6,73±1,48 ^a	7,21±1,19 ^b	3,68±1,05 ^b
Formulação 80	7,24±1,49 ^b	6,84±1,54 ^b	5,47±1,73 ^c	6,12±1,68 ^b	6,27±1,43 ^c	2,79±0,94 ^c

Letras iguais na mesma coluna não diferem significativamente pelo Teste Tukey ($P > 0,05$).

Os resultados expressam a média ± desvio padrão.

Percebe-se que a Formulação 20, com adição de apenas 25% de Xarope Concentrado, teve desempenho muito semelhante à Formulação Padrão, não apresentando diferenças estatísticas significativas, ou seja, segundo os 100 avaliadores esta formulação é muito parecida com a formulação padrão da bebida láctea. Esta formulação também apresenta um teor de sódio aceitável, o que não impede seu consumo para pessoas com restrição ao sódio, desde que seja consumida de forma harmoniosa.

Segundo a avaliação dos julgadores, a Formulação Padrão e a Formulação 20 receberam nota maior que 7, que equivale ao “Gostei Moderadamente”, para todos os atributos avaliados, além de receberem nota maior que 4 na intenção de compra, equivalente a “Possivelmente Compraria”.

A Formulação 40, com 50% de xarope hidrolisado e concentrado, teve desempenho intermediário, ou seja, nos atributos sabor e textura, recebeu nota inferior a 7. Além disso, os atributos odor, sabor e na avaliação global, a Formulação 40 apresentou diferença estatisticamente significativa em relação à Formulação Padrão.

A Formulação 80, com adição de 100% de xarope hidrolisado e concentrado, apresentou os piores resultados quanto à aceitabilidade, sendo avaliada negativamente

principalmente no atributo sabor, apresentando nota muito abaixo da média de aceitabilidade. Além disso, na intenção de compra, a Formulação 80 recebeu nota menor que 3, ficando entre a opção “Talvez Compraria” e “Certamente Não Compraria”.

As notas atribuídas e os comentários dos avaliadores indicam que a textura não foi muito apreciada pelos julgadores. Alguns sugeriam que as bebidas deveriam ser mais viscosas, semelhantes ao iogurte. No entanto, a viscosidade das bebidas lácteas, caracteristicamente, é baixa, tornando a bebida bastante fluída.

Atribui-se o baixo desempenho para todas as formulações no atributo textura, à falta de hábito de consumo deste tipo de bebida, pelos julgadores, pois a equipe de julgadores não era treinada.

Costa (2013) testou diferentes estabilizantes/espessantes e os resultados não foram superiores ao presente estudo quanto a análise sensorial, em que as notas ficaram abaixo de 7,40. Diante dos resultados obtidos por Costa (2013), e comparando-se com os deste estudo se perceber que as bebidas elaboradas obtiveram maior aceitação sensorial.

A Tabela 15 apresenta os resultados da avaliação sensorial das bebidas lácteas submetidas ao teste discriminativo de diferença do controle.

Tabela 15 - Teste discriminativo de diferença do controle para as bebidas lácteas.

Amostra	Xarope (g)	Média
Formulação 20	20g	2,12±0,93 ^a
Formulação 40	40g	2,64±0,97 ^b
Formulação 80	80g	4,09±0,98 ^c

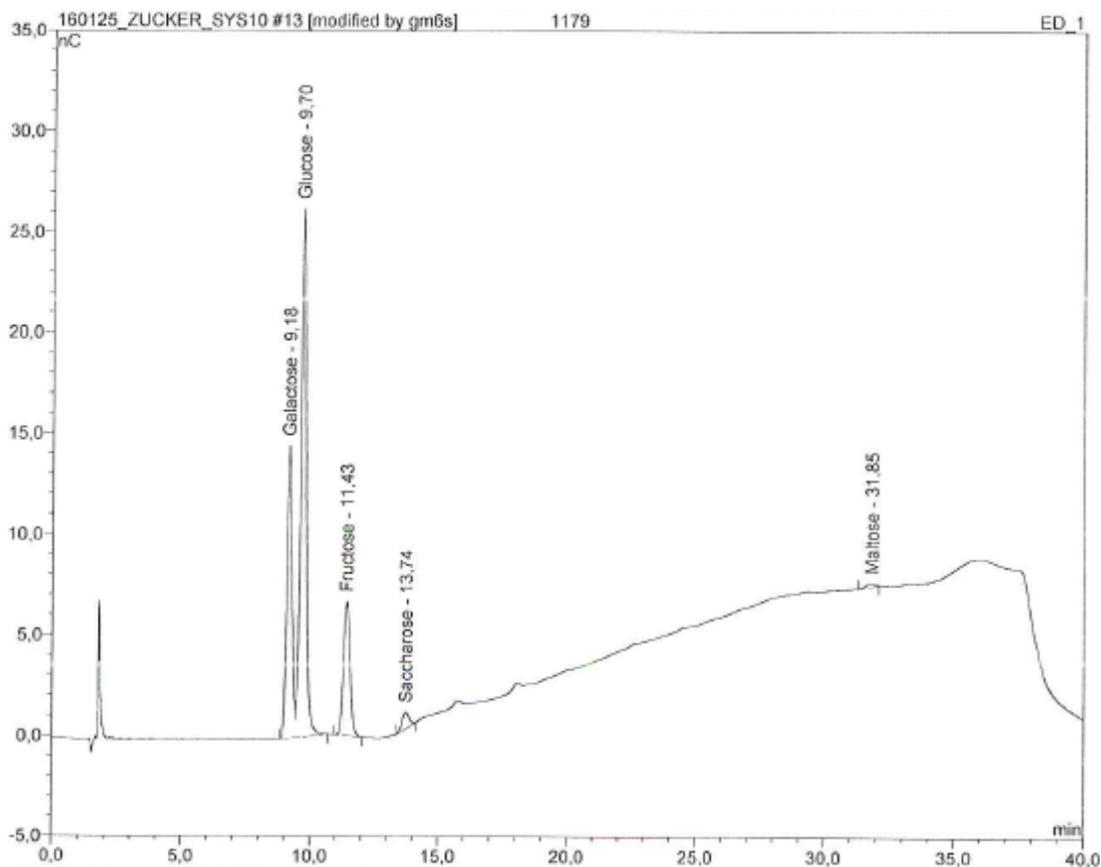
Os resultados expressam a média ± desvio padrão. Letras iguais na mesma coluna não diferem significativamente pelo Teste Dunnett ($P > 0,05$).

O teste discriminativo de diferença do controle indica que os julgadores conseguiram identificar diferenças entre as Formulações testadas no aspecto global. Quanto menor a nota atribuída, menos diferenças foram observadas nas amostras em relação ao padrão. Pode-se perceber, que a formulação 20 foi a que recebeu a menor nota, sendo avaliada como mais próxima do padrão. Já a formulação 80 recebeu nota maior que 40, indicando que esta amostra apresentou muita diferença em relação ao

controle. Diante do grau de aceitação, foi definida a Formulação 20 como melhor, com substituição de 25% da sacarose, está apresentou teor de lactose menor que 0,5%, conforme apresenta a Figura 15. Significando que de acordo com a legislação para produtos com fins especiais a bebida láctea desenvolvida no presente estudo pode ser consumida por indivíduos que apresentam intolerância a lactose, atendendo então a presente legislação.

A Figura 15 mostra que a bebida formulada tem alto teor de glicose e galactose, como se esperaria de um produto da hidrólise da lactose.

Figura 15 - Cromatograma Bebida Láctea



De acordo com o cromatograma pode-se perceber que houve hidrólise total, não aparecendo nenhum pico de lactose, diante disso percebe-se um pico pequeno de sacarose, um grande de glicose, seguido de galactose. Na elaboração da bebida láctea utiliza-se soro de leite que é um produto que apresenta pH baixo e na pasteurização utiliza-se temperaturas altas, desta forma pode ter ocorrido a inversão da sacarose, isso justifica o ponto de glicose que aparece no cromatograma.

5 CONCLUSÃO

O presente estudo apresenta um processo de otimização de recursos para o setor lácteo possibilitando o desenvolvimento de novos produtos.

O processo experimental sugerido para elaboração do xarope hidrolisado (85 °Brix) poderá ser reproduzido em escala industrial, trazendo rentabilidade a indústria e aplicabilidade no desenvolvimento de novos produtos.

O processo de concentração do xarope hidrolisado mostra-se como alternativa para redução de água no produto e concomitante concentração dos sólidos solúveis. A elaboração da bebida láctea com adição de xarope mostrou uma oportunidade na utilização do xarope elaborado, pois possibilitou a substituição de 25 % da sacarose, sendo a fórmula com 20 g de xarope aceita pelos provadores.

O teor de enzima sugerido no processo de hidrólise (0,1 %) resultou em um produto com residual de lactose menor que 0,5 % podendo ser consumida por indivíduos que apresentam intolerância a lactose.

A utilização do permeado da ultrafiltração mostrou-se uma alternativa para a otimização de subprodutos lácteos, possibilitando a utilização de um fluido que anteriormente era destinado a alimentação animal ou, tratado como efluente tornando-se um processo oneroso para a indústria. Outra alternativa é a produção do soro em pó, mas este ainda é um desafio no setor industrial, pois os custos com equipamentos são muito altos, o que inviabiliza para pequenas indústrias.

Este estudo permitiu visualizar a agregação de valor ao subproduto lácteo, o soro de leite, podendo tornar-se um projeto sócio ambiental adequado e garantir a competitividade da indústria Nacional deste setor.

SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- ✓ Testar temperaturas mais altas no processo de hidrólise, ou seja, em torno de (50 °C), pois segundo alguns autores temperaturas maiores auxiliam na reação;
- ✓ Testar pH maior que 7, pois a enzima tem maior eficiência em pH superiores;
- ✓ Imobilizar enzimas comerciais e depois utiliza-las;
- ✓ Testar enzimas obtidas de outras fontes como fungos, por exemplo *Aspergillus ninger*, pois estes atuam bem em substratos ácidos como é o caso do produto estudado;
- ✓ Aplicar o xarope em diferentes produtos como, por exemplo, balas, sorvetes.
- ✓ Desmineralizar totalmente o produto, para possíveis aplicações em produtos com redução de sódio;
- ✓ Abrandamento para redução do sódio no xarope;
- ✓ Purificar e concentrar a lactose e aplicá-la em produtos onde se deseja alto percentual de cristalização da lactose.

REFERÊNCIAS

- ABIQ (Associação Brasileira das Indústria de Queijo). **Notícias**. Disponível em: <http://www.abiq.com.br/abiq_noticias.asp?PaginaAtual=2&busca=&codigo_categoria=&codigo_subcategoria>. Acesso em: 10 set. 2014.
- AIRES, A. G. **O soro de leite como suplemento proteico para atletas**. Monografia (Curso de graduação de Engenharia de Alimentos), Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre/RS, 2010.
- ALMEIDA, K. E.; BONASSI, I. A.; ROÇA, R. O. Características físicas e químicas de bebidas lácteas fermentadas e preparadas com soro de queijo minas frescal. **Ciênc. Technol. Aliment.**, v.21, p.187-192, 2001.
- ALMEIDA, K. N.; ALVIM, T. C.; SOUZA, A. R. M.; LACERDA, G. E.; ALVIM, F. A. L. S.; ALVIM, J. C. Hidrólise enzimática da lactose de permeado de soro. **Rev. Inst. Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 70, n. 2, p. 55-63, 2015.
- ALVES, M.P.; MOREIRA, R.O.; RODRIGUES JUNIOR, P.H.; MARTINS, M.C.F.; PERRONE, I.T.; CARVALHO, A.F. Soro de leite: tecnologias para o processamento de coprodutos. **Rev. Inst. Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 69, n. 3, p. 212-226, mai./jun., 2014.
- ANDRADE, K.; FIORESE, M. L.; ASSUNÇÃO, G. M.; SANDRI, J. P.; PRADO, M. V.; LUCAS, M. S.; HASAN, S. D. M. Estudo das condições da hidrólise enzimática da lactose presente no permeado de soro de leite. **Anais do III Encontro Paranaense de Engenharia e Ciência**. Toledo/PR, 2013.
- AOAC (Association of Official Analytical Chemists). **Official methods of analysis of AOAC international**. 16 ed., Arlington: AOAC International, 1995.
- APHA. **Standard methods for the examination of water and wastewater**. 21 ed., Washington: American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environmental Federation, 2005.
- ATRA, R.; VATAI, G.; BEKASSY-MOLNAR, E.; BALINT, A. Investigation of ultra and nanofiltration for utilization of whey protein and lactose. **Journal of Food Engineering**, v. 67, n. 3, p. 325-332, 2005.
- BAKER R. W.; CUSSLER, E. L.; EYKAMP, W.; KOROS, W.J.; RILEY, R.L.; STRATHMANN, H. Membrane separation systems: recent developments and future directions. **New Jersey: Noyes Data Corporation**, 1991.
- BALDASSO, C. **Concentração, Purificação e Fracionamento das Proteínas do Soro Lácteo através da Tecnologia de Separação por Membranas**. Dissertação (Mestrado em Engenharia), Universidade Federal Do Rio Grande Do Sul, Porto Alegre, RS, 2008.
- BALDASSO, C.; BARROS, T. C.; TESSARO, I. C. Concentration and purification of whey proteins by ultrafiltration. **Desalination**, v. 278, n. 1-3, p. 381-386, 2011.

BARBOSA, A. S.; ARAÚJO, A. S.; FLORÊNCIO, I. M.; BEZERRA, R. R. A.; BORGES, P. F. Z.; SGARBIERI, V.C.; DIAS, N. F.G. P.; JACOBUCCI, H. B.; PACHECO, M. T. B.; BALDINI, V. L. S. Produção piloto de concentrados de proteínas de leite bovino: composição e valor nutritivo. **Brazilian Journal of Food Technology**, p.1-8, 2001.

BARBOSA, A.S.; ARAÚJO, A.S.; FLORÊNCIO, I.M.; BEZERRA, R.R.A.; FLORENTINO, E.R. Estudo cinético da fermentação do soro de queijo de coalho para produção de aguardente. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 5, p. 237-254, 2010.

BOER, R.; HIDDINK, J. Membrane process in the dairy industry. **Desalination**, v.35, p.169-192, 1990.

BRAGA, A. R. C. **Obtenção e caracterização da enzima β -galactosidase submetida a diferentes processos: purificação, imobilização e altas pressões**. Tese (Doutorado em Engenharia e Ciência de Alimentos), Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande/RS, 2012.

BRANDÃO, S. C. C. **Novas gerações de produtos lácteos funcionais. Indústria de Laticínios**. Disponível em: http://www.revistalaticinios.com.br/main_frame/revista/ed_37/pdfs/fm4.pdf Acesso em: 06 nov. 2014.

BRANS, G.; SCHROEN, C.G.P.H.; SMAN, R.G.M.; BOOM, R.M. Membrane fractionation of milk: state of the art and challenges. **Journal of Membrane Science**, v. 243, n. 2, p. 263-272, 2004.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução normativa nº 68 de 12 de dezembro de 2006. Anexo métodos analíticos oficiais físico-químicos para controle de leite e produtos lácteos. **Diário Oficial da União**, 14 dez. 2006.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 146, de 7 de março de 1996. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade dos Produtos Lácteos. **Diário Oficial da União**, Brasília/DF, 11 mar. 1996.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 16, de 23 de agosto de 2005. Regulamento técnico de identidade e qualidade de bebida láctea. **Diário Oficial da União**, Brasília/DF, 24 ago. 2005.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Portaria nº 53, de 10 de Abril de 2013. Projeto de Instrução Normativa que estabelece os padrões de identidade e qualidade de soro de leite. **Diário Oficial da União**, Brasília/DF, 10 abr. 2013.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Portaria nº 29, de 13 de Janeiro de 1998. Aprova o Regulamento Técnico referente a Alimentos para Fins Especiais. **Diário Oficial da União**, Brasília/DF, 30 mar. 1998.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001. Aprova o regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial da União**, Brasília/DF, 10 jan. 2001.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC nº 360, de 23 de dezembro de 2003. Aprova o regulamento técnico sobre Rotulagem Nutricional de Alimentos Embalados. **Diário Oficial da União**, Brasília/DF, 26 dez. 2003.

BRIÃO, V. B.; MAGOGA, J.; HEMKEMEIER, M.; BRIÃO, E. B.; GIRARDELLI, L.; SBEGHEN, L.; FAVARETTO, D. P. C. Reverse osmosis for Desalination of water from the Guarani Aquifer system to produce drinking water in southern Brazil. **Desalination**, v. 344, p. 402-411, 2014.

BRIÃO, V. B.; TAVARES, C. R. G. Nota Científica: Ultrafiltração de efluente da indústria de laticínios para recuperação de nutrientes: efeito da pressão e da velocidade tangencial. **Braz. J. Food Technol**, Campinas, v. 15, n. 4, p. 352-362, 2012.

BRIÃO, V.B.; TAVARES, C.R.G. Ultrafiltração como processo de tratamento para o reuso de efluentes de laticínios. Nota Técnica. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v.12, p. 134-138, 2007.

BVSMS (Biblioteca Virtual em Saúde do Ministério da Saúde). **Intolerância à lactose**. In: Dicas em Saúde. Disponível em: <http://bvsms.saude.gov.br/bvs/dicas/88lactose.html>. Acesso em: 07 nov. 2015.

CAMPELLO, G. S. **Imobilização de β -galactosidase (Lactozym®) em Eupergit® C e sua caracterização**. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos), Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande/RS, 2010.

CAMPOS, T. C. A. S. **Utilização do soro de queijo na produção de etanol por *saccharomyces fragilis* e *saccharomyces cerevisiae***. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia do Leite), Universidade Norte do Paraná, Londrina/PR, 2012.

CARMINATTI, C. A. **Ensaio de hidrólise enzimática da lactose em reator a membrana utilizada Beta-galactosidase *Kluyveromyces lactis***. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química), Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis/SC, 2001.

CIOLA, R. **Fundamentos de cromatografia a líquido de alto desempenho, HPLC**. 1ª ed. São Paulo: Ed. Edgard Blücher, 1998.

COSTA, A.M.N.M.; CHAVES, C.G.; FREITAS, R.M.F.; ROCHA, E.M.F.F.; MOURA, L.B.; MARQUES, F.L.; COSTA, T.L.; MOURA, R.L. Elaboração de doce de leite pastoso com diferentes concentrações de soro de leite. In: **Jornada Nacional da Agroindústria**, Bananeiras/PB, 2008.

CUARTAS-URIBE, B.; ALCAINA-MIRANDA, M.I.; SORIANO-COSTA, E.; MENDOZA-ROCA, J.A.; IBORRA-CLAR, M.I., LORA-GARCÍA, J. A study of the

separation of lactose from whey ultrafiltration permeate using nanofiltration. **Desalination**, v. 241, p. 244-255, 2009.

CUNHA, V. A. B., **Síntese e fracionamento de oligossacarídeos a partir da lactose em reator de membrana**, Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos), Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis/SC, 2010.

DSM, Food Specialties. **Dairy Ingredients**. Disponível em:

DUARTE, T. C. **Processo de produção de concentrados de glicose e frutose a partir do xarope obtido do suco clarificado de caju**. Monografia (Curso de Graduação em Engenharia Química), Universidade Federal do Ceará, Fortaleza/CE, 2010.

EBERSOLD, M. F.; ZYDNEY, A. L. The effect of membrane properties on the separation of protein charge variants using ultrafiltration. **Journal of Membrane Science**, v.243 p.379-388, 2004.

EDUARDO, M. F.; LANNES, S. C. S. Achocolatados: análise química. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 40, n.3, p. 405-412, 2004.

EMBRAPA - Gado de Leite. **Informações técnicas: estatísticas do leite**. Disponível em:<<http://www.cnp.gl.embrapa.br>> Acesso em: 04 set. 2013.

Equipe Estatcamp. **Software Action**. Disponível em: <<http://www.porta.laction.com.br>>. Acesso em: 05 jan. 2016.

ESCOBAR, G. P., SOUZA, C. F. V., LEHN, D. N., Avaliação de β -galactosidase livre e imobilizada na hidrólise da lactose do permeado de soro de queijo. Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Centro Universitário UNIVATES. **Caderno pedagógico**, Lajeado, v. 11, n. 1, p. 117-129, 2014.

FAEDO, R., BRIÃO, V. B., CASTOLDI, S., GIRARDELLI, L., MILANI, A., Obtenção de leite com baixo teor de lactose por processos de separação por membranas associados à hidrólise enzimática. Universidade de Passo Fundo, **Revista CIATEC – UPF**, vol.3, p.p.44-54, 2013.

FANI, M. As enzimas na fabricação de produtos lácteos. **Aditivos e ingredientes/insumos**. Disponível em: <http://www.insumos.com.br/aditivos_e_ingredientes>. Acesso em: 15 fev. 2016.

FASSIO, L.O.; TÉRAN-ORTIZ, G.P.; ARAÚJO, R.A.B.M.; MENDONÇA, A.M.B. Caracterização sensorial e físico-química de gelados comestíveis a base de soro de leite adicionado de polpas de frutos do cerrado. **In: Semana de Ciência e Tecnologia do IFMG**, Bambuí/MG, 2009.

FENNEMA, O. R.; DAMODARAN, S.; PARKIN, K. **Fennema's Food Chemistry**. 4 ed., Porto Alegre: ARTMED EDITORA S.A, 1996, 331-429 p.

FENNEMA, O.R.; PARKIN, K.L.; DAMODARAN, S. **Química de alimentos de Fennema**. 4 ed., Porto Alegre: ARTMED EDITORA S.A., 2010, 900p.

FERNANDEZ J., VEGA A., COCA J., ALLAN G. G. Sugar-cellulose composites VI. Economic evaluation of lactose production from cheese whey for use in paper. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 2002.

FERREIRA V.L.P et al. Análise Sensorial: testes discriminativos e afetivos. **SBCTA**. Campinas/SP, 2000.

FERREIRA, S. M.; CALIARI, M.; SOARES JUNIOR, M.S.; BELEIA, A. P. Produção de açúcares redutores por hidrólise ácida e enzimática de farinha de arroz. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v.15, n.4, p.3, 2013.

FISCHER, J. **Hidrólise de Lactose por β -galactosidase de *Aspergillus oryzae* Imobilizada em Reator de Leito Fixo**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química), Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia/MG, 2010.

FLORENTINO, E. R. Estudo cinético da fermentação do soro de queijo de coalho para produção de aguardente. **Revista verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 5, p. 237-254, 2010.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION/ WORLD HEALTH ORGANIZATION. Protein quality evaluation: report of the joint FAO/WHO. **Food and Nutrition Paper**, v. 51, 1991.

FRIEDRICH, D. C. **A diversidade do gene LCT e a persistência da lactase na população brasileira**. Tese (Doutorado em Genética e Biologia Molecular), Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre/RS, 2013.

GAREM, A., JEANTET, R. Fouling occurring in nanofiltration of dairy products. In "Fouling and cleaning in pressure driven membrane processes". **International Dairy Federation ed.**, p. 71-79, 1995.

GEA Filtration. **Nanofiltração de Soro de Leite**. GEA Group AG, USA, 2014. Disponível em:<http://www.geafiltration.com/Portuguese/mercados_aplicacoes/Nanofiltracao_Soro_Leite.htm>. Acesso em: 02 nov. 2014.

GOMES, R. G.; PENNA, A. L. B. Características reológicas e sensoriais de bebidas lácteas funcionais. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 30, p. 629-646, 2009.

HABERT, A. C.; BORGES, C. P.; NOBREGA, R. **Processos de separação por membranas**. Rio de Janeiro: E-papers, 2006.

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

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

- IAL (Instituto Adolfo Lutz). **Métodos físico-químicos para análise de alimentos/ coordenadores Odair Zenebon, Neus Sadocco Pascuet e Paulo Tiglea**. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008, 1020 p.
- IDF (International Dairy Federation). **Metodologia de Infravermelho**, nº 141, 2013.
- IDF (International Dairy Federation). **The quality, treatment and use of condensate and reverse osmosis permeates**. Bull, nº. 232, 1988.
- KLEIN, M. P. **Imobilização de β -galactosidase para obtenção de produtos lácteos com baixo teor de lactose**. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos), Universidade Federal do Rio Grande do Sul/RS 2010.
- KUROZAWA, L.E.; PARK, K. J.; HUBINGER, M. D. Influência das condições de processo na cinética de hidrólise enzimática de carne de frango. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, vol.29, n.3, p. 557-566. 2009.
- LAGRANGE, V.; DALLAS, P. Produtos de soro dos EUA: Disponibilidade, recursos tecnológicos, aplicações. **Engenharia de Alimentos**, n.15, p. 27-29, 1997.
- LEINDECKER, G. C. Separação das proteínas do soro do leite in natura por ultrafiltração. Monografia (Formação em Engenharia Química), Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre/RS, 2011.
- LIPNIZKI, F. **Cross-Flow Membrane Applications in the Food Industry**. In: PEINEMANN, K.V.; NUNES, S.P.; GIORNO, L. Membrane Technology, Membranes for Food Applications. Weinheim: Wiley-VCH, v. 3, p. 01-24, 2010.
- LONGO, G.; **Influência da adição de lactase na produção de iogurte**. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos), Universidade Federal do Paraná, Curitiba/PR, 2006.
- MADRONA, G.S.; ZOTARELLI, M.F.; BERGAMASCO, R. Estudo do efeito da adição de soro de queijo na qualidade microbiológica do doce de leite pastoso. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, v.2, p.81-86, 2008.
- MAHONEY, R. R. Galactosyl-oligosaccharide formation during lactose hydrolysis: a review. **Food Chemistry**, v. 63, nº. 2, p. 147-154, 1998.
- MARZZOCO, A.; TORRES, B. B. **Bioquímica básica**. 3. ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 2007.
- MILANI, A.; GIRARDELLI, L. **Bebida láctea com baixo teor de lactose enriquecida de proteínas do soro de leite**. Monografia (Curso de Graduação de Engenharia de Alimentos), Universidade de Passo Fundo. Passo Fundo/RS, 2015.
- MINHALMA, M.; MAGUEIJO, V.; QUEIROZ, D.P.; DE PINHO, D.M. Optimization of “Serpa” cheese whey nanofiltration for effluent minimization and by-products recovery. **J. Environ. Management**, v. 82, p. 200-206, 2007.

MOHAMMAD, A.W.; TEOWA, Y.H.; ANG, W.L.; CHUNG, Y.T.; OATLEY-RADCLIFFE, D.L.; HILAL, N. Nanofiltration membranes review: Recent advances and future prospects. **Desalination**, p. 29, nov., 2014.

MOREIRA, K. M. M. et al., 2009). Production, properties and applications of oligosaccharides. **Ciências Agrárias**, v. 32, n. 2, p. 683-700, 2015.

MORR, C. V.; FOEGEDING, E.A. Composition and functionality of commercial whey and milk protein concentrates. **A status report. Food Technology**, v.44, p.100-112, 1990.

MUKHOPAHYAY, R.; TALUKDAR, D.; CHATTERJEE, B. P. and GUHA, A. K. Whey processing with chitosan and isolation of lactose. **Process. Biochem.** v. 39, p. 381-385, 2003.

MULDER, M. **Basic Principles of Membrane Technology**. 2. ed. USA: Kluwer Academic Pub, 1996.

NIELSEN, S.S. **Food Analysis**. Gaithersburg: Aspen Publisher, 630 p., 1998.

OANCEA D., STUPARU A., NITA M., PUIU M., RADUCAN A. Estimation of the overall kinetic parameters of enzyme inactivation using an isoconversional method. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 48, p.50-54, 2008.

OLIVEIRA, A. F. **Apostila de análise sensorial**. Disponível em: <[http://www.ebah.com.br/Apostila/ análise sensorial](http://www.ebah.com.br/Apostila/análise_sensorial) >. Acesso em: 20 fev. 2016.

PAGNO, C.H.; BALDASSO, C.; TESSARO, I.C.; FLORES, S.H.; de JONG, E.V. obtenção de concentrados proteicos de soro de leite e caracterização de suas propriedades funcionais tecnológicas. **Alim. Nutr.**, v.20, n.2, p. 231-239, abr./jun., 2009.

PAULA, J. C. J.; ALMEIDA, F. A.; PINTO, M. S.; RODRIGUES, T. F.; SOBRAL, D.; MACHADO, G.M. Aproveitamento de soro de queijo de coalho na elaboração de bebida láctea fermentada. **Rev. Inst. Latic. Cândido Tostes**, nº 388, 67: 25-33, 2012.

PELEGRINE, D. H. G. e CARRASQUEIRA, R. L., Aproveitamento do soro do leite no enriquecimento nutricional de bebidas, **Braz. J. Food Technol.**, 2008.

PÉREZ-GONZÁLEZ, A.; IBÁÑEZ, R.; GÓMEZ, P.; URTIAGA, A.M.; ORTIZ, I.; IRABIEN, J.A. Nanofiltration separation of polyvalent and monovalent anions in desalination brines. **Journal of Membrane Science**, v. 473, p. 16–27, 2015.

POPPI, F. A.; COSTA, M. R.; RENSIS, C. M. V.B; SILVIERI, K. Soro de Leite e Suas Proteínas: Composição e Atividade Funcional. **Cient., Ciênc. Biol. Saúde**. 2010.

REKTOR, A.; VATAI, G. Membrane filtration of Mozzarella whey. **Desalination**, v. 162, p. 279-286, 2004.

- RODRIGUES, A. P.; FONTANA, C. V.; PADILHA, E.; SILVESTRIN, M.; AUGUSTO, M.M.M. **Elaboração de sorvete sabor chocolate com teor de gordura reduzido utilizando soro de leite em pó.** *Vetor*, v.16, p.55-62, 2006.
- RODRIGUES, L. R. M. **Valorização da fração protéica do soro de queijo.** Dissertação (Mestrado em Biotecnologia/ Engenharia de Bioprocessos), Universidade do Minho, Braga/PT, 2001.
- RODRIGUES, S. L. C.; MOREIRA, R. L. S.; CARDOSO, M. H.; MERÇON, F.; Avaliação de parâmetros de ultrafiltração de suco de banana. **Ciênc. Tecnol. Aliment.** v.23, p.98-101, 2003.
- SALEHI, F. Current and future applications for nanofiltration technology in the food processing. **Food and Bioproducts Processing**, v.92, p.161-177, 2014.
- SENAI/DN. Serviço Nacional de Aprendizagem Industrial. **Departamento Nacional Tecnologias inovadoras na indústria de alimentos e bebidas: processos não-térmicos: tecnologia de membranas.** Brasília/BR, 2014.
- SGARBIERI, V. C. Propriedades fisiológicas-funcionais das proteínas do soro de leite. **Rev. Nutr.**, v.17, p.397-409, 2004.
- SHAHID, F.; ARACHCHI, J. V., JEON, Y. J. Food applications of chitin and chitosans. **Food science & technology**, v. 10, n. 2, p. 37-51, 1999.
- SILVA, A.; ALMEIDA, S. N. R.; ALMEIDA, R. R. P.; CAROLINO, E. C. A.; CRISPIM, D. L. A problemática ambiental decorrente dos resíduos sólidos gerados no processo produtivo do queijo. **Revista Verde Pombal**, vol. 10, nº 5, p. 01 - 06, 2015.
- SILVA, D. G.; CAMPOS, E.; MARTINS, M.; TAVARES, L.; OLIVEIRA, L. F.; OLIVEIRA, I.P. Bebida láctea não fermentada e saborizada por substâncias concentradas em pó: metodologia e leis. **Revista Faculdade Montes Belos**, v. 7, nº 4, p 1-19, 2014.
- SILVA, K.; BOLINI, H.M.A.; ANTUNES, A.J. Soro de leite bovino em sorvete. **Alimentos e Nutrição**, v. 15, p. 187-196, 2004.
- SISO G., The biotechnological utilization of cheese whey: a review. **Bioresour Technol** 1996.
- SOUZA, R. R.; BERGAMASCO, R.; Costa, S. C.; FENG, X.; FARIA, S. H. B.; GIMENES, M. L. Recovery and purification of lactose from whey. **Chemical Engineering and Processing: Process Intensification**, v. 49, p. 1137–1143, 2010.
- STEFFE, J.F. Rheological Methods in Food Process Engineering. **East Lansing: Freeman Press**, 1996.
- SUÁREZ, E.; LOBO, A.; ÁLVAREZ, S.; RIERA, F.A.; ÁLVAREZ, R. Demineralization of whey and milk ultrafiltration permeate by means of nanofiltration. **Desalination**, v. 241, p. 272-280, 2009.

SUTZKOVER, I.; HASSON, D.; SEMIAT, R. Simple technique for measuring the concentration polarization level in a reverse osmosis system. **Desalination**, v. 131, p. 117-127, 2000.

SZCZODRAK, J. Hydrolysis of lactose in whey permeate by immobilized β -galactosidase from *Kluyveromyces fragilis*. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**. v. 10, p. 631-637, 2000.

TEIXEIRA, L. V. Análise sensorial na indústria de alimentos. **Rev. Inst. Latic. Cândido Tostes**, nº 366, 64: 12-21, 2009.

THAMER, K. G.; PENNA, A. L. B. Caracterização de bebidas lácteas funcionais fermentadas por probióticos e acrescidas de prebiótico. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v.26 p. 589-595, 2006.

TORRES, D. P. M. **Gelificação térmica de hidrolisados enzimáticos de proteínas do soro de leite bovino**. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia/ Engenharia de Bioprocessos), Engenharia Biológica, Universidade do Minho, Braga/PT, 2005.

TRINDADE, M. C. **Estudo da Recuperação do Ácido Lático Proveniente do Soro de Queijo pela Técnica de Membranas Líquidas Surfatantes**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química), Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte/MG, 2002.

VALDUGA, E.; PAVIANI, L. C.; MAZUR, S. P.; FINZER, J. R. D. Aplicação do soro de leite em pó na panificação. **Alim. Nutr.**, v. 17, n. 4, p. 393-400, out./dez., 2006.

VIEIRA, D. C. **Imobilização da enzima β -galactosidase de *Kluyveromyces fragilis* em agarose e quitosana utilizando diferentes protocolos de ativação**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química), Universidade Federal de São Carlos. São Carlos/SP, 2009.

VILAR, A. C. **Utilização da flotação em coluna para o tratamento de efluente na indústria láctea**. Dissertação (Mestrado em Desenvolvimento de Processos Ambientais), Universidade Católica de Pernambuco, Pernambuco/PE, 2009.

VOORDE, V.; GOIRIS K.; SYRYN, E.; C. Van den BUSSCHE, V. D.; AERTS G. Evaluation of the cold-active *Pseudoalteromonas haloplanktis* -galactosidase enzyme for lactose hydrolysis in whey permeate as primary step of d-tagatose production. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 2014.

WILSON, J. Intolerância ao leite: intolerância à lactose e leite de vaca alergia às proteínas. From the Mercy Medical Center, Department of Pediatrics, Division of Neonatology, Baltimore, MD. **Elsevier Inc. All rights reserved**. v 5, no 4, p 203–207, 2005.

YARAK, A. **Açúcar: um grande vilão da saúde**. Disponível em: <<http://www.http://www.veja.abril.com.br>>. Acesso em: 19 jan. 2016.

ZACARCHENCO, P. B.; DENDER, A. G. F. V.; SPADOTI, L. M.; GALLINA, D. A.; TRENTO, F. K. H. S.; SILVA, A. T. Permeado de soro. **Leite e Derivados**, Anuário 2012: Guia de referência do setor lácteo, 2012.

ZAVAREZE, E.R.; MOARES, K.S.; SALAS-MELLADO, M.L.M. Qualidade tecnológica e sensorial de bolos elaborados com soro de leite. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v.30, p.100-105, 2010.

ZENI, M. P. Influência dos microrganismos psicrotrófilos sobre a qualidade do leite refrigerado para produção de UHT. **Unoesc & Ciência – ACET**, v. 4, n. 1, 61-69, 2013.

ZERBIELLI, K. M. **Bebida láctea fermentada com cultura probiótica adicionada de chia (*Salvia hispanica L.*)**. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos), Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Londrina/PR, 2014.

ZYDNEY, A. Protein Separations Using Membrane Filtration: New Opportunities for Whey Fractionation. **International Dairy Journal**, v. 8, p. 243-250, 1998.

APÊNDICE A - Participação em eventos

FORTUNA, S. S.; MILANI, A.; CASTOLDI, V.; BRIÃO, V.; ENDRES, C. M.; SEGUENKA, B.; PEZZINI, A.; RODRIGUES, V. M. Nanofiltração seguida de diálise para obtenção de um xarope de lactose. MOSTRA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 24.: 2014, Passo Fundo/RS. **Anais MIC** Universidade de Passo Fundo, 2014.

CASTOLDI, V.; FORTUNA, S. S.; MILANI, A.; RODRIGUES, V. M.; ENDRES, C. M.; SEGUENKA, B.; PEZZINI, A.; BRIÃO, V. Hidrólise enzimática da lactose do soro de leite. MOSTRA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 24.: 2014, Passo Fundo/RS. **Anais MIC** Universidade de Passo Fundo, 2014.

PEZZINI, A.; CASTOLDI, V.; FORTUNA, S. S.; MILANI, A.; ENDRES, C. M.; SEGUENKA, B.; BRIÃO, V. Combinação de ultrafiltração e nanofiltração para a separação de lactose e proteínas do soro de leite. MOSTRA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 24.: 2014, Passo Fundo/RS. **Anais MIC**, Universidade de Passo Fundo, 2014.

ENDRES, C. M.; FORTUNA, S. S.; SEGUENKA, B.; BRIÃO, V.; TOLEDO, T.; RODRIGUES, V. M.; Comparação da enzima β -galactosidase de diferentes marcas comerciais. SIMPÓSIO DE ALIMENTOS, 2015, Passo Fundo/RS. **Anais SIAL**, Universidade de Passo Fundo, 2015.

ENDRES, C. M.; ALVES, C. A.; BARCELOS, J. C.; SEGUENKA, B.; BRIÃO, V.; RODRIGUES, V. M.; Obtenção do xarope de soro de leite hidrolisado e concentrado. SIMPÓSIO DE ALIMENTOS, 2015, Passo Fundo/RS. **Anais SIAL**, Universidade de Passo Fundo, 2015.

APÊNDICE B - Relatório de ensaio cromatografia



Laboratório Alac Ltda.
Rua David Sartori, 601
Bairro Alfândega
CEP 95720 000 - Garibaldi - RS
Tel |55 (54) 3388 3232
Fax |55 (54) 3388 3200
alac@alac.com.br
www.alac.com.br

RELATÓRIO DE ENSAIO N° 2144/2016

CONTRATANTE: Universidade de Passo Fundo
ENDEREÇO: Rodovia BR-285, KM 292, S/N - São José - Passo Fundo/RS
DATA DA COLETA: 07/01/2016 - 10h e 00min
RESPONSÁVEL PELA COLETA: Coleta realizada pelo solicitante
PERÍODO DE REALIZAÇÃO DOS ENSAIOS: 12/01/2016 à 27/01/2016

DADOS DO PRODUTO

PRODUTO: Bebida Láctea Hidrolisada
QUANTIDADE DE AMOSTRA RECEBIDA: 235g
DATA DE FABRICAÇÃO: 06/01/2016
DATA DE VALIDADE: 06/02/2016
LOTE: 01

RESULTADOS

ENSAIOS FÍSICOS		
DESCRIÇÃO DO ENSAIO	RESULTADO	UNIDADE
Perfil de açúcares: glicose	5,3	g/100 g
Perfil de açúcares: frutose	2,3	g/100 g
Perfil de açúcares: sacarose	0,6	g/100 g
Perfil de açúcares: maltose	< 0,5 *	g/100 g
Perfil de açúcares: lactose	< 0,5 *	g/100 g
Perfil de açúcares: Galactose	-	g/100 g

MÉTODOS ENSAIOS FÍSICOS
Perfil de açúcares: glicose: Método interno - HPAE - PAD - Ensaio realizado em Laboratório do Grupo Eurofins
Perfil de açúcares: frutose: Método interno - HPAE - PAD - Ensaio realizado em Laboratório do Grupo Eurofins
Perfil de açúcares: sacarose: Método interno - HPAE - PAD - Ensaio realizado em Laboratório do Grupo Eurofins
Perfil de açúcares: maltose: Método interno - HPAE - PAD - Ensaio realizado em Laboratório do Grupo Eurofins
Perfil de açúcares: lactose: Método interno - HPAE - PAD - Ensaio realizado em Laboratório do Grupo Eurofins
Perfil de açúcares: Galactose: Método interno - HPAE - PAD - Ensaio realizado em Laboratório do Grupo Eurofins

Considerações Finais

*= Menor que o limite de quantificação.

Os resultados contidos neste documento têm significação restrita e se aplicam exclusivamente à amostra ensaiada. O relatório de ensaio só deverá ser reproduzido na íntegra, não deve ser parcialmente reproduzido sem a prévia autorização do Laboratório Alac.



Laboratório Alac Ltda.
Rua David Sartori, 601
Bairro Alfândega
CEP 95720 000 - Garibaldi - RS
Tel |55 (54) 3388 3232
Fax |55 (54) 3388 3200
alac@alac.com.br
www.alac.com.br

RELATÓRIO DE ENSAIO N° 2144/2016

Garibaldi, 27 de janeiro de 2016

Código de Assinatura Eletrônica: 5CF8E2ECB1AC33581559B193B7ECD913

Marina Salvadori Possebon
CREA-BA 050931774-0

Vide escopo no site www.alac.com.br



APÊNDICE C - Relatório de ensaios microbiológicos

FIESC SENAI RELATÓRIO DE ENSAIOS MICROBIOLÓGICOS SENAI - LANAL MICROBIOLOGIA

LABORATÓRIO DE ENSAIO CREDENCIADO PELO MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO - ESCOPO CONFORME PORTARIA Nº 141.
ACREDITADO PELA CGCRE DE ACORDO COM A ABNT NBR ISO/IEC 17025, SOB O NÚMERO CRL 314 - ESCOPO SITE INMETRO

RELATÓRIO Nº: 21209/15

Identificação da amostra: Formulação 1
Temperatura no recebimento: Resfriada
Data de fabricação: Não informada
Marca: Não informada
Responsável pela amostragem: Creciana Maria Endres
Data e hora da coleta: 10/12/2015 13:30

Data e hora de entrada: 10/12/2015 14:00
Data de Validade: Não informada
Lote: Não informado
Fabricante: Não informado

Solicitante: Creciana Maria Endres
Contato: Creciana Maria Endres
Endereço: Rua Don Carlos Sapoia Bandeira de Melo - Bairro: Presidente Médice - Cidade: Chapecó / SC
CEP: 89800-000 **CNPJ/CPF:** 070.947.389-35
Período de realização dos ensaios: 10/12/2015 à 14/12/2015 **IE:** Não informada

ENSAIOS MICROBIOLÓGICOS			
ENSAIO (CÓDIGO)	RESULTADO	UNIDADE	PADRÃO
M26 - Detecção de <i>Salmonella</i> spp	Ausência	em 25 g	-
OBSERVAÇÕES			
CONSIDERAÇÕES			

Metodologias Utilizadas:

M26: AOAC Official Method 2011.03 19th Edition, 2012, Chapter 16, p. 8-11, VIDAS, *Salmonella* (SLM) Easy *Salmonella* Method.

Chapecó, 17 de Dezembro de 2015

*O LANAL Microbiologia não é responsável pela coleta das amostras.

Os resultados contidos neste relatório referem-se somente à amostra analisada e só poderão ser reproduzidos total ou parcialmente com a prévia autorização por escrito do LANAL MB Chapecó.

Serviço Nacional de Aprendizagem Industrial - SENAI em Chapecó
 Rua Frei Bruno, 201E - Bairro Jardim América / CEP - 89.803 - 800 - Chapecó - SC
 FONE/FAX: (049) 3321 - 7304 - e-mail: lanal-mb@sc.senai.br

Página 1 de 1

Documento eletrônico assinado digitalmente.
 Validade jurídica assegurada conforme
 MP 2.200-2/2001, que instituiu a ICP-Brasil



Data: 17/12/2015 07:52:52
 CPF: 039.655.699-02
 Nome: ELIS REGINA FAVERO:03965569902

FIESC SENAI RELATÓRIO DE ENSAIOS MICROBIOLÓGICOS

SENAI - LANAL MICROBIOLOGIA

LABORATÓRIO DE ENSAIO CREDENCIADO PELO MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO - ESCOPO CONFORME PORTARIA N° 141.
ACREDITADO PELA CGCRE DE ACORDO COM A ABNT NBR ISO/IEC 17025, SOB O NÚMERO CRL 314 - ESCOPO SITE INMETRO

RELATÓRIO N°: 21210/15

Identificação da amostra: Formulação 2
Temperatura no recebimento: Resfriada
Data de fabricação: Não informada
Marca: Não informada
Responsável pela amostragem: Creciana Maria Endres
Data e hora da coleta: 10/12/2015 13:30
Data e hora de entrada: 10/12/2015 14:00
Data de Validade: Não informada
Lote: Não informado
Fabricante: Não informado

Solicitante: Creciana Maria Endres
Contato: Creciana Maria Endres
Endereço: Rua Don Carlos Sapoia Bandeira de Melo - Bairro: Presidente Médice - Cidade: Chapecó / SC
CEP: 89800-000 **CNPJ/CPF:** 070.947.389-35
Período de realização dos ensaios: 10/12/2015 à 14/12/2015 **IE:** Não informada

ENSAIOS MICROBIOLÓGICOS			
ENSAIO (CÓDIGO)	RESULTADO	UNIDADE	PADRÃO
M26 - Detecção de <i>Salmonella</i> spp	Ausência	em 25 g	-
OBSERVAÇÕES			
CONSIDERAÇÕES			

Metodologias Utilizadas:

M26: AOAC Official Method 2011.03 19th Edition, 2012 Chapter 16, p. 8-11. VIDAS, *Salmonella* (SLM) Easy *Salmonella* Method.

Chapecó, 17 de Dezembro de 2015

FPR LANAL 012 001 Rev. 06

O LANAL Microbiologia não é responsável pela coleta das amostras.

Os resultados contidos neste relatório referem-se somente à amostra analisada e só poderão ser reproduzidos total ou parcialmente com a prévia autorização por escrito do LANAL MB Chapecó.

Serviço Nacional de Aprendizagem Industrial - SENAI em Chapecó
 Rua Frei Bruno, 201E - Bairro Jardim América / CEP - 89.803 - 800 - Chapecó - SC
 FONE/FAX: (049) 3321 - 7304 - e-mail: lanal-mb@sc.senai.br

Página 1 de 1

Documento eletrônico assinado digitalmente.
 Validade jurídica assegurada conforme
 MP 2.200-2/2001, que instituiu a ICP-Brasil



Data: 17/12/2015 07:52:52
 CPF: 039.655.699-02
 Nome: ELIS REGINA FAVERO:03965569902

FIESC SENAI RELATÓRIO DE ENSAIOS MICROBIOLÓGICOS

SENAI - LANAL MICROBIOLOGIA

LABORATÓRIO DE ENSAIO CREDENCIADO PELO MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO - ESCOPO CONFORME PORTARIA Nº 141.
ACREDITADO PELA CGCRE DE ACORDO COM A ABNT NBR ISO/IEC 17025, SOB O NÚMERO CRL 314 - ESCOPO SITE INMETRO

RELATÓRIO Nº: 21211/15

Identificação da amostra: Formulação 3
Temperatura no recebimento: Resfriada
Data de fabricação: Não informada
Marca: Não informada
Responsável pela amostragem: Creciana Maria Endres
Data e hora da coleta: 10/12/2015 13:30
Data e hora de entrada: 10/12/2015 14:00
Data de Validade: Não informada
Lote: Não informado
Fabricante: Não informado

Solicitante: Creciana Maria Endres
Contato: Creciana Maria Endres
Endereço: Rua Don Carlos Sapoia Bandeira de Melo - Bairro: Presidente Médice - Cidade: Chapecó / SC
CEP: 89800-000 **CNPJ/CPF:** 070.947.389-35
Período de realização dos ensaios: 10/12/2015 à 14/12/2015 **IE:** Não informada

ENSAIOS MICROBIOLÓGICOS			
ENSAIO (CÓDIGO)	RESULTADO	UNIDADE	PADRÃO
M26 - Detecção de <i>Salmonella</i> spp	Ausência	em 25 g	-
OBSERVAÇÕES			
CONSIDERAÇÕES			

Metodologias Utilizadas:

M26: AOAC Official Method 2011.03 19th Edition, 2012, Chapter 16, p. 8-11. VIDAS, *Salmonella* (SLM) Easy *Salmonella* Method.

Chapecó, 17 de Dezembro de 2015

FPR LANAL 012 001 Rev. 05

*O LANAL Microbiologia não é responsável pela coleta das amostras.

Os resultados contidos neste relatório referem-se somente à amostra analisada e só poderão ser reproduzidos total ou parcialmente com a prévia autorização por escrito do LANAL MB Chapecó.

Serviço Nacional de Aprendizagem Industrial - SENAI em Chapecó
 Rua Frei Bruno, 201E - Bairro Jardim América / CEP - 89.803 - 800 - Chapecó - SC
 FONE/FAX: (049) 3321 - 7304 - e-mail: lanal-mb@sc.senai.br

Página 1 de 1

Documento eletrônico assinado digitalmente.
 Validade jurídica assegurada conforme
 MP 2.200-2/2001, que instituiu a ICP-Brasil



Data: 17/12/2015 07:52:52
 CPF: 039.655.699-02
 Nome: ELIS REGINA FAVERO:03965569902

FIESC SENAI RELATÓRIO DE ENSAIOS MICROBIOLÓGICOS

SENAI - LANAL MICROBIOLOGIA

LABORATÓRIO DE ENSAIO CREDENCIADO PELO MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO - ESCOPO CONFORME PORTARIA N° 141.
ACREDITADO PELA CGCRE DE ACORDO COM A ABNT NBR ISO/IEC 17025, SOB O NÚMERO CRL 314 - ESCOPO SITE INMETRO

RELATÓRIO N°: 21212/15

Identificação da amostra: Xarope
Temperatura no recebimento: Resfriada
Data de fabricação: Não informada
Marca: Não informada
Responsável pela amostragem: Creciana Maria Endres
Data e hora da coleta: 10/12/2015 13:30
Data e hora de entrada: 10/12/2015 14:00
Data de Validade: Não informada
Lote: Não informado
Fabricante: Não informado

Solicitante: Creciana Maria Endres
Contato: Creciana Maria Endres
Endereço: Rua Don Carlos Sapoia Bandeira de Melo - Bairro: Presidente Médice - Cidade: Chapecó / SC
CEP: 89800-000 **CNPJ/CPF:** 070.947.389-35
Período de realização dos ensaios: 10/12/2015 à 14/12/2015 **IE:** Não informada

ENSAIOS MICROBIOLÓGICOS			
ENSAIO (CÓDIGO)	RESULTADO	UNIDADE	PADRÃO
M26 - Detecção de <i>Salmonella</i> spp	Ausência	em 25 g	-
OBSERVAÇÕES			
CONSIDERAÇÕES			

Metodologias Utilizadas:

M26: AOAC Official Method 2011.03 19th Edition, 2012. Chapter 16, p. 8-11. VIDAS, *Salmonella* (SLM) Easy *Salmonella* Method.

Chapecó, 17 de Dezembro de 2015

*O LANAL Microbiologia não é responsável pela coleta das amostras.

Os resultados contidos neste relatório referem-se somente à amostra analisada e só poderão ser reproduzidos total ou parcialmente com a prévia autorização por escrito do LANAL MB Chapecó.

Serviço Nacional de Aprendizagem Industrial - SENAI em Chapecó
 Rua Frei Bruno, 201E - Bairro Jardim América / CEP - 89.803 - 800 - Chapecó - SC
 FONE/FAX: (049) 3321 - 7304 - e-mail: lanal-mb@sc.senai.br

Página 1 de 1

Documento eletrônico assinado digitalmente.
 Validade jurídica assegurada conforme
 MP 2.200-2/2001, que instituiu a ICP-Brasil



Data: 17/12/2015 07:52:52
 CPF: 039.655.699-02
 Nome: ELIS REGINA FAVERO:03965569902

APÊNDICE D - Tabelas Nutricionais

INFORMAÇÃO NUTRICIONAL					
Porção 200g					
Formulação Padrão			Formulação 20		
		* % VD			* % VD
Valor Energético	130,28 kcal = 547,176kJ	6	Valor Energético	130,28 kcal = 547,176kJ	6
Carboidratos	28,14g	9	Carboidratos	26,30g	8
Proteínas	4,12g	5	Proteínas	4,28g	5
Gorduras Totais	3,40g	6	Gorduras Totais	3,60g	6
Gorduras Saturadas	0 g	0	Gorduras Saturadas	0 g	0
Gordura Trans	0 g	0	Gordura Trans	0 g	0
Fibra Alimentar	0 g	0	Fibra Alimentar	0 g	0
Sódio (mg)	76 mg	3	Sódio (mg)	124 mg	5
Formulação 40			Formulação 80		
		* % VD			* % VD
Valor Energético	130,28 kcal = 547,176kJ	6	Valor Energético	130,28 kcal = 547,176kJ	6
Carboidratos	25,60g	8	Carboidratos	21,02g	7
Proteínas	4,28g	6	Proteínas	4,34g	6
Gorduras Totais	3,20g	6	Gorduras Totais	3,20g	6
Gorduras Saturadas	0 g	0	Gorduras Saturadas	0 g	0
Gordura Trans	0 g	0	Gordura Trans	0 g	0
Fibra Alimentar	0 g	0	Fibra Alimentar	0 g	0
Sódio (mg)	192 mg	8	Sódio (mg)	212 mg	9

ANEXO A - Termo de Consentimento Livre - TCLE



TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)

UNIVERSIDADE DE PASSO FUNDO

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

ADIÇÃO DE SORO DO LEITE COM BAIXO TEOR DE LACTOSE NA FORMULAÇÃO DE NOVOS ALIMENTOS

Você está sendo convidado (a) a participar da pesquisa sobre “Adição de soro do leite com baixo teor de lactose na formulação de novos alimentos”, de responsabilidade das pesquisadoras **Vera Maria Rodrigues e Creciana Maria Endres**.

Esta pesquisa tem como justificativa substituir a sacarose da bebida láctea pelo xarope de glicose e galactose, produto com destacadas características sensoriais. O objetivo desta pesquisa é aplicar o xarope de glicose e galactose com destacadas propriedades nutricionais na formulação da bebida láctea.

Este projeto será desenvolvido nas dependências da Universidade de Passo Fundo, RS. A sua participação na pesquisa terá a duração aproximada de 15 minutos e você deverá avaliar as características sensoriais da bebida láctea, quanto à aceitabilidade e a sua intenção de compra do produto. Ao participar da pesquisa, você terá benefícios como avaliar e conhecer a bebida láctea com adição do xarope de glicose e galactose para substituição da sacarose, além de contribuir para a formação da mestranda Creciana Maria Endres.

Você terá a garantia de receber esclarecimentos sobre o tipo de alimento que estará avaliando bem como as características gerais da composição deste alimento, sua composição nutricional, seus efeitos sobre o organismo e toda e qualquer dúvida relacionada à pesquisa e, poderá, ainda, ter acesso aos seus dados em qualquer etapa do estudo deste produto. Sua participação nessa pesquisa não é obrigatória, e, portanto, tem caráter voluntário. Caso os participantes da pesquisa apresentarem evidências de qualquer tipo de desconforto e danos psicológicos, o pesquisador se comprometerá em solicitar auxílio e/ou encaminhá-los para outros profissionais, assim como fica assegurada a liberdade para se retirar a qualquer momento da pesquisa, sem qualquer prejuízo.

Os dados relacionados à sua identificação não serão divulgados em momento algum quer seja no projeto e demais documentos que envolva a publicação desta pesquisa. Os resultados da pesquisa serão divulgados em artigos científicos, mas você terá a garantia do sigilo de sua identidade. Caso você tenha dúvidas sobre o comportamento dos pesquisadores ou sobre as mudanças ocorridas na pesquisa que não constam no TCLE, e caso se considera prejudicado (a) na sua dignidade e autonomia, você pode entrar

em contato com os pesquisadores pelos telefones: (49)99947845, com o curso de pós graduação de Ciência e Tecnologia de Alimentos, ou também pode consultar o Comitê de Ética em Pesquisa da UPF, pelo telefone (54) 3316-8157, no horário das 08h às 12h e das 13h30min às 17h30min, de segunda a sexta-feira. Dessa forma, se você concorda em participar da pesquisa como consta nas explicações e orientações acima, coloque se nome no local indicado abaixo.

Desde já, agradecemos a sua colaboração e solicitamos a sua assinatura de autorização neste termo, que será também assinado pelo pesquisador responsável em duas vias, sendo que uma ficará com você e outra com as pesquisadoras.

Passo Fundo, ____ de ____ de ____.

Nome do (a) participante: _____

Assinatura: _____

Nome do (a) pesquisador (a): _____

Assinatura: _____

Nome do (a) pesquisador (a): _____

Assinatura: _____

ANEXO B - Parecer de Aprovação do Comitê de Ética

UNIVERSIDADE DE PASSO
FUNDO/ PRÓ-REITORIA DE
PESQUISA E PÓS-



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Adição de soro do leite com baixo teor de lactose na formulação de novos alimentos

Pesquisador: Crecliana Maria Endres

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 50021815.1.0000.5342

Instituição Proponente: Universidade de Passo Fundo/Vice-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.318.137

Apresentação do Projeto:

A indústria de laticínios encontra-se em constante crescimento no Brasil e dentre seus produtos, destaca-se o queijo como um produto de elevado consumo. Com a produção do queijo, também ocorre a produção do soro de leite, um dos principais subprodutos dos laticínios, pois para cada kg de queijo produzido gera-se cerca de nove kg de soro. A lactose, presente no soro, apresenta dois problemas: apresenta baixo poder edulcorante e não deve ser consumida por pessoas que apresentam intolerância a este componente. Mas o processo de hidrólise enzimática, ou quebra em moléculas menores, como a glicose e galactose, fornece açúcares com maior poder adoçante que a lactose e que tornam possível a ingestão do soro por pessoas que tem intolerância a lactose.

Objetivo da Pesquisa:

Aplicar o xarope de glicose e galactose com destacadas propriedades nutricionais na formulação da bebida láctea.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Aos participantes é assegurado o recebimento de esclarecimento sobre as características da composição do alimento, seus efeitos sobre o organismo e toda e qualquer dúvida relacionada à pesquisa. Caso os participantes da pesquisa apresentem evidências de qualquer tipo de desconforto e danos psicológicos, o pesquisador se comprometerá em solicitar auxílio e/ou

Endereço: BR 285- Km 292 Campus I - Centro Administrativo
Bairro: Divisão de Pesquisa / São José **CEP:** 99.052-900
UF: RS **Município:** PASSO FUNDO
Telefone: (54)3316-8157 **E-mail:** cep@upf.br

UNIVERSIDADE DE PASSO
FUNDO/ PRÓ-REITORIA DE
PESQUISA E PÓS-



Continuação do Parecer: 1.318.137

encaminhá-los para outros profissionais, assim como fica assegurada a liberdade para se retirar a qualquer momento da pesquisa, sem qualquer prejuízo.

Os benefícios estão relacionados à contribuição na produção de mais conhecimento sobre o tema.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Trata-se de um estudo envolvendo o desenvolvimento de produto alimentício, utilizando insumos tradicionais da indústria de alimentos. Será elaborada uma bebida láctea com diferentes quantidades de glicose e galactose, sendo realizada uma análise sensorial após a elaboração do produto, nas dependências da UPF. Serão utilizados 100 julgadores não treinados e maiores de 18 anos para avaliar as amostras quanto à aceitabilidade e intenção de compra, utilizando escala hedônica.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Os direitos fundamentais dos participantes foram garantidos no projeto e no TCLE. O protocolo foi instruído e apresentado de maneira completa e adequada. Os compromissos do pesquisador e das instituições envolvidas estavam presentes. O projeto foi considerado em seus aspectos científicos, metodológicos e éticos.

Recomendações:

Sugere-se a devolução dos dados da pesquisa aos sujeitos.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Diante do exposto, este Comitê, de acordo com as atribuições definidas na Resolução nº 446/2012 do Conselho Nacional de Saúde, manifesta-se pela aprovação do projeto de pesquisa na forma como foi proposto.

Considerações Finais a critério do CEP:

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_606680.pdf	09/11/2015 11:17:35		Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Analise_sensorial.pdf	09/11/2015 11:17:06	Creciana Maria Endres	Aceito
Folha de Rosto	folha_De_Rosto.pdf	09/11/2015 11:16:22	Creciana Maria Endres	Aceito
TCLE / Termos de	TCLE.pdf	09/11/2015	Creciana Maria	Aceito

Endereço: BR 285- Km 292 Campus I - Centro Administrativo

Bairro: Divisão de Pesquisa / São José **CEP:** 99.052-900

UF: RS **Município:** PASSO FUNDO

Telefone: (54)3316-8157

E-mail: cep@upf.br

UNIVERSIDADE DE PASSO
FUNDO/ PRÓ-REITORIA DE
PESQUISA E PÓS-



Continuação do Parecer: 1.318.137

Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.pdf	11:10:42	Endres	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Universidade.pdf	09/10/2015 17:25:12	Creciana Maria Endres	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Pesquisa_iniciada.pdf	09/10/2015 17:22:44	Creciana Maria Endres	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_detalhado.pdf	09/10/2015 17:19:17	Creciana Maria Endres	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

PASSO FUNDO, 11 de Novembro de 2015

Assinado por:
Nadir Antonio Pichler
(Coordenador)

Endereço: BR 285- Km 292 Campus I - Centro Administrativo
Bairro: Divisão de Pesquisa / São José **CEP:** 99.052-900
UF: RS **Município:** PASSO FUNDO
Telefone: (54)3316-8157 **E-mail:** cep@upf.br

ANEXO C - Ficha de Análise para o Teste de Aceitabilidade do produto

Universidade de Passo Fundo
Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos

Título da pesquisa: Bebida láctea fermentada com adição de xarope de lactose

Pesquisador responsável: Creciana Maria Endres

Telefone para contato: (049) 9994-7845

ANÁLISE SENSORIAL – “Bebida láctea fermentada com adição de xarope de lactose”

Provedor:

Idade:

Data:

Você está recebendo uma amostra de Bebida Láctea fermentada.

1) Prove a mesma e dê uma nota para cada atributo, conforme a escala abaixo:

Nota	9	8	7	6	5	4	3	2	1
Significado	Gostei muitíssimo	Gostei muito	Gostei moderadamente	Gostei ligeiramente	Nem gostei / nem desgostei	Desgostei ligeiramente	Desgostei moderadamente	Desgostei muito	Desgostei muitíssimo

Amostra	Cor	Odor	Sabor	Textura	Avaliação global
278					

2) Você compraria esse produto? Responda atribuindo uma nota conforme a escala abaixo:

Nota	5	4	3	2	1
Significado	Certamente compraria	Possivelmente compraria	Talvez compraria	Possivelmente não compraria	Certamente não compraria

Amostra	Intenção de compra
278	

Observações:

ANEXO D - Ficha para a Diferença do Controle

Universidade de Passo Fundo
Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos

Título da pesquisa: Bebida láctea fermentada com adição de xarope de lactose

Pesquisador responsável: Creciana Maria Endres

Telefone para contato: (049) 9994-7845

ANÁLISE SENSORIAL – “Bebida láctea fermentada com adição de xarope de lactose”

Provador:

Idade:

Data:

Você está recebendo uma amostra controle (C) e quatro amostras codificadas de Bebida Láctea fermentada. Por favor, prove a amostra controle e em seguida prove cada uma das amostras codificadas e avalie, utilizando a escala abaixo, o quanto cada amostra difere, em termos globais, da amostra padrão.

	Amostras
1= Nenhuma Diferença	278 _____
2= Ligeira Diferença	156 _____
3= Moderada Diferença	574 _____
4= Muita Diferença	379 _____
5= Extrema Diferença	

Observações:
