

UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA
FACULDADE DE FARMÁCIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E
TECNOLOGIA DO LEITE E DERIVADOS

Jansen Kelis Ferreira Torres

**CARACTERIZAÇÃO E SECAGEM EM *SPRAY DRYER* DE
LEITE EM PÓ INTEGRAL COM LACTOSE HIDROLISADA**

JUIZ DE FORA

2016

Jansen Kelis Ferreira Torres

**CARACTERIZAÇÃO E SECAGEM EM *SPRAY DRYER* DE
LEITE EM PÓ INTEGRAL COM LACTOSE HIDROLISADA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia do Leite e Derivados da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Juiz de Fora/MG como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Ciência e Tecnologia do Leite e Derivados.

Orientadora: Profa. Dra. Renata Golin Bueno Costa.

Co-orientador: Dr. Ítalo Tuler Perrone

JUIZ DE FORA

2016

CARACTERIZAÇÃO E SECAGEM EM *SPRAY DRYER* DE LEITE EM PÓ INTEGRAL COM LACTOSE HIDROLISADA

Jansen Kelis Ferreira Torres

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia do Leite e Derivados da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Juiz de Fora/MG como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Ciência e Tecnologia do Leite e Derivados, aprovada pela seguinte Banca Examinadora:

Dr. Rodrigo Stephani

Universidade Federal de Viçosa/MG

Prof. Dr. Luiz Carlos Gonçalves Costa Júnior

Pesquisadora na Empresa de Pesquisa Agropecuária/MG

Instituto de Laticínios Cândido Tostes, Juiz de Fora/MG

Orientadora: Profa. Dra. Renata Golin Bueno Costa

Pesquisadora na Empresa de Pesquisa Agropecuária/MG

Instituto de Laticínios Cândido Tostes, Juiz de Fora/MG

Aprovada em: 25 de agosto de 2016.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus toda honra e toda glória, por colocar as oportunidades em meu caminho e me dar capacidade para transpor as dificuldades.

Aos meus queridos pais, Carlos Alberto Teixeira Torres e Olinda Ferreira Torres, pelos ensinamentos, pelo amor incondicional, pelo suporte e paciência em todos os momentos da minha vida.

A minha linda e doce esposa, Glaucy, pelo amor, paciência e cumplicidade. Meu porto seguro.

A Maria Fernanda e Alice, minhas filhas amadas, pela ternura e amor sem limites. Minha motivação e inspiração para lutar e não desistir.

As minhas queridas irmãs, pelo apoio e suporte tão terno.

A Professora Dra. Renata Golin Bueno Costa, pela paciência e apoio.

Ao amigo e Professor Dr. Ítalo Tuler Perrone, pela amizade sincera, por acreditar em mim, pela importante disponibilidade na colaboração deste estudo, pelos ensinamentos e atenção.

Ao Dr. Pierre Schuck pela inspiração das ideias e pelo conhecimento compartilhado.

Ao amigo e Professor Dr. Rodrigo Stephani, pela amizade incondicional, por tantas ideias e por tanto suporte. Jamais vou me esquecer.

A Professora Regina Celia Mancini e ao Instituto de Laticínios Cândido Tostes – EPAMIG, por acreditar em mim sempre abrindo portas.

Ao Professor Luiz Fernando Cappa de Oliveira também por ter dado apoio incondicional junto ao Departamento de Química da UFJF.

Ao Professor Dr. Antônio Fernandes de Carvalho por abrir as portas da Plataforma Inovaleite do Departamento de Tecnologia de Alimentos da UFV/MG para execução de parte do trabalho, bem como toda confiança depositada. Serei eternamente grato.

Ao Dr. Guilherme Tavares, Dra. Mariana Ramos Almeida, Carlos Eduardo Rocha de Almeida pela valiosa contribuição dada na fase final deste trabalho.

A Tatiana Lopes Fialho pela sua generosidade única e dedicação neste projeto.

À UFJF, a UFV e a DSM pelo apoio na pesquisa.

RESUMO

A indústria de alimentos tem como desafio e oportunidade desenvolver novos produtos com reduzido ou baixo teor de lactose, a fim de atender uma crescente população de portadores de má digestão da lactose. O leite em pó enfrenta grande desafio tecnológico devido ao fato da secagem dos produtos com lactose hidrolisada ser extremamente desafiadora por apresentar maior número de moléculas (glicose e galactose) no estado amorfo tornando o produto altamente higroscópico, influenciando na produtividade, no entupimento das câmaras e na conservação dos pós. O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito de diferentes níveis de hidrólise enzimática da lactose, 0%, 25%, 50%, 75% e >99%, na produção e estocagem de leite em pó integral utilizando como ferramentas de caracterização dos produtos fabricados em planta piloto, análise de composição, microscopia eletrônica de varredura (MEV), análise de tamanho do diâmetro hidrodinâmico das partículas por difração laser (LS) após reidratação em água, além da espectroscopia Raman dos pós em ambiente com 75,5% de umidade relativa do ar, visando monitorar a transição vítrea da lactose residual. Foi possível verificar influência direta do aumento da hidrólise nos valores de umidade dos pós obtidos, assim como o impacto na aderência dos mesmos na câmara de secagem, devido à aglomeração primária das partículas caracterizada pela MEV. As análises de LS demonstraram também o efeito do aumento da hidrólise na diminuição da população das partículas entre 40 e 500 μm , que denota forte influência na capacidade de reidratação dos produtos. Com o uso da espectroscopia Raman foi possível caracterizar o estado físico dos carboidratos nas partículas dos pós, utilizando a análise de componentes principais para a região espectral de 1200 a 400 cm^{-1} , a qual identificou que os produtos com 25%, 50%, 75% e > 99% de hidrólise não apresentaram efeito de cristalização no ambiente com umidade controlada por 6 semanas. A hidrólise da lactose em glicose e galactose impacta a secagem de produtos lácteos por promover maior adesão nos equipamentos, maior tendência ao escurecimento, diminuição da solubilidade e modificação da microestrutura dos pós. Em produtos lácteos contendo lactose observa-se a formação de cristais de lactose quando estes são submetidos a condições favoráveis a transição vítrea. A técnica de espectroscopia Raman combinada com quimiometria possibilita afirmar que produtos lácteos hidrolisados quando submetidos a condições favoráveis a transição vítrea não apresentam a formação de cristais de açúcares.

Palavras-chave: *Spray Dryer*; Microestrutura; Transição vítrea.

ABSTRACT

The food industry has the challenge and the opportunity to develop new products with reduced or low lactose content in order to meet the needs of a growing mass of people with lactose maldigestion. Milk powder is also inserted into these new trend but this product still faces major technological challenge due to the fact that drying of products with hydrolyzed lactose is extremely challenging mostly because of a higher number of molecules (glucose and galactose) in the amorphous state which makes it quite a highly hygroscopic product thus influencing productivity, post-conservation not to mention the undesirable and also inevitable technological problem of the constant clogging of drying chambers. The aim of this study was to evaluate the effect of different levels of enzymatic hydrolysis of lactose, 0%, 25%, 50%, 75% and > 99% in production and storage of whole milk powder using as analytical parameters in the pilot plant the following: composition analysis, scanning electron microscopy (SEM), analysis of hydrodynamic diameter of particles by laser diffraction (LS) after rehydration in water plus Raman spectroscopy of powders in 75.5% air moisture environment seeking to monitor the glass transition of the residual lactose. It was possible to verify direct influence of increased hydrolysis to moisture values of the powders as well as the impact on the adhesion thereof into the drying chamber due to primary agglomeration of particles characterized by SEM. LS analysis also has shown the effect of increasing hydrolysis in the reduction of the population of particles between 40 and 500 nanometers demonstrating a strong influence on the rehydration capacity of the products. By means of Raman spectroscopy it has been possible to characterize the physical state of the carbohydrates in the powder particles, using principal component analysis for the 1200-400 cm^{-1} spectral range, which identified that products with 25%, 50%, 75% and > 99% hydrolysis have shown no crystallization effect in the controlled humidity environment for 6 weeks. The hydrolysis of lactose into glucose and galactose impacts drying milk products to promote greater adhesion to equipment more prone to darkening, decreased solubility of the microstructure after modification. In dairy products containing lactose can observe the formation of lactose crystals when they are subjected to favorable glass transition. The Raman spectroscopy technique combined with chemometrics enables us to state that hydrolyzed milk products when subjected to favorable conditions the glass transition do not have the formation of sugar crystals.

Keywords: Spray Dryer; Microstructure; Glass transition.

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

ANOVA	Análise de Variância
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
a_w	Atividades de água
g	grama
H	Hidrólise
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IDF	Federação Internacional de Laticínios
kJ	Quilo Joule
L/h	Litro por hora
L/min	Litro por minuto
LPD	Leite em pó deslactosado
LS	Difração laser
m^3/min	Metro cúbico por minuto
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
Mpixel	Mega pixel
°C	Grau Celsius (unidade de temperatura)
PCA	Análise de compontes principais (<i>Principal Component Analysis</i>)
PCs	Componentes principais
pH	Potencial hidrogeniônico
RLL	Leites em pó reduzidos ou baixa lactose
SAS	<i>Statistical Analysis System</i>
ST	Sólidos totais
Tg	Transição vítrea
TTg	Temperatura de transição vítrea
UFV	Universidade Federal de Viçosa/MG
UHT	Ultra alta temperatura (<i>Ultra High Temperature</i>)
μm	Micrômetro

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Estrutura química da α e β -lactose	12
Figura 2: Adaptação do esquema do princípio de secagem de único estágio.....	19
Figura 3: Princípio de secagem por atomização	20
Figura 4: Cinética de secagem	21
Figura 5: Comparação por imagens da influência do nível de hidrólise da lactose na secagem do leite em pó integral em <i>spray-dryer</i>	33
Figura 6: Distribuição do tamanho das partículas dos leites em pó hidrolisados lactose hidrolisada após hidratação em água: 0 % (\square), 25 % (\circ), 50 % (Δ), 75 % (\diamond) e 100 % (\bullet)	35
Figura 7: Espectros Raman das estruturas cristalinas: galactose, glicose e lactose.....	37
Figura 8: Espectros Raman das amostras de leites em pó hidrolisados imediatamente após a produção	38
Figura 9: Espectros Raman das amostras de leites em pó hidrolisados após 6 semanas de estocagem à 75,5% de umidade relativa do ar	39
Figura 10: (a) Gráfico de escores PC1 <i>versus</i> PC2 da região espectral 1200-400 cm^{-1} das amostras RLL durante a estocagem de 6 semanas em 75,5% de umidade relativa do ar: 0% (\blacksquare), 25% ($+$), 50% (\blacktriangle), 75% ($*$) e > 99% de hidrólise da lactose (\blacktriangledown); (b) gráfico dos pesos da PC1 <i>versus</i> PC2 da região espectral 1200-400 cm^{-1} para o modelo da PCA	40

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Composição média de alguns lácteos desidratados	18
Tabela 2: Temperatura de transição vítrea dos componentes do leite em pó	23
Tabela 3: Análises físico-químicas dos leites em pó hidrolisados (n=4)	30
Tabela 4: Dados estatísticos das análises de tamanho das partículas dos leites em pó hidrolisados após hidratação em água	35

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	10
2 REVISÃO DA LITERATURA	12
2.1 Lactose	12
2.2 Intolerância à Lactose	13
2.3 Produtos lácteos com baixo teor de lactose	15
2.3.1 <i>Mercado</i>	16
2.4 Leite em pó	17
2.4.1 <i>Secagem por atomização</i>	18
2.4.2 <i>Transição Vítreá</i>	22
2.4.3 <i>Leite em pó deslactosado</i>	23
3 OBJETIVOS	25
3.1 <i>Objetivo Geral</i>	25
3.2 <i>Objetivos Específicos</i>	25
4 MATERIAIS E MÉTODOS	26
4.1 <i>Hidrólise enzimática da lactose no leite concentrado</i>	26
4.2 <i>Análises físico-químicas</i>	27
4.3 <i>Tamanho de partículas durante a reidratação dos pós por difração a laser</i>	27
4.4 <i>Microscopia Eletrônica de Varredura</i>	28
4.5 <i>Obtenção dos espectros Raman</i>	28
4.6 <i>Análises Quimiométricas</i>	29
4.7 <i>Análise estatística</i>	29
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	30
5.1 <i>Análises físico-químicas</i>	30
5.2 <i>Características de secagem</i>	31
5.3 <i>Reidratação dos pós</i>	34
5.4 <i>Espectros Raman e análise das componentes principais dos pós</i>	36
6 CONCLUSÃO	42
REFERÊNCIAS	43

1 INTRODUÇÃO

As indústrias de alimentos vêm cada vez mais diversificando seu portfólio de produtos ao longo dos últimos anos. Essa diversificação se deve em parte as novas tecnologias existentes (fracionamento por membranas, por exemplo) e em parte as exigências do mercado. Neste contexto, os produtos lácteos com o apelo “reduzido ou baixa concentração de lactose” têm como objetivo aumentar a gama de produtos disponíveis no mercado para atender as necessidades dos consumidores que apresentam intolerância a lactose.

Parte da população mundial adulta apresenta intolerância a lactose, sendo esta caracterizada pela ausência ou baixa produção da enzima β -galactosidase (lactase) pelo organismo humano. Esta enzima tem por função hidrolisar a lactose em dois monossacarídeos, glicose e galactose, os quais são passíveis de serem absorvidos pelo intestino delgado. Caso a lactose não seja hidrolisada, esta passará intacta para o cólon onde será fermentada, resultando na produção de gases os quais são os responsáveis por flatulências, distensão, dores abdominais e produção de ácidos que, juntamente com o aumento da pressão osmótica, promovem diarreia.

De acordo com o levantamento de dados realizado pela Federação Internacional de Laticínios (IDF), o consumo de leite deslactosado na Itália apresentou um crescimento de 7,6%, em 2014 (IDF, 2015). No Brasil estudos apontam que 5,9% dos lançamentos de comida e bebida trouxeram informações na embalagem indicando quantidade reduzida ou ausência de lactose, em 2015 (MINTEL, 2016).

Apesar do crescimento, este mercado apresenta alguns desafios a serem superados, tais como a produção e comercialização de leites em pó reduzidos ou baixa lactose (RLL). Durante a produção e a estocagem dos RLL alguns problemas tecnológicos como: aglomeração indesejada de partículas, adesão aos equipamentos, empedramento e formação de coloração escura durante o processamento, armazenamento e estocagem, podem ocorrer. Estes problemas ocasionam um baixo rendimento de produção, problemas operacionais e dificuldade na manipulação do pó.

A secagem por atomização se caracteriza por um processo rápido. O leite concentrado é pulverizado em pequenas gotículas no *spray dryer* que, em contato com o ar quente, obtém-se o pó. Como o tempo de secagem não é suficiente para as moléculas se estabilizarem, ocorre a formação de estruturas vítreas.

Os problemas tecnológicos dos produtos desidratados estão associados, na maioria dos casos, à transição vítrea (Tg). Este fenômeno é caracterizado por uma mudança do estado vítreo (líquido de alta viscosidade) para o estado gomoso (líquido de baixa viscosidade). Durante a produção dos RLL, a hidrólise da lactose promove a liberação de glicose e galactose no leite. Esses monossacarídeos apresentam uma Tg inferior a da lactose, resultando em um pó com menor Tg quando comparado a Tg do leite em pó tradicional (presença de lactose). O leite hidrolisado apresenta maior número de moléculas (glicose e galactose) no estado amorfo e durante a secagem o produto torna-se altamente higroscópico, fazendo com que a produção seja desafiadora para a indústria no tocante a produtividade, ao entupimento das câmaras e a conservação dos pós.

Devido ao fato de ser iminente o avanço na implantação da tecnologia de produção do leite em pó reduzido e baixa lactose no Brasil e à pouca disponibilidade de literatura que descreve o efeito da hidrólise da lactose nas características de secagem e propriedades do leite em pó integral, o objetivo deste trabalho foi produzir e caracterizar diferentes RLL em *spray dryer* a partir da hidrólise enzimática da lactose de leite concentrado, a fim de elucidar as características tecnológicas durante a produção e durante a estocagem dos produtos e contribuindo para o desenvolvimento da tecnologia de fabricação de leite em pó hidrolisado.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Lactose

O leite é uma secreção das glândulas mamárias de fêmeas adultas de mamíferos com a função única e exclusiva de nutrir a prole. Constituído por uma emulsão de gordura em água, uma dispersão coloidal de proteínas em uma solução de sais, vitaminas, peptídeos, lactose e oligossacarídeos. O leite constitui-se, basicamente de 87% de água, 4,5% de carboidratos (principalmente lactose), 3,9% de gordura, 3,3% de proteína e 0,7% de vitaminas e sais minerais (WALSTRA; WOUSTERS; GEURTS, 2006).

A lactose, carboidrato predominante no leite, é um dissacarídeo composto pelos monossacarídeos glicose e galactose, unida por uma ligação glicosídica $\beta(1-4)$. A lactose é encontrada no leite em duas formas isoméricas (alfa e beta) as quais diferem em suas propriedades físicas (rotação específica, ponto de fusão, higroscopicidade e poder edulcorante) (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010). Estes isômeros são representados na Figura 1.

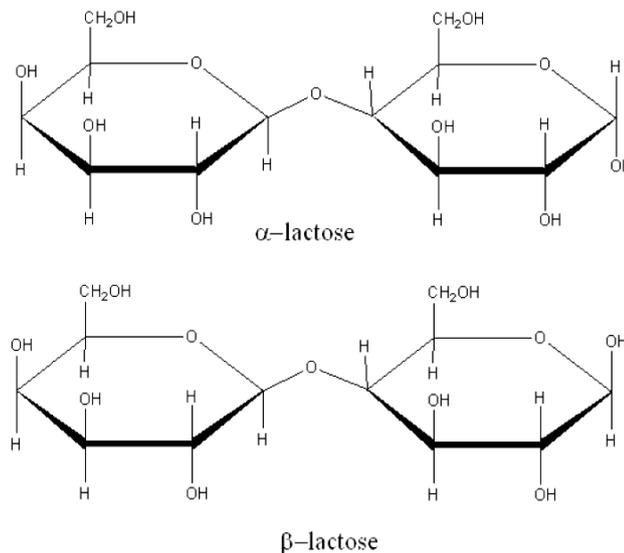


Figura 1: Estrutura química da α e β -lactose
Fonte: Perrone *et al.* (2011)

A concentração de lactose presente no leite varia de acordo com a espécie do mamífero: 4,5% (m/m) no leite de vaca e 6,8% (m/m) no leite humano, por exemplo.

Do ponto de vista físico-químico, a lactose encontra-se em solução verdadeira, com partículas de diâmetros inferiores a 1nm (WALSTRA et al., 2001).

A solubilidade média da lactose a 20 °C é de 20g·100g⁻¹ de água, sendo baixa, quando comparado a outros açúcares. A glicose apresenta solubilidade média de 234g·100g⁻¹ de água e a galactose de 50g·100g⁻¹ de água. A baixa solubilidade da lactose pode ocasionar algumas alterações durante o processamento de produtos lácteos, por exemplo, a cristalização da lactose durante a estocagem de leite em pó, ocasionando o empedramento (*caking*) (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010).

Apesar de ser um açúcar, a lactose apresenta um baixo poder edulcorante quando comparado a frutose, sacarose, glicose e galactose. Devido a esta característica, a hidrólise da lactose torna-se atrativa quando se deseja um xarope de maior doçura contendo glicose e galactose. Por outro lado, por apresentar um poder edulcorante inferior ao da sacarose, a lactose pode ser utilizada na formulação de alimentos sem ofuscar o sabor natural de outros componentes (RODRIGUES JÚNIOR et al., 2016).

A lactose é considerada um açúcar redutor, assim como a glicose e a galactose, por possuírem um grupo aldeído ou cetona livre nas suas estruturas. Como todo açúcar redutor, a lactose participa da reação de escurecimento não enzimático, ou reação de Maillard. Os produtos dessa reação são compostos de coloração amarronzada (melanoidinas), ocasionando sabores e odores atípicos. Durante a reação de Maillard, a lactose podem reagir com aminoácidos essenciais, como a lisina e o triptofano, reduzindo, portanto o valor nutritivo dos produtos lácteos. Fatores como temperatura, pH, tempo, concentração de aldeídos livres e aminas afetam a velocidade e a intensidade da reação (FOX; McSWEENEY, 1998).

2.2 Intolerância à Lactose

A lactose é uma importante fonte de energia para o organismo proporcionando cerca de 16,8 kJ·g⁻¹ (FOX; McSWEENEY, 1998). Durante a digestão, este açúcar não é absorvido diretamente pelo organismo, sendo necessária a sua hidrólise em dois monossacarídeos, glicose e galactose, mais facilmente digeríveis e solúveis. Esta hidrólise ocorre por meio da ação da β -galactosidase, comumente conhecida como lactase, produzida pelas células da mucosa do intestino e localizada nas

microvilosidades do intestino delgado (GERBAULT et al., 2011; LADERO; SANTOS; GARCIA-OCHOA, 2000).

A intolerância à lactose é o termo comumente usado para descrever sintomas relatados por pessoas que apresentam má digestão da lactose após ingerirem leite e seus derivados. A má digestão proporciona a presença de lactose no cólon onde será fonte de energia para a microbiota local. A lactose no cólon será fermentada em ácido láctico, resultando na produção de gases como metano, dióxido de carbono e hidrogênio, e ácidos graxos de cadeia curta como acético, butírico e propiônico, responsáveis pela redução do pH do meio. Estes compostos são responsáveis pelas flatulências, distensão e dores abdominais. A acidificação do meio, juntamente com o aumento da pressão osmótica, promove a diarreia, com eliminação de eletrólitos e fluídos (GERBAULT et al., 2011; RONG et al., 2011).

Existem três tipos de intolerância a lactose: congênita, primária e secundária. A deficiência congênita se dá pela ausência ou baixa produção da lactase, sendo herdada e extremamente rara. A deficiência primária é a mais frequentemente observada devido ao declínio da atividade enzimática na idade adulta. Em geral, esta queda na produção da lactase varia de acordo com alguns fatores como: quantidade de lactose consumida, idade do indivíduo, genética e taxa de digestão, etc. Somado a estes, existem fatores biológicos, psicológicos e culturais que também podem influenciar no nível de intolerância a alimentos contendo lactose. Já a deficiência secundária, ou deficiência adquirida, é resultante de lesões causadas na mucosa do intestino como, por exemplo, o uso de radiação e de medicação em tratamento de câncer, doenças como gastroenterites, doença de Crohn, colite ulcerativa, dentre outras que também podem lesionar a mucosa intestinal. Sanadas as lesões, geralmente, a atividade da lactase é restabelecida (EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY, 2010; LULE et al., 2016; SWALLOW, 2003).

Cerca de 70% da população mundial adulta apresenta deficiência em níveis de lactase, sendo que na Europa tem sido relatada a variação entre 4% na Dinamarca e Irlanda e 56% na Itália. Na América do Sul, África e Ásia, mais de 50% da população apresenta intolerância à lactose. Já em alguns países asiáticos, esta taxa é de quase 100% (LULE et al., 2016).

2.3 Produtos lácteos com reduzido e baixo teor de lactose

Alguns produtos lácteos tradicionais como queijos maturados (Camembert, Brie, Parmesão, Edam), manteiga, Kefir, etc., são muitas vezes passíveis de serem consumidos por pessoas intolerantes a lactose devido a baixa concentração de lactose nestes produtos (HARJU; KALLOINEN; TOSSAVAINEN, 2012; TERRA, 2007).

A indústria de laticínios tem dado uma atenção especial ao desenvolvimento de produtos com baixo teor de lactose, visando aumentar a gama de produtos lácteos disponíveis no mercado para atender a demanda dos consumidores que apresentam má absorção desta. Estes produtos possibilitam ao consumidor a ingestão adequada de nutrientes, minimizando os riscos à saúde (LONGO, 2006).

O uso da β -galactosidase, ou lactase, é o principal meio de hidrólise da lactose em produtos lácteos utilizado pelas indústrias (LADERO; SANTOS; GARCIA-OCHOA, 2000). Esta enzima pode ser isolada a partir de diferentes fontes, tais como plantas (amêndoas, pêssegos, alperces, maçãs), órgãos de animais, leveduras, bactérias e fungos (RICHMOND; GRAY; STINE, 1981).

Quando se utiliza a lactase, diversos fatores devem ser considerados: concentração de substrato, temperatura máxima admissível, tempo de ação, atividade da enzima e o custo desta. Geralmente a quantidade de enzima a ser utilizada no processo é indicada pelo fornecedor. A temperatura ótima de ação da lactase é de 40°C, porém é importante controlar o tempo de ação visto que esta temperatura também é ideal para o desenvolvimento de microrganismos no leite. Portanto, o tempo do processo nesta temperatura deve ser de no máximo 4 horas (LADERO; SANTOS; GARCIA-OCHOA, 2000; PROZYN, 2010).

A detecção e a quantificação da hidrólise no leite pode ser realizada pelos métodos cromatográficos (MORLOCK; MORLOCK, LEMO, 2014), enzimático (MEGAZYME, 2014) e por crioscopia (RODRIGUES JÚNIOR, 2015).

A análise de crioscopia, método rápido para quantificação da hidrólise da lactose no leite utilizado pelas empresas de laticínios, é baseada na depressão do ponto de congelamento (PROZYN, 2010).

No Brasil não existe uma legislação específica para produtos lácteos com lactose hidrolisada, porém a produção destes atualmente é regulamentada pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) por meio da Portaria 29 de 13 de

janeiro de 1998 que aprova o regulamento técnico referente a alimentos para fins especiais. Este regulamento técnico permite concentração máxima de 0,5g de açúcares, neste caso lactose, em 100g ou 100mL de produto final a ser consumido, para que o produto seja considerado isento desse constituinte (ANVISA, 1998).

De acordo com o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), aproximadamente 44% dos brasileiros apresentam intolerância à lactose (IBGE, 2014), correspondendo a mais de 90 milhões de brasileiros que não podem consumir ou que consomem de forma moderada produtos de origem láctea.

2.3.1 Mercado

No Brasil, estudos apontam que 5,9% dos lançamentos de comida e bebida trouxeram informações na embalagem indicando quantidade reduzida ou ausência de lactose, em 2015 (MINTEL, 2016).

Dentre os produtos lácteos com baixo teor de lactose disponíveis no mercado, se destacam o leite pasteurizado, microfiltrado e UHT (ANTUNES et al., 2014; RUIZ-MATUTE et al., 2012), doce de leite (MOTA et al., 2009) e iogurte (VÉNICA et al., 2013).

De acordo com o levantamento de dados realizado pela Federação Internacional de Laticínios (IDF), o consumo total de leite diminuiu na Itália em 2014. A situação mais crítica foi a de leite fresco, que perdeu 8,5% no volume de vendas e de 6,6% do valor. O mercado de leite pasteurizado e microfiltrado foi mais estável, com perdas limitadas em termos de volume (0,4%). Houve também uma tendência decrescente para as vendas de leite UHT, que registrou uma queda de 4,2%. As compras de leites enriquecidos estavam em declínio acentuado, enquanto, em total contraste, o leite delactosado foi o único segmento crescente de leite (7,6%) (IDF, 2015).

Apesar do crescimento na produção de lácteos com baixo teor de lactose, este mercado apresenta alguns desafios a serem superados em relação ao produto tradicional, visto que a hidrólise da lactose leva a mudanças na composição físico-química do produto (diminuição da porcentagem de lactose e aumento da porcentagem de glicose e galactose). Tais alterações podem ocasionar, por exemplo, aglomerações indesejáveis de partículas, adesão aos equipamentos, empedramento

e coloração escura durante o processamento, armazenamento e estocagem do leite em pó deslactosado (FERNÁNDEZ; SCHEBOR; CHIRIFE, 2003).

2.4 Leite em pó

O processo de secagem possibilita a conversão do leite fluido em leite em pó com perdas nutricionais mínimas (SCHUCK et al., 2005a). A secagem por atomização é o método mais comumente utilizado na produção de lácteos desidratados, permitindo o armazenamento e a conservação por mais tempo, além da redução dos custos logísticos (SILVEIRA et al., 2013b).

O leite em pó é definido como um produto obtido pela desidratação do leite, mediante processos tecnológicos adequados, sendo apto para a alimentação humana. A classificação pode ser quanto ao teor de gordura (integral, desnatado ou parcialmente desnatado), intensidade do tratamento térmico (baixo, médio e alto), umectabilidade e dispersibilidade (instantâneo ou não instantâneo) (BRASIL, 1997).

De acordo com a legislação vigente, o leite em pó deve apresentar as seguintes características: cor branca amarelada, aspecto uniforme sem grumos ou substâncias macro e microscopicamente visíveis, sabor e odor agradável não rançoso, semelhante ao leite fluido (BRASIL, 1997).

O leite em pó deverá conter somente as proteínas, açúcares, gorduras e outras substâncias minerais do leite e nas mesmas proporções relativas, salvo quando ocorrer modificações originadas por um processo tecnologicamente adequado. Como aditivos são unicamente aceitos a lecitina, utilizada como agente emulsionante na elaboração de leites instantâneos, e alguns anti-umectantes (silicato de alumínio, silicato de cálcio, fosfato tri cálcico, dióxido de silício, carbonato de cálcio e carbonato de magnésio), que são restritos a leite em pó utilizado em máquinas de venda automática, todos estes com proporção máxima estabelecida (BRASIL, 1997).

A Tabela 1 apresenta os valores médios de composição centesimal do leite em pó integral e desnatado (WALSTRA et al., 2001).

Tabela 1: Composição média de alguns lácteos desidratados

Constituinte	Leite em pó Integral (%m/m)	Leite em pó Desnatado (%m/m)
Gordura	26	1
Lactose	38	51
Caseína	19,5	27
Proteínas do soro	4,8	6,6
Cinzas	6,3	8,5
Água	2,5	3

Fonte: Adaptado de WALSTRA et al. (2006).

2.4.1 Secagem por atomização

A secagem por atomização é um processo de secagem rápida que consiste na retirada de parte da água do produto. Por ser um processo de alto custo econômico, anteriormente à secagem, o leite é concentrado em um evaporador a vácuo e, em seguida, atomizado até a obtenção do pó (PATEL et al., 2010).

A evaporação a vácuo consiste na retirada de água através do fornecimento de energia na forma de calor ao produto. Este processo ocorre sob uma pressão inferior à pressão atmosférica promovendo, portanto a evaporação em temperaturas entre 40 °C a 75 °C, o que minimiza os danos térmicos aos constituintes do leite. A evaporação a vácuo possibilita a concentração do leite a teores de sólidos entre 40% a 55% (m/m), com um custo energético por quilograma de água evaporada até vinte vezes inferior ao processo de secagem por atomização (CARIC et al., 2009).

A secagem por atomização no *spray dryer* (Figura 2) consiste em pulverizar o leite concentrado em pequenas gotículas que, em contato com uma corrente de ar quente e seco, seca-se instantaneamente devido à diferença de temperatura e pressão parcial de vapor entre o ar e a gotícula (SCHUCK, 2009).

A formação de gotículas a partir de um líquido aumenta a área superficial, melhorando a troca de massa e energia entre o produto e o ar quente (CARIC et al., 2009).

A velocidade de evaporação está relacionada a três fatores: evaporação superficial, diferença da pressão de vapor de água entre o produto e o ar e a taxa de migração da água do centro da gotícula em direção a superfície. De acordo com a lei de Fourier, quanto maior a área de troca, mais rápida será a transferência de energia na forma de calor e maior será a velocidade de secagem. Da mesma forma, quanto maior a diferença da pressão parcial da água entre as gotículas e o ar seco, mais

rápido será o processo de secagem. Uma desidratação do ar e/ou um aumento da temperatura permitem uma diminuição de sua pressão parcial de vapor de água (SILVEIRA et al., 2013b).

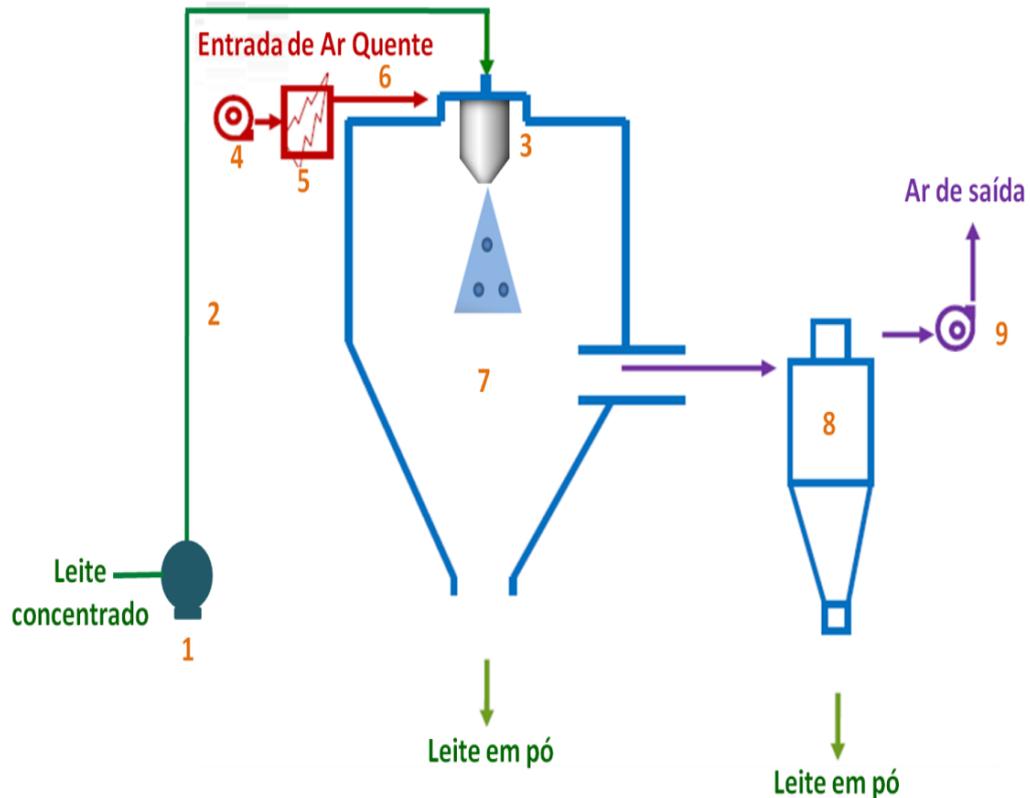


Figura 2: Adaptação do esquema do princípio de secagem de único estágio.
Fonte: Adaptado pelo autor de Schuck (2016)

em que: 1: Bomba de alimentação; 2: Circuito de alimentação; 3: Atomizador; 4: Ventilador de ar de entrada; 5: Aquecedor de ar; 6: Canalizador de ar quente; 7: Câmara de secagem; 8: Ciclone; 9: Ventilador de ar de saída.

O contato das gotículas de leite com o ar, com baixa umidade relativa e alta temperatura (150 °C a 300 °C) promove uma variação de temperatura e de pressão parcial de vapor de água entre a superfície da gotícula e o ar, resultando em uma transferência de energia na forma de calor do ar para o produto e uma transferência de água do produto para o ar. A Figura 3 descreve o princípio da secagem por atomização.

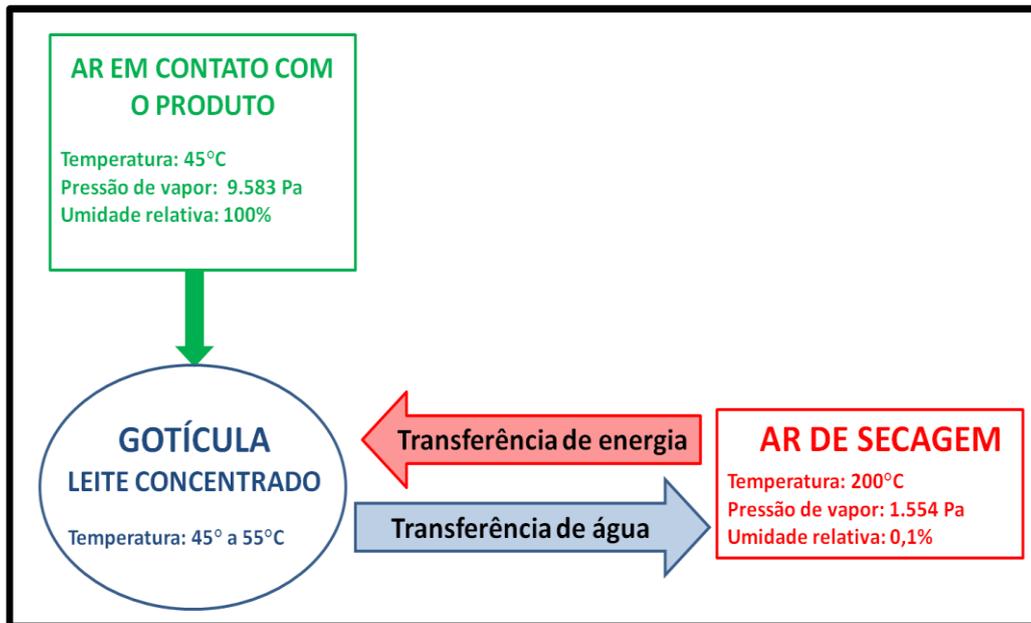


Figura 3: Princípio de secagem por atomização.
 Fonte: Schuck, 2016

Durante a secagem por atomização, o produto é aspergido na câmara de secagem em sentido corrente com o ar quente utilizado para secagem (Figura 2). Esse processo não é o mais eficiente a nível energético, uma vez que a partícula ao descer no equipamento necessita de mais energia para a retirada da água que estará cada vez mais ligada. Esta energia seria suprida por uma corrente de ar contracorrente, porém nesse caso a partícula seria demasiadamente aquecida, causando perdas nutricionais e na qualidade do pó (SCHUCK, 2016).

O tempo de processamento na câmara de secagem é muito curto (20 a 60 segundos), portanto não há equilíbrio real entre a umidade do ar e a umidade do produto. Com isso, se a temperatura do ar de saída de secagem aumenta, a eficiência de energia da unidade diminui (SCHUCK, 2002). Geralmente a temperatura do pó varia de 10 °C a 20 °C abaixo da temperatura do ar de saída, conforme expressa a Figura 4.

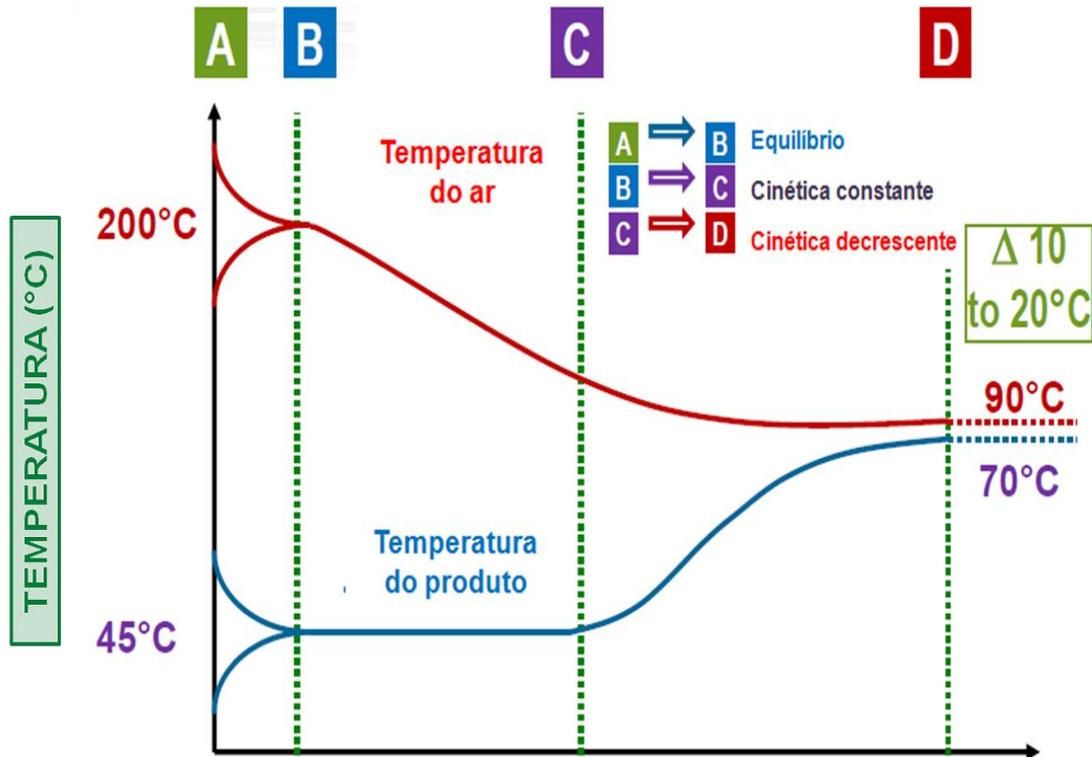


Figura 4: Cinética de secagem.
Fonte: Schuck (2016).

Durante a secagem por atomização é possível controlar automaticamente os parâmetros de secagem e então controlar algumas propriedades importantes do produto final como: a densidade, a forma e a distribuição de tamanho de partículas do pó (20 μm – 150 μm), o teor de ar ocluso e o teor de umidade e a temperatura do pó (CARIC et al., 2009).

O balanço de massa e de energia em *spray dryer* são ferramentas importantes de avaliação do processo, sendo determinados através da massa de todos os agentes envolvidos na secagem e pelos diagramas de entalpia do ar de entrada e de saída da câmara (BIMBENET et al., 2002).

Schuck (2005b) avaliou a influência dos parâmetros de secagem na produção de leite em pó desnatado, através da variação da vazão de entrada e da temperatura do leite concentrado e da umidade relativa e absoluta do ar de entrada. As alterações destes parâmetros interferiram diretamente na temperatura e umidade relativa do ar de saída e, conseqüentemente, na umidade e atividade de água do pó. Verificou-se que existe uma boa correlação ($r^2=0,98$) entre atividade de água do pó e da umidade relativa do ar de saída.

2.4.2 Transição Vítreo

A secagem de produtos lácteos se caracteriza pela atomização do líquido e evaporação rápida da água na câmara de secagem, aumentando a viscosidade da solução remanescente. Como não existe tempo suficiente para que as moléculas se estabilizem, ocorre a formação de estruturas vítreas antes de se colidirem com outras partículas ou com as paredes do equipamento (ROOS, 2002).

O estado vítreo é evidenciado por uma solução de alta viscosidade com mobilidade molecular limitada. Porém, o produto neste estado é higroscópico e metaestável, ou seja, está vulnerável a alterações de estado físico ou de propriedades físico-químicas durante o processamento, a estocagem e o consumo (ROOS, 2002).

A T_g consiste em uma mudança do sistema do estado amorfo (estado vítreo) para o estado gomoso. O estado gomoso caracteriza-se por uma solução de baixa viscosidade resultando em mudanças estruturais como o fenômeno de aglomeração, adesão a câmara durante o processamento e, com o tempo, podendo alcançar o empedramento (LEITE; MURR; PARK, 2005).

A transição vítreo do leite em pó ocorre a uma determinada temperatura, denominada temperatura de transição vítreo (TTg) que é variável com a composição específica do produto lácteo.

A TTg pode ser prevista utilizando a equação de Couchman e Karasz (1978):

$$TTg = \frac{W_1xTTg_1x\Delta Cp_1 + W_2xTTg_2x\Delta Cp_2 + \dots + W_nxTTg_nx\Delta Cp_n}{W_1x\Delta Cp_1 + W_2x\Delta Cp_2 + \dots + W_nx\Delta Cp_n} \quad (1)$$

Sendo que: W é a porcentagem do componente no leite em pó; TTg é a temperatura de transição vítreo do componente anidro e o ΔCp é a variação do calor específico do componente. Os números (1, 2, n) correspondem aos compostos presentes no leite, inclusive a água.

Na Tabela 2 observa-se que a água é o principal componente responsável pela queda da TTg, sendo considerada um forte plasticizante do produto lácteo (JOUPIILA; KANSIKAS; ROOS, 1997).

Tabela 2: Temperatura de transição vítrea dos componentes do leite em pó

Componente	TTg (°C)
Água	-139
Caseína	132
Proteínas solúveis	127
Lactose	98
Glicose	31
Galactose	30

Fonte: Schuck et al. (2005a)

O aumento da temperatura pode induzir a transição vítrea, processo similar ao aumento da concentração de plasticizante, como por exemplo, o aumento da concentração da água (umidade) do produto (ROOS; KAREL, 1991). Durante a secagem por atomização, caso o leite concentrado entre em contato com o ar quente e úmido (elevada umidade relativa), terá dificuldade em evaporar a água, havendo um aumento na concentração de água no produto final. De acordo com Schuck (2016), a TTg do leite em pó desnatado anidro é aproximadamente 92 °C. Porém, se este mesmo pó apresentar 4,4% (m/m) de umidade, a sua TTg passa a ser de 45°C. Este decréscimo ocorre devido a uma maior porcentagem de água no produto (SCHUCK et al., 2005a).

O leite em pó submetido a uma temperatura superior a sua TTg irá sofrer algumas alterações, tais como: aumento de volume livre, decréscimo da viscosidade, variação do calor específico e aumento da expansão térmica, etc. (ROOS, 1993; SCHUCK, 2016). Esses fatores governam uma série de transformações estruturais dependentes do tempo e, muitas vezes, são relacionados a uma série de problemas industriais: aglomeração dos pós, adesão na câmara e empedramento durante o processamento e armazenamento (FITZPATRICK et al., 2007).

A TTg também pode ocorrer dentro de embalagens hermeticamente fechadas do produto, durante o armazenamento. Este fenômeno ocorre quando o produto é submetido a temperaturas de estocagem acima da TTg (SCHUCK et al., 2005a).

2.4.3 Leite em pó deslactosado

O leite em pó deslactosado (LPD) apresenta além da lactose (em baixas concentrações), a glicose e a galactose. Como apresentado na Tabela 2, estes monossacarídeos apresentam uma TTg menor que a da lactose, visto que a TTg de

um carboidrato é inversamente proporcional ao seu peso molecular (ROOS, 1993). Considerando que a TTg do produto lácteo é a resultante dos seus componentes, o LPD apresenta uma TTg menor que a do leite em pó tradicional (SCHUCK et al., 2005a).

Quando a indústria de alimentos produz o LPD com a mesma tecnologia de secagem utilizados para o leite em pó tradicional, acaba por elaborar um produto completamente diferente em relação à “secabilidade” podendo apresentar aglomeração, aderência à câmara, *caking*, coloração mais escura e elevação da higroscopicidade. Isso ocorre porque a temperatura do ar de entrada na câmara pode resultar no aquecimento do pó acima da sua TTg, fazendo com que este passe do estado vítreo para o estado gomoso (FERNÁNDEZ; SCHEBOR; CHIRIFE, 2003; SHRESTHA et al., 2007).

Os problemas apontados na produção do leite em pó deslactosado levam a uma perda na qualidade do pó como, por exemplo, a dificuldade de reidratação, aspectos sensoriais alterados, além de um baixo rendimento (FERNÁNDEZ; SCHEBOR; CHIRIFE, 2003). Diante desses problemas, a indústria busca mudanças significativas na composição e nas condições de secagem do LPD (JOUPIILA; ROOS, 1994).

A mudança na composição passa por adição de moléculas de elevada massa molar como, por exemplo, a adição de maltodextrinas com o objetivo de aumentar a TTg do produto. Já as mudanças nas condições de secagem buscam um equilíbrio entre a temperatura do ar de entrada e a vazão do produto, com o objetivo de obter um pó com baixa umidade e com temperatura de saída do *spray dryer* menor que a TTg deste (SCHUCK et al., 2005a).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Produzir e caracterizar diferentes leites em pó reduzidos e baixa lactose (RLL) em *spray dryer*.

3.2 Objetivos Específicos

- Obter leites em pó com diferentes níveis de hidrólise da lactose a partir da secagem em *spray dryer* de leite em pó integral reconstituído hidrolisado por meio da adição da enzima β -galactosidase;
- Caracterizar os RLL após a secagem por microscopia eletrônica de varredura;
- Avaliar a aglomeração dos RLL após a secagem;
- Avaliar a composição físico-químicas dos RLL obtidos;
- Avaliar a capacidade de reidratação em água e o tamanho das partículas dos RLL;
- Avaliar a estabilidade ao armazenamento dos RLL com o uso da espectroscopia Raman; e
- Caracterizar a estrutura cristalina da lactose nos RLL.

4 MATERIAL E MÉTODOS

As atividades deste trabalho foram desenvolvidas em diferentes laboratórios por meio de parcerias em pesquisa entre diferentes instituições, a saber: no Laboratório de Leite e Derivados (INOVALEITE), do Departamento de Tecnologia de Alimentos, da Universidade Federal de Viçosa (MG); no laboratório de Microestrutura e Microanálise (Micro) do Núcleo de Espectroscopia e Estrutura Molecular (NEEM) do Departamento de Química da UFJF; e na Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (EPAMIG), Instituto de Laticínios Cândido Tostes, Juiz de Fora/MG.

O experimento consistiu na hidrólise enzimática da lactose de leite concentrado integral com 40% de sólidos totais. Foram realizados cinco diferentes tratamentos em relação à hidrólise da lactose: leite concentrado sem hidrólise (0H), com 25% (25H), 50% (50H), 75% (75H) e >99% (99H) de hidrólise, em quatro repetições (n=4), totalizando 20 unidades experimentais.

4.1 Hidrólise enzimática da lactose no leite concentrado

A hidrólise enzimática da lactose foi realizada no leite concentrado integral com 40% de sólidos totais obtido a partir da reconstituição do leite em pó integral em água a temperatura de 25 °C . Ao leite concentrado foi adicionado 0,2% m/m da enzima Maxilact LGi 5000 da empresa DSM®, à temperatura de 34 °C ± 1 °C.

Para a quantificação do grau de hidrólise da lactose foram coletadas amostras antes da adição da lactase e durante o tempo de ação da mesma em intervalos de 10 minutos, até alcançar a hidrólise desejada, sendo o processo de hidrólise interrompido submetendo-se a amostra a um tratamento térmico 75 °C/2 minutos. As amostras de leite concentrado foram previamente diluídas para 10% de sólidos totais com água destilada, no intuito de se aproximar das características do leite fluido, de modo a monitorar o grau de hidrólise por meio da crioscopia (crioscópio ITR MK540 Flex II, Tex Tech, Brasil), por meio da equação [1] descrita abaixo (RODRIGUES JUNIOR et al., 2016).

$$GH=(350,877 \times \text{Crioscopia final})-(\text{Crioscopia Inicial})/0,00285) [1]$$

Todos os produtos foram submetidos à secagem em Spray Dryer MSD 1.0 com vazão máxima de 1,2L/h de produto, vazão de ar comprimidos de 30L/min, vazão do ar do soprador de 2,0 m³/min e um sistema de atomização por bico de pressão com diâmetro de 1µm (LabMaq, Brasil). Os parâmetros de secagem foram fixados em 170 °C de temperatura do ar de entrada e 85 °C de temperatura do ar de saída. Ao final da secagem para cada amostra, todo o pó foi coletado do equipamento, embalado a vácuo e estocado em local de temperatura controlada (25 °C) e ao abrigo da luz.

Foram coletadas imagens fotográficas, em câmera Motorola modelo MotoG de 13 Mpixel, do equipamento de secagem após a retirada do leite em pó.

4.2 Análises físico-químicas

As amostras dos leites em pó obtidos foram analisadas quanto a sua concentração de sólidos totais (ST), teor de proteínas, cinzas e lipídeos. O teor de ST foi determinado pela técnica gravimétrica, em estufa à temperatura de 105 °C (AOAC, 1995). Proteína total pelo método Microkjedahl (AOAC, 1995), e o teor de cinzas pelo método gravimétrico, avaliando a perda de massa do material submetido à incineração, em mufla a 550 °C (AOAC, 1995). O teor de lipídeo foi determinado pelo método de Gerber (FIL ISO1737).

Os pós foram analisados quanto às suas respectivas atividades de água (a_w), utilizando equipamento Aqualab (Decagon 3TE, Decagon Devices Inc., USA).

4.3 Tamanho de partículas durante a reidratação dos pós por difração a laser

A distribuição do tamanho das partículas dos pós durante processo de reidratação foi obtida – por meio do analisador de difração a laser Beckman Coulter LS 13 320 (Beckman Coulter, Miami, FL, EUA) acoplado ao módulo de análise líquida (Aqueous liquid module, Beckman Coulter, Miami, FL, EUA).

Quantidades suficientes das amostras foram adicionadas ao reservatório do módulo de análise líquida contendo água a temperatura ambiente visando obter nível de 50% + ou – 5% nos fotodetectores PIDS (*Polarization Intensity Differential Scattering System*). A adição das amostras foi realizada lentamente para impedir a formação de aglomerados. O processo de reidratação dos pós durante recirculação no equipamento foi acompanhado durante 15 minutos através do intervalo de coleta

de dados de 3 minutos – para garantir a completa reidratação dos pós mediante a estabilização da distribuição do tamanho das partículas. Os dados foram coletados na região de 0,04 a 2000 μm com tempo de coleta estabelecido em 100 segundos. Os resultados foram obtidos utilizando o índice refração de 1,332 para o meio dispersante (água) e 1,57 para as partículas (alvo micelas de caseína) de acordo com Mimouni et al. (2009) e foram representados pelo % de volume ocupado pelas partículas em função do seu tamanho.

4.4 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

A morfologia e as características de aglomeração das partículas das amostras dos pós foram avaliadas sem preparação prévia por MEV (Hitachi TM 3000, Hitachi Ltd.,Tokyo, Japan). A magnificação de 400x foi utilizada na caracterização das amostras.

4.5 Obtenção dos espectros Raman

Aproximadamente 5g de cada amostra obtida dos 5 tratamentos dos RLL foram armazenadas em dessecador a vácuo, com solução saturada de NaCl para obtenção de uma umidade relativa de 75,5% à aproximadamente 23 °C. Os espectros Raman destas amostras foram obtidos durante 6 semanas consecutivas com intervalo de 1 semana. Os espectros Raman de todas as amostras de RLL representados no presente trabalho foram obtidos utilizando espectrômetro Bruker FT-Raman RFS 100 equipado com detector de Ge refrigerado com nitrogênio líquido, empregando um laser Nd:YAG com linha de excitação em 1064 nm, na região do infravermelho próximo. Poucos miligramas de amostra foram inseridos em porta amostra de alumínio; um feixe luminoso do laser com potência de aproximadamente 100 mW foi incidido e focado na amostra, tendo sido a radiação espalhada coletada a 180°. Para todos os espectros, uma boa relação sinal/ruído foi obtida realizando-se uma média de 512 scans, sendo estes coletados com resolução espectral de 4 cm^{-1} em uma região compreendida entre 3500 cm^{-1} a 50 cm^{-1} . A plataforma OPUS 6.0 foi utilizada para a aquisição dos espectros Raman. Todos os espectros foram obtidos em duplicata a fim de garantir que as intensidades e regiões espectrais dos respectivos modos vibracionais fossem reprodutíveis.

4.6 Análises Quimiométricas

Para a realização da análise exploratória, os espectros Raman foram manipulados por meio do software Matlab versão 7.10 (R2010a). Um problema no espectro Raman é a presença de contribuições e efeitos devido a vários eventos como efeitos de tamanho de partículas e diferenças morfológicas, dependentes da condição experimental, que devem ser eliminadas antes da utilização da ferramenta quimiométrica. Para isto, os espectros Raman foram pré-processados utilizando a correção da linha de base para minimizar o efeito das variações na mesma, normalização e centralização dos dados centrados na média, para dimensionar os espectros no intervalo semelhante e permitir uma comparação entre as amostras heterogêneas. Na sequência, a análise de componentes principais (PCA) foi utilizada e a escolha do número de componentes principais (PCs) foi feita através do gráfico de autovalores (importância de cada componente principal). A análise de pesos permitiu avaliar a contribuição das bandas dos espectros Raman para a distribuição das amostras no gráfico de escores.

4.7 Análise estatística

Os resultados foram avaliados por análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey para a comparação de médias ($p < 0,05$). Os dados foram analisados por meio do programa estatístico *Statistical Analysis System* (SAS Institute Inc., 2006) versão 9.2, licenciado para a Universidade Federal de Viçosa/MG.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Análises físico-químicas

As amostras de RLL foram caracterizadas em relação ao conteúdo de umidade, proteína total, gordura, cinzas e a_w . As composições dos produtos obtidos estão apresentadas na Tabela 1.

Tabela 3: Análises físico-químicas dos leites em pó hidrolisados (n=4)

Produtos	Umidade (g/100 g)	a_w	Gordura (g/100 g)	Proteína (g/100 g)	Resíduo mineral fixo (g/100 g)
0H	4,09±2,11 ^a	0,188±0,04 ^a	23,69±0,78 ^a	23,04±0,80 ^a	5,99±0,04 ^{ab}
25H	5,71±1,99 ^{ab}	0,170±0,04 ^a	23,27±0,82 ^a	25,01±0,54 ^a	6,00±0,06 ^b
50H	6,45±1,96 ^{ab}	0,182±0,05 ^a	23,92±2,39 ^a	23,65±0,89 ^a	5,94±0,02 ^{ab}
75H	9,17±2,62 ^b	0,175±0,02 ^a	25,09±1,07 ^a	23,16±1,96 ^a	5,96±0,03 ^{ab}
99H	10,13±1,68 ^b	0,205±0,03 ^a	24,31±1,12 ^a	23,18±0,94 ^a	5,88±0,09 ^a

Fonte: ELABORADO PELO PRÓPRIO AUTOR

Dados de quatro repetições, análises realizadas em duplicata.

Médias seguidas de pelo menos uma mesma letra, na coluna, para cada variável, não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

0H: controle; 25H: 25% hidrólise da lactose; 50H: 50% hidrólise da lactose; 75H: 75% hidrólise da lactose; 99H: 99% hidrólise da lactose.

Não foi observada diferença significativa ($p>0,05$) quanto aos parâmetros a_w , gordura total e proteína total, entre os tratamentos, indicando que o processo de secagem ocorreu de forma controlada, simulando o processamento industrial.

Em relação ao conteúdo de umidade dos pós houve diferença estatística ($p<0,05$) entre os tratamentos e observa-se que, com o aumento do nível da hidrólise, há também o aumento do valor da umidade obtida.

Este incremento da umidade relacionada à hidrólise, demonstrou influência direta na composição dos RLL, mediante avaliação do conteúdo de proteína, gordura e cinzas (Tabela 3). Assim, atribui-se a esta tendência de aumento dos valores de umidade não diretamente aos produtos, mas somente aos resultados analíticos obtidos na técnica recomendada para leite em pó integral tradicional com lactose que foi empregada para os RLL, considerando ainda não haver metodologia específica para quantificação de umidade em produtos em pó com baixo e reduzido conteúdo de lactose mediante hidrólise enzimática. Acreditasse que o uso dos parâmetros analíticos preconizados para análise de umidade de leite em pó integral tradicional

com lactose, quando aplicados para RLL, promovam o progresso da reação de Maillard durante a desidratação da amostra e, com isto, maior perda de massa é obtida, sendo caracterizada como umidade.

5.2 Características de secagem

Conforme apresentado na Figura 5, os RLL (25H, 50H, 75H e 99H) obtidos nos tratamentos demonstraram maior aderência à câmara de secagem conforme o aumento do nível de hidrólise da lactose, quando comparados ao produto controle (0H). Comportamento semelhante também foi observado em relação à cor dos produtos, a qual denotasse escurecimento progressivo mediante o incremento da hidrólise.

Os RLL apresentam além da lactose (em diferentes concentrações), glicose e galactose. Estes monossacarídeos apresentam uma temperatura de transição vítrea menor que a da lactose, visto que a Tg de um carboidrato é inversamente proporcional à sua massa molecular (ROOS, 1993). Considerando que a Tg do produto lácteo é a resultante dos seus componentes, os RLL apresentam uma temperatura de transição vítrea menor que a do leite em pó tradicional (SCHUCK et al., 2005a).

A indústria de alimentos ao produzir os RLL com os mesmos parâmetros de secagem utilizados para o leite em pó tradicional se depara com um produto completamente diferente em relação à secabilidade podendo apresentar aglomeração, aderência à câmara, *caking*, coloração mais escura e elevação da higroscopicidade. Isso ocorre porque as temperaturas do ar de entrada e saída na câmara podem resultar no aquecimento do pó acima da sua Tg, fazendo com que este passe do estado vítreo para o estado gomoso (FERNÁNDEZ, SCHEBOR, CHIRIFE, 2003; SHRESTHA et al., 2007).

Um dos pontos negativos mais evidentes do escurecimento dos alimentos e dos produtos formados a partir dele corresponde à destruição ou redução do valor nutricional de aminoácidos essenciais como arginina, lisina, metionina e triptofano além de redução da digestibilidade do alimento (IKAN, 1996; MARTINS *et al.*, 2001; YILDIZ, 2010). A lisina, por apresentar o grupo amino épsilon livre, apresenta alta reatividade sendo mais susceptível à reação (carbonila-amino) o que pode reduzir o

valor nutricional do alimento (ARAÚJO, 2008; BASTOS *et al.*, 2011; FENNEMA, 2010; NUNES e BAPTISTA, 2001).

Shrestha *et al.* (2007) concluíram que a secagem por atomização do leite desnatado em pó contendo lactose hidrolisada resultou em um baixo rendimento na produção, sendo que uma grande quantidade de pó permaneceu aderida no equipamento e apenas 25% do pó foi recuperado no ciclone. A TTg do pó deslactosado anidro foi de 49 °C.

Fernández, Schebor e Chirife (2003) observaram que o leite em pó deslactosado apresentou uma coloração escura quando comparado ao leite em pó tradicional. Este fenômeno é devido a maior disponibilidade de açúcares redutores na sua composição, favorecendo a reação de Maillard.

Os problemas apontados na produção do leite em pó deslactosado leva a uma perda na qualidade do pó, como por exemplo dificuldade de reidratação, aspectos sensoriais alterados, além de um baixo rendimento (FERNÁNDEZ; SCHEBOR; CHIRIFE, 2003). Diante desses problemas, a indústria busca mudanças significativas na composição e nas condições de secagem do leite em pó deslactosado (JOUPPILA; ROSS, 1994).

As imagens da microscopia eletrônica de varredura (figura 5) mostraram que o comportamento da estrutura microscópica corrobora com as imagens coletadas do interior do *spray dryer*, demonstrando maior aderência com o aumento do nível da hidrólise.

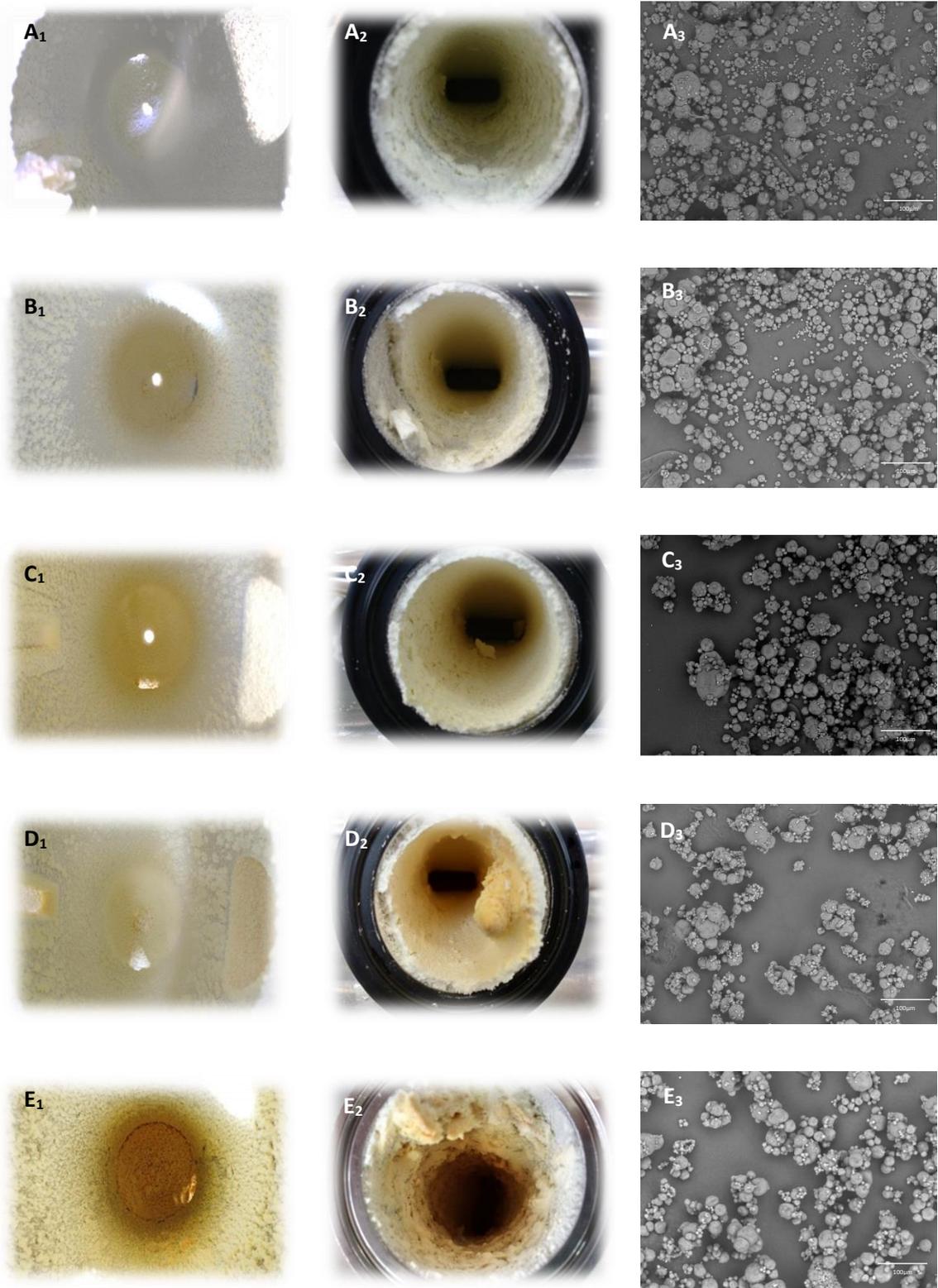


Figura 5: Comparação por imagens da influência do nível de hidrólise da lactose na secagem do leite em pó integral em *spray-dryer*. Figura A representa o produto controle sem hidrólise (0H); B 25% (25H), C 50% (50H), D 75% (75H) e E > 99% (99H) de hidrólise da lactose. Respectivamente: interior da câmara de secagem após 1 hora de operação (1); entrada do ciclone após 1 hora de operação (2); e microscopia eletrônica de varredura dos leites em pó hidrolisados em magnificação de 400x, mostrando a aglomeração primária das partículas.

5.3 Reidratação dos pós

Durante as fases iniciais da reidratação, foram obtidas diferentes distribuições de tamanho das partículas das amostras apresentando diferentes taxas de hidrólise da lactose por difração de laser em água conforme apresentado na figura 6 e dados sumarizados na tabela 4. A Figura 6 mostra, para cada amostra, a distribuição da percentagem do volume ocupado pelas partículas de acordo com os seus diâmetros hidrodinâmicos. Tipicamente, a distribuição de tamanho de partícula de leite cru mostra duas populações, um correspondendo às micelas de caseína (centradas em torno de 150-200 nm) e uma outra correspondente aos glóbulos de gordura (centradas em torno de 5 μm).

Todas as amostras apresentaram uma população de partículas centrada a aproximadamente 200 nm, o que poderia corresponder às micelas de caseína como no leite cru. A intensidade desta população diminuiu com o aumento da taxa de hidrólise da lactose das amostras. Exceto para a amostra não hidrolisada, todas as outras amostras apresentaram uma outra grande população de partículas entre 1 a 200 μm , cujos diâmetros são maiores para as amostras que apresentam taxas maiores de hidrólise da lactose. Além da população centrada a 200 nm, a amostra não hidrolisada apresentou três outros picos distribuídos entre 0,8 a 40 μm . Assim, podemos inferir que o aumento da taxa de hidrólise da lactose diminuiu a capacidade de reidratação dos pós em avaliação.

Em complemento, o aumento do nível da hidrólise da lactose, mostrou efeito direto no tamanho das partículas, sendo que para D_{10} (diâmetro hidrodinâmico no qual os leites em pó hidrolisados após hidratação em água possuem 10% das partículas com valores inferiores a este) foram obtidos valores de 0,131, 0,190, 2,42, 3,36 e 4,22 micrômetros respectivamente para 0H, 25H, 50H, 75H e 99H conforme apresentado na tabela 4. Efeito similar também foi observado em D_{90} , reforçando a observação do aumento do tamanho do diâmetro hidrodinâmico das partículas.

Na tabela 4 também podemos observar o volume (%) das partículas menores que 0,8 μm . É imperativo destacar a redução observada devido ao aumento do nível da hidrólise da lactose, apresentando valor para 0H de 37,0% e para 99H de 4,4%. Nesta região $< 0,8 \mu\text{m}$ a maior contribuição para o diâmetro hidrodinâmico está relacionada às micelas de caseínas (centradas em torno de 150-200 nm),

demonstrando nítida redução das mesmas após hidratação dos pós em água com o aumento da hidrólise.

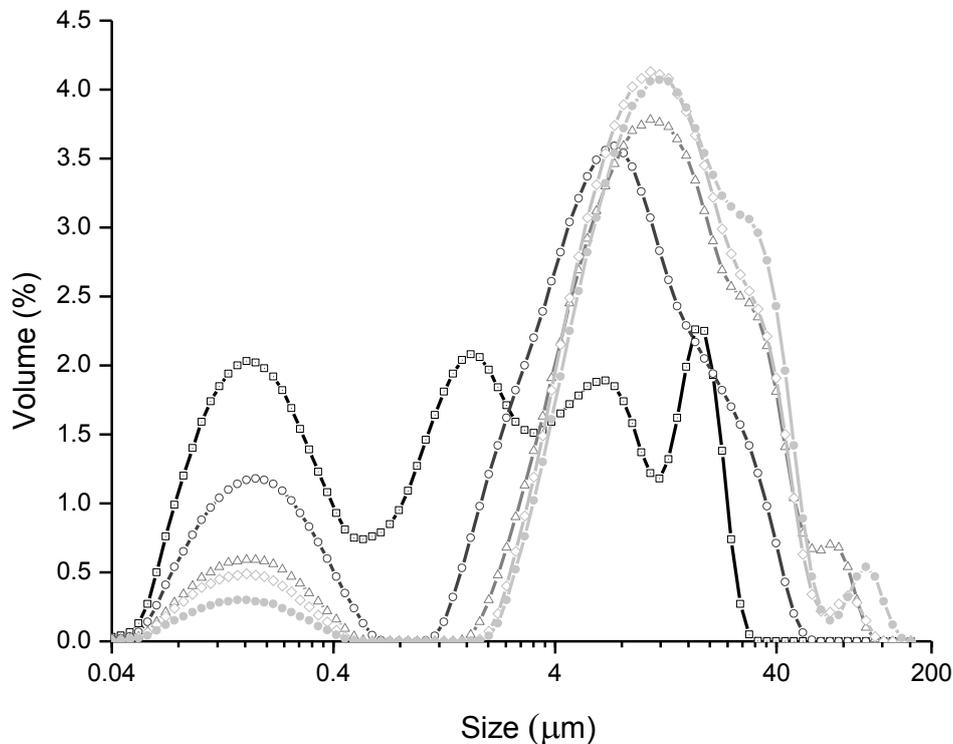


Figura 6: Distribuição do tamanho das partículas dos leites em pó hidrolisados lactose hidrolisada após hidratação em água: 0H (□), 25H (○), 50H (△), 75H (◇) e 99H (●).

Tabela 4: Tamanho das partículas dos leites em pó hidrolisados após hidratação em água.

Tratamento	Média (µm)	Desvio padrão (µm)	Distribuição de tamanho* (µm)		% volume < 0,8 µm
			D ₁₀	D ₉₀	
0H	4,83	6,54	0,131	16,3	37,0
25H	9,14	9,55	0,190	22,9	19,1
50H	16,5	16,8	2,42	37,6	9,05
75H	16,0	14,9	3,36	35,1	7,16
99H	19,1	19,2	4,22	39,7	4,41

*Nota: D₁₀, D₉₀ representam o diâmetro hidrodinâmico no qual os leites em pó hidrolisados após hidratação em água possuem 10% e 90% das partículas com valores inferiores a estes respectivamente.

Considerando-se o processo de reidratação em dois passos conforme descrito por Mimouni et al. (2009), as diferentes morfologias das partículas dos pós poderiam

explicar as diferentes capacidades de reidratação observadas. Estes autores descreveram o processo de reidratação do MPC em pó (concentrado proteico de leite) como ocorrendo em dois passos simultâneos: a ruptura dos aglomerados de partículas em partículas individuais e a libertação do material de partículas para a fase aquosa (Mimouni et al., 2009). Conforme mostrado na Figura 5, o aumento da taxa de hidrólise da lactose resultou em uma maior aglomeração das partículas, o que poderia explicar a diminuição da capacidade de reidratação dos pós. Além disso, o progresso da reação de Maillard tem sido relacionado com a diminuição da capacidade de reidratação de pó de leite. Le et al. (2011) correlacionaram a diminuição da solubilidade de leite em pó integral durante o seu envelhecimento com a evolução da reação de Maillard e da ligação cruzada (cross-linking) de caseínas. Mais tarde, essa mesma equipe evidenciou a ação dos produtos da reação de Maillard como promotores do cross-linking entre caseínas (LE et al., 2013). Neste contexto, como mostrado na Figura 5, um aumento da taxa de hidrólise da lactose se traduz em um aumento da reação de escurecimento não enzimático (reação de Maillard) dos pós, o que poderia, por conseguinte, contribuir para a redução da sua capacidade de reidratação.

5.4 Espectros Raman e análise das componentes principais dos pós

A Figura 7 mostra o espectro Raman da lactose, glicose e galactose na forma cristalina. A primeira região espectral em 3000 cm^{-1} é atribuída aos modos de estiramento simétrico e assimétrico associados ao grupo CH (MAHDAD-BENZERDJEB; TALEB-MOKHTARI; SEKKAL-RAHAL, 2007). Os espectros Raman da lactose, glicose e da galactose apresentam características vibracionais na região entre 1500 e 200 cm^{-1} . A região entre 1500 e 1250 cm^{-1} corresponde às deformações do modo CH_2 e CH_2OH (MAHDAD-BENZERDJEB; TALEB-MOKHTARI; SEKKAL-RAHAL, 2007; SHIH, LUPOI, SMITH, 2011). Os estiramentos CC e CO são observados na faixa espectral entre 1200 e 950 cm^{-1} (MAHDAD-BENZERDJEB, TALEB-MOKHTARI, SEKKAL-RAHAL, 2007; GELDER, GUSSEM, VANDENABEELE, 2007). Na região de 950 a 800 cm^{-1} aparecem as deformações dos grupos laterais COH, CCH e OCH (MAHDAD-BENZERDJEB, TALEB-MOKHTARI, SEKKAL-RAHAL, 2007; GELDER, GUSSEM, VANDENABEELE, 2007). Os modos das deformações

endocíclicas e exocíclicas aparecem em 543 e 410 cm^{-1} , respectivamente, para a glicose, 477 e 377 cm^{-1} , relativamente à lactose. Para a região de 1500 a 800 cm^{-1} , o espectro de lactose apresenta um número maior de bandas quando comparado os espectros da glicose e galactose (GELDER; GUSSEM; VANDENABEELE, 2007).

As bandas características da lactose em 2982, 2885, 1086, 876, 851, 479 e 357 cm^{-1} podem ser utilizadas para monitorar leite em pó de baixa lactose durante a produção e o envelhecimento. Alterações nas características espectrais são indicativos do grau de hidrólise e/ou da cristalização da lactose. O leite em pó com baixa lactose apresenta uma mistura de lactose, glicose e galactose. O espectro Raman da glicose apresenta bandas em 2947, 2896, 1350, 1125, 1074, 917, 844, 540 e 405 cm^{-1} (CERCHIARO et al., 2005). As principais bandas Raman da galactose são encontradas em 2973, 2939, 2920, 1250, 1071, 890, 833, 704, 661 e 420 cm^{-1} (CERCHIARO et al., 2005).

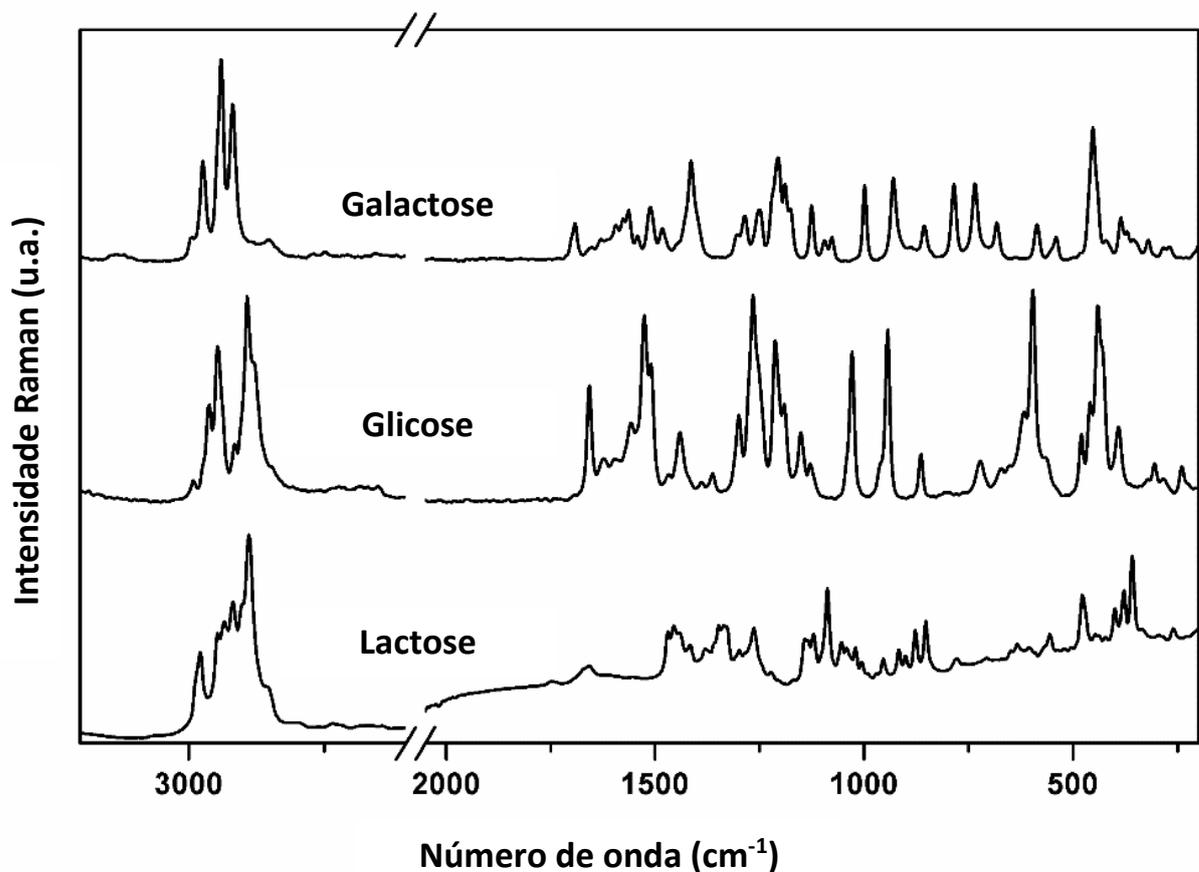


Figura 7: Espectros Raman das estruturas cristalinas: galactose, glicose e lactose.

A Figura 8 mostra o espectro Raman dos RLL com diferentes níveis de hidrólise após a produção. Os espectros possuem bandas características dos três principais componentes do leite: proteínas, gorduras e carboidratos. Uma discussão detalhada sobre espectros de FT-Raman de leite em pó pode ser encontrada em trabalhos anteriores (ALMEIDA et al., 2011). As principais alterações nos espectros podem ser observadas em relação à hidrólise da lactose e estão localizadas na região de 2900 cm^{-1} , 1350 cm^{-1} , a partir de 1200 a 800 cm^{-1} e em baixo número de onda 480-410 cm^{-1} . Onde as intensidades das bandas da lactose diminuem com a hidrólise e as bandas em 525 e 424 cm^{-1} referem-se ao aumento da contribuição espectral da glicose e galactose (SHIH; LUPOI; SMITH, 2011). Uma observação importante é que os carboidratos estão presentes sob a forma amorfa no leite em pó imediatamente após a produção.

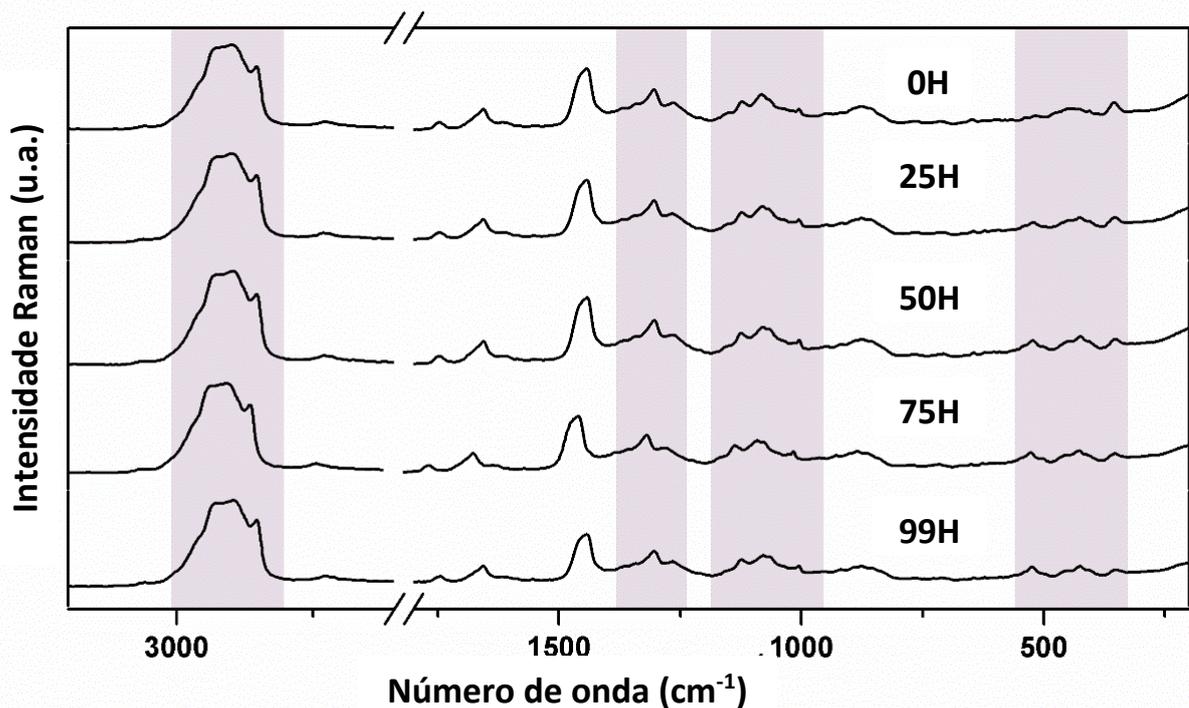


Figure 8: Espectros Raman das amostras de leites em pó hidrolisados imediatamente após a produção.

Na Figura 9 são apresentados os espectros Raman dos RLL depois de 6 semanas de armazenamento a 75,5% de umidade relativa do ar. Nesta figura é possível observar modificação no perfil espectral para a amostra sem processo de

hidrólise (0H). As principais alterações estão localizadas nas regiões em 2900 cm^{-1} , 1350 cm^{-1} , de 1200 a 800 cm^{-1} e em baixo comprimento de onda $480\text{-}410\text{ cm}^{-1}$. Para a amostra sem hidrólise (0H), nota-se um maior número de bandas definidas nesta região espectral que indica cristalização da lactose (HOGAN, O'CALLAGHAN, 2010; YAZDANPANA, LANGRISH, 2011).

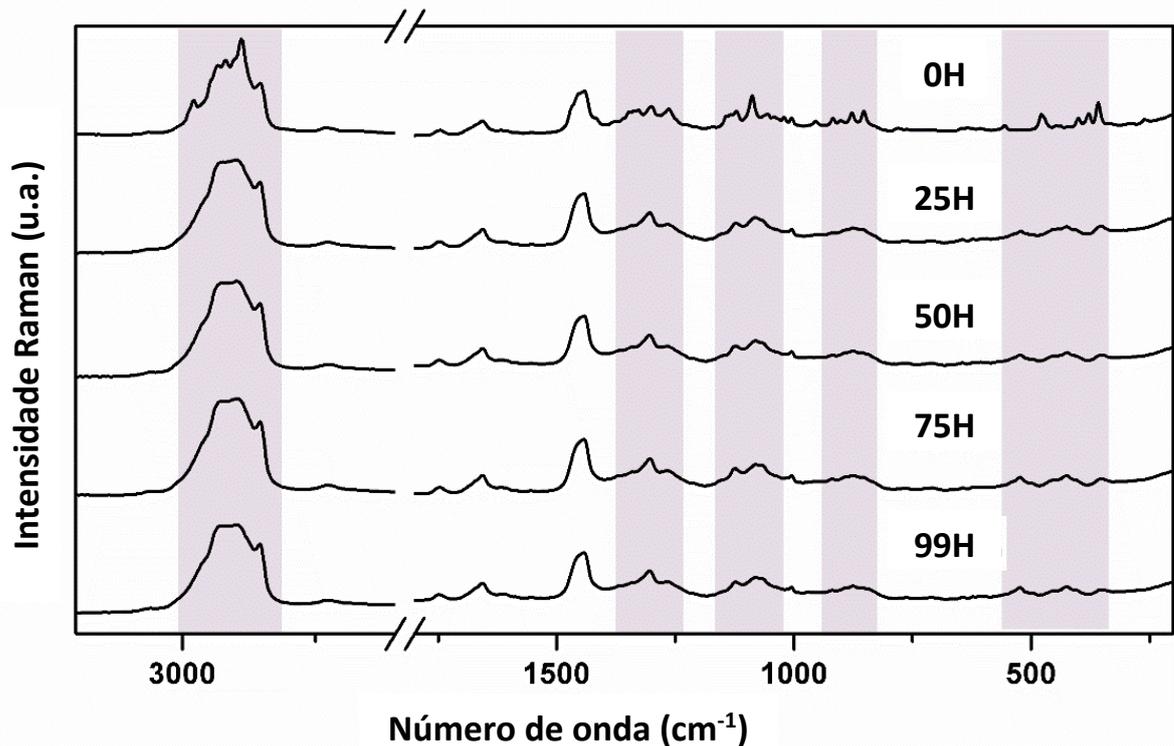


Figure 9: Espectros Raman das amostras de leites em pó hidrolisados após 6 semanas de estocagem à 75,5% de umidade relativa do ar.

Análise exploratória, com base na Análise de Componentes Principais, foi realizada com os espectros Raman das amostras após a produção e a partir da primeira até a sexta semana de armazenamento à 75,5% de umidade relativa do ar. O modelo PCA foi construído e empregou a faixa espectral de 1200 a 400 cm^{-1} . O gráfico de scores PC1 versus PC2 (Figura 10a) explica 96,52% da variância total dos dados, revelando agrupamento de acordo com grau de hidrólise da lactose. O PC1 separou as amostras de RLL em leite em pó hidrolisados (25H, 50H, 75H e 99H) e leite em pó sem hidrólise (0H). O PC2 distinguiu as amostras do grupo hidrolisado pelo nível da hidrólise. Em relação ao leite em pó sem hidrólise (0H), o produto na primeira semana aparece separado das demais, indicando que a lactose nesta amostra apresenta contribuição espectral de características na

forma amorfa e nas amostras de 2 a 6 semanas, já observa-se a lactose no seu estado cristalino.

As principais bandas do espectro Raman responsáveis pelo agrupamento das amostras podem ser identificadas por um gráfico de pesos, tal como apresentado na figura 10b.

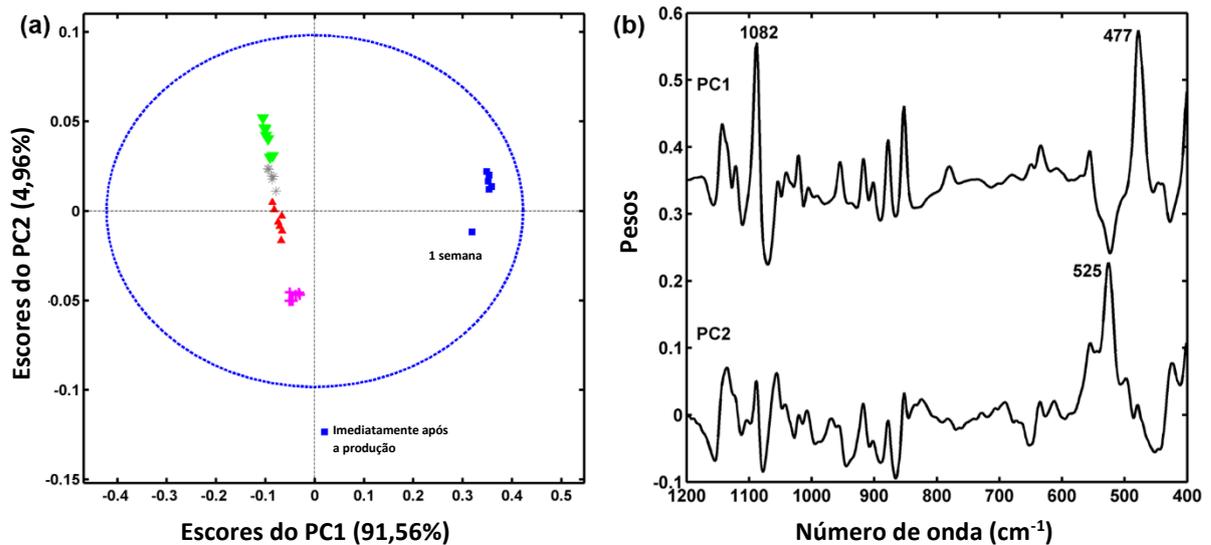


Figure 10: (a) Gráfico de escores PC1 *versus* PC2 da região espectral 1200-400 cm^{-1} das amostras RLL durante a estocagem de 6 semanas em 75,5% de umidade relativa do ar: 0% (\blacksquare), 25% (+), 50% (\blacktriangle), 75% (*) e > 99% de hidrólise da lactose (\blacktriangledown); (b) gráfico dos pesos da PC1 *versus* PC2 da região espectral 1200-400 cm^{-1} para o modelo da PCA.

Os pesos da PC1 mostram que a banda Raman com a maior contribuição está em 1082 e 477 cm^{-1} , o que foi atribuído à presença de lactose cristalina no leite em pó sem hidrólise (0H). As bandas Raman que têm a maior contribuição para PC2 correspondem principalmente a bandas relacionadas com a presença de glicose localizada em 525 cm^{-1} para as amostras 25H, 50H, 75H e 99H.

O principal fenômeno identificado pela espectroscopia Raman está relacionado ao fato da hidrólise da lactose (25H, 50H, 75H e 99H) produzir pós nos quais não observou-se nenhuma cristalização dos carboidratos presentes (lactose, glicose e galactose) durante o armazenamento. Este comportamento, a princípio, não era esperado. Contudo, de acordo com Jouppila e Roos (1994) a temperatura de transição vítrea de lactose anidra pura é 101 $^{\circ}\text{C}$. Produtos de hidrólise da lactose são galactose

e glicose. Suas temperaturas de transição vítrea são 30°C e 31°C, respectivamente. Assim, leite em pó anidro contendo lactose hidrolisada tem Tg menor (50°C) que leite em pó convencional (92 °C). Galactose e glicose são conhecidas por serem mais higroscópicas que a lactose. A água que é absorvida e seu próprio efeito plasticizante deveriam logicamente favorecer à cristalização da lactose. Pelo contrário, Jouppila e Roos (1994) relataram que nenhuma indicação de cristalização (exemplo, liberação de água) foi observada n isotérma de sorção de leite em pó desnatado com lactose hidrolisada. Além disso, a temperatura de cristalização da lactose deste pó foi constante em função de a_w . Assim, no leite em pó lactose hidrolisada, glicose e galactose inibiram a velocidade de nucleação e o crescimento de cristais. Este efeito observado pelos autores ainda não foi claramente explicado pela literatura científica e corrobora os dados obtidos nas amostras de RLL.

É imperioso destacar que a utilização dos espectros Raman das amostras de RLL e a análise exploratória empregando PCA forneceram informações sobre a cristalização da lactose e o grau de hidrólise da mesma nas amostras de RLL.

6 CONCLUSÃO

Os diferentes níveis de hidrólise enzimática da lactose no leite concentrado influenciam nas características de secagem em *spray dryer* do leite em pó integral com a aglomeração e adesão de partículas dos pós nas superfícies do equipamento e também na tendência ao escurecimento dos RLL com o aumento da hidrólise. A composição físico-química dos RLL é alterada apenas no teor de umidade dos RLL. O efeito da hidrólise da lactose no leite em pó integral reduz a capacidade de reidratação dos pós hidrolisados e provoca a aglomeração primária das partículas. A estocagem dos RLL durante 6 semanas não altera o processo de cristalização da lactose dos pós com 25%, 50%, 75% e 99% de hidrólise. A hidrólise da lactose influencia na estabilidade dos pós.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, M.R; OLIVEIRA, K.D.S; STEPHANI, R; OLIVEIRA, L.F.C. de. Fourier-transform Raman analysis of milk powder: A potential method for rapid quality screening, **Journal of Raman Spectroscopy**, v. 42, p. 1548–1552, 2011.
- ANTUNES, A. E. C. et al. Development and shelf-life determination of pasteurized, microfiltered, lactose hydrolyzed skim milk. **Journal of dairy science**, v. 97, n. 9, p. 5337–44, 2014.
- ARAÚJO, J. M. A. Química de Alimentos – Teoria e prática. 4. Ed. Viçosa: Ed. UFV, 2008. 596p
- BASTOS, D. H. M.; SHIBAO, J.; FERREIRA, E. L.; BOMBO, A. J. Produtos da reação de Maillard em alimentos industrializados. *Nutrire: rev. Soc. Bras. Alim. Nutr.*, v. 36, n. 3, p. 63-78, 2011.
- BIMBENET, J. J.; SCHUCK, P.; ROIGNANT, M.; BRULÉ, G.; MÉJEAN, S. Heat balance of a multistage spray-dryer: principles and example of application. **Lait**, v. 82, n. 4, p. 541–551, 2002.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento **Portaria 369, de 04 de setembro de 1997**: Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Leite em Pó.. Brasília, 1997.
- BRASIL. ANVISA. **Portaria 29, 13 de janeiro de 1998**: Aprova o Regulamento Técnico referente a Alimentos para Fins Especiais Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Diário Oficial da União. Brasília, 1998.
- BRASIL. **Instrução Normativa nº 68, de 12 de dezembro de 2006**: Oficializa os Métodos Analíticos Oficiais Físico-Químicos, para Controle de Leite e Produtos Lácteos. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Brasília, 2006.
- CARIC, M.; AKKERMAN, J. C.; MILANOVIC, S.; KENTISH, S. E.; TAMIME, A. Y. **Technology of Evaporators, Membrane Processing and Dryers**. 1.ed. [s.l: s.n.]. v. 53, 2009.
- CERCHIARO, G.; SANT'ANA, A. C.; TEMPERINI, M. L. A.; & DA COSTA FERREIRA, A. M. Investigations of different carbohydrate anomers in copper (II) complexes with D-glucose, D-fructose, and D-galactose by Raman and EPR spectroscopy. **Carbohydrate research**, v. 340, n. 15, p. 2352-2359, 2005.
- COUCHMAN, P. R.; KARASZ, F. E. A Classical Thermodynamic Discussion of the Effect of Composition on Glass-Transition Temperatures. **Macromolecules**, v. 11, n.

1, p. 117–119, 1978.

DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L.; FENNEMA, O. R. **Química de alimentos de Fennema**. 4. ed. Porto Alegre: [s.d.].

DEVICES, D. **Water Activity Meter**, 2010.

EUROPEN FOOD SAFETY AUTHORITY. Scientific Opinion on lactose thresholds in lactose intolerance and galactosaemia. **EFSA Journal**, v. 8, n. 9, p. 1–29, 2010.

FENNEMA, O. R.; SRINIVASAN D.; KIRK, L. P. Química de Alimentos de Fennema. Tradução Adriano Brandelli (et al.). 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2010. 900p.

FERNÁNDEZ, E.; SCHEBOR, C.; CHIRIFE, J. Glass transition temperature of regular and lactose hydrolyzed milk powders. **LWT - Food Science and Technology**, v. 36, n. 5, p. 547–551, 2003.

FITZPATRICK, J. J.; HODNETT, M.; TWOMEY, M.; CERQUEIRA, P. S. M.; O'FLYNN, J.; ROOS, Y. H. Glass transition and the flowability and caking of powders containing amorphous lactose. **Powder Technology**, v. 178, n. 2, p. 119–128, 2007.

FOX, P. F.; MCSWEENEY, P. L. H. **Dairy Chemistry and Biochemistry**. [s.l]: [s.n.], 1998.

GELDER, J. de; GUSSEM, K. de; VANDENABEELE, P; MOENS, L. Reference database of Raman spectra of biological molecules, **Journal of Raman Spectroscopy**. 38 (2007) 1133 – 1147. DOI: 10.1002/jrs.1734.

GERBAULT, P. et al. Evolution of lactase persistence: an example of human niche construction. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 366, n. 1566, p. 863–877, 2011.

HARJU, M.; KALLIOINEN, H.; TOSSAVAINEN, O. Lactose hydrolysis and other conversions in dairy products: Technological aspects. **International Dairy Journal**, v. 22, n. 2, p. 104–109, 2012.

HOGAN, S. A; O'CALLAGHAN, D.J. Influence of milk proteins on the development of lactose-induced stickiness in dairy powders. **International Dairy Journal**. v. 20, p. 212–221. 2010.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE. Produção da Pecuária Municipal. v. 42, p. 1 – 63, 2014.

IKAN, R. The Maillard reaction: consequences for the chemical and life sciences. Hebrew University of Jerusalem, Israel: John Wiley & Sons Ltd, 1996. 214p.

INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION (IDF). The World Dairy Situation 2015. **Bulletin of the International Dairy Federation**, p. 260, 2015.

JOUPPILA, K.; KANSIKAS, J.; ROOS, Y. H. Glass Transition, Water Plasticization, and Lactose Crystallization in Skim Milk Powder. **Journal of Dairy Science**, v. 80, n. 12, p. 3152–3160, 1997.

JOUPPILA, K.; ROOS, Y. H. Water sorption and time-dependent phenomena of milk powders. **Journal of Dairy Science**, v. 77, n. 7, p. 1798-1808, 1994a.

JOUPPILA, K.; ROOS, Y. H. Glass Transitions and Crystallization in Milk Powders. **Journal of Dairy Science**, v. 77, n. 10, p. 2907–2915, 1994b.

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

LE, T. T., et al. Maillard reaction and protein cross-linking in relation to the solubility of milk powders. **Journal of agricultural and food chemistry**. v. 59, n. 23, p. 12473-12479, 2011.

LE, T. T., Holland, J. W., Bhandari, B., Alewood, P. F., & Deeth, H. C. Direct evidence for the role of Maillard reaction products in protein cross-linking in milk powder during storage. **International Dairy Journal**, v. 31, n. 2, p. 83-91. 2013

LEITE, J. T. C.; MURR, F. E. X.; PARK, K. J. Transições de fases em alimentos: influência no processamento e na armazenagem. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v. 7, p. 83–96, 2005.

LONGO, G. **Influência da adição de lactase na produção de iogurtes**. s.l: s.n., 2006.

LULE, V. K.; GARG, S.; TOMAR, S. K.; DAIRY, N. Food Intolerance : Lactose Intolerance. **Encyclopedia of Food and Health**, n. September 2015, p. 43–48, 2016.

MAHDAD-BENZERDJEB, A; TALEB-MOKHTARI, I.N; SEKKAL-RAHAL, M. Normal coordinates analyses of disaccharides constituted by d-glucose, d-galactose and d-fructose units, **Spectrochim. Acta – Part A Mol. Biolmol. Spectrosc.** v. 68, p. 284-299. 2007.

MARTINS, S. I. F. S.; JONGEN, W. M. F.; VAN BOEKEL, M. A. J. S. A review of Maillard reaction in food and implications to kinetic modelling. **Trends in Food Science & Technology**, v. 11; p. 364–373, 2001.

MEGAZYME. **LACTOSE & D-GALACTOSE (Rapid)**. [s.l: s.n.], 2014.

MIMOUNI, A; DEETH, H. C; WHITTAKER, A. K; GIDLEY, M. J; BHANDARI, B. R. Rehydration process of milk protein concentrate powder monitored by static light scattering. **Food Hydrocolloids**, v. 23, n. 7, p. 1958-1965, 2009.

MINTEL. **Cresce o lançamento de produtos sem lactose no Brasil**. Disponível em: <<http://brasil.mintel.com/blog/noticias-mercado-alimentos-bebidas/cresce-lancamento-de-produtos-sem-lactose-no-brasil>>. Acesso em: 8 mai. 2016.

MORLOCK, G. E.; MORLOCK, L. P.; LEMO, C. Streamlined analysis of lactose-free dairy products. **Journal of Chromatography A**, v. 1324, p. 215–223, 2014.

MOTA, K.; MOREIRA, M.; COELHO, L. H.; PERINI, C. C.; KARAM, L. B. Produção de doce de leite com teor reduzido de lactose por beta-galactosidase. **Revista Acadêmica de Ciências Agrárias e Ambientais.**, v. 7, n. 4, p. 375–382, 2009.

NUNES, C. S.; BAPTISTA, A. O. Implicações da reação de Maillard nos alimentos e nos sistemas biológicos. *Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias*, v. 96, n. 538, p. 53-59, 2001.

PATEL, K.; CHEN, X. D.; JEANTET, R.; SCHUCK, P. One-dimensional simulation of co-current, dairy spray drying systems – pros and cons. **Dairy Science & Technology**, v. 90, n. 2-3, p. 181–210, 2010.

PERRONE, I. T; STEPHANI, R; NEVES, B.S. **Doce de Leite: aspectos tecnológicos**. Juiz de Fora: Do autor, 186p., 2011.

PROZYN. **Produtos com baixa lactose**. Informação técnica. 2010. Disponível em: <<http://www.prozyn.com.br>>. Acesso em: 15 mai. 2015.

RICHMOND, M. L.; GRAY, J. I.; STINE, C. M. Beta-Galactosidase: Review of Recent Research Related to Technological Application, Nutritional Concerns, and Immobilization. **Journal of Dairy Science**, v. 64, p. 1759–1771, 1981.

RODRIGUES JÚNIOR, P. H. **Utilização de FT-Raman e ferramentas quimiométricas na determinação rápida de fraude por maltodextrina e hidrólise da lactose em leite em pó**. 2015. 43 f. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2015.

RODRIGUES JUNIOR, P. H. et al. FT-Raman and chemometric tools for rapid determination of quality parameters in milk powder: Classification of samples for the presence of lactose and fraud detection by addition of maltodextrin. **Food Chemistry**, v. 196, p. 584–588, 2016.

RONG, Q.; CHENG YU, H.; HUIZHANG, D.; GUO, Z.; LING, L.; SHENG, Y. Milk consumption and lactose intolerance in adults. **Biomedical and Environmental Sciences**, v. 24, n. 5, p. 512-517, 2011

ROOS, Y.H. Melting and glass transitions weight carbohydrates of low molecular. **Carbohydrate Research**, v. 238, p. 39–48, 1993.

ROOS, Y.H. Importance of glass transition and water activity to spray drying and stability of dairy powders. **Lait**, v. 82, p. 475–484, 2002.

ROOS, Y.H.; KAREL, M. Plasticizing Effect of Water on Thermal Behavior and Crystallization of Amorphous Food Models. **Journal of Food Science**, v. 56, n. 1, p. 38–43, 1991.

RUIZ-MATUTE, A. I.; CORZO-MARTÍNEZ, M.; MONTILLA, A.; OLANO, A.; COPOVI, P.; CORZO, N. Presence of mono-, di- and galactooligosaccharides in commercial lactose-free UHT dairy products. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 28, n. 2, p. 164–169, 2012.

SCHUCK, P. Spray Drying of dairy products: state of the art. **Lait**, v. 82, p. 375–382, 2002.

SCHUCK, P. Understanding the factors affecting spray-dried dairy powder properties and behavior. In: CORREDIG, M. (Ed.). **Dairy-derived ingredient**. Cambridge ed. France: Woodhead Publishing Limited, 2009. p. 752.

SCHUCK, P. **Material Didático do Curso: Concentration, Crystallization, Spray Drying e Rehydration**. Viçosa, 2016.

SCHUCK, P.; BLANCHARD, E.; DOLIVET, A.; MÉJEAN, S.; ONILLON, E.; JEANTET, R. Water activity and glass transition in dairy ingredients. **Lait**, v. 85, p. 295–304, 2005a.

SCHUCK, P.; MÉJEAN, S.; DOLIVET, A.; JEANTET, R. Thermohygrometric sensor: A tool for optimizing the spray drying process. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 6, n. 1, p. 45–50, 2005b.

SCHUCK, P.; PERRONE, I. T.; CARVALHO, A. F.; SILVEIRA, A. C. P.; TORRES, J. K. F.; BUENO, R. G. Concentração e secagem de produtos lácteos difíceis. **Indústria de Laticínios**, v. 115, p. 66–68, 2015.

SCHUCK, P.; ZHU, P.; MEJEAN, S.; BLANCHARD, E. JEANTET, R. Prediction of dry mass glass transition temperature and the spray drying behaviour of a concentrate using a desorption method. **Journal of Food Engineering**, v. 105, n. 3, p. 460-467, 2011.

SHARMA, A.; JANA, A. H.; CHAVAN, R. S. Functionality of Milk Powders and Milk-Based Powders for End Use Applications-A Review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 11, n. 5, p. 518–528, 2012.

SHIH, C; LUPOI, J.S; SMITH, E.A. Bioresource Technology Raman spectroscopy measurements of glucose and xylose in hydrolysate: role of corn stover pretreatment and enzyme composition, **Bioresource Technology**. v. 102, p. 5169-5176. 2011.

SHRESTHA, A. K.; HOWES, T.; ADHIKARI, B. P.; BHANDARI, B. R. Water sorption and glass transition properties of spray dried lactose hydrolysed skim milk powder. **LWT - Food Science and Technology**, v. 40, n. 9, p. 1593–1600, 2007.

SILVEIRA, A. C. P; PERRONE, Í. T; RODRIGUES JÚNIOR, P. H; CARVALHO, A. F. DE. Secagem por Spray drying: uma revisão. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 68, n. 391, p. 51–58, 2013.

SWALLOW, D. M. Genetics of lactase persistence and lactose intolerance. **Annual review of genetics**, v. 37, p. 197–219, 2003.

TERRA, F. M. **Teor de lactose em leites fermentados por grãos de Kefir**. 2007. Universidade de Brasília, Brasília, 2015.

VÉNICA, C. I.; BERGAMINI, C. V; ZALAZAR, C. A; PEROTTI, M. C. Effect of lactose hydrolysis during manufacture and storage of drinkable yogurt. **Journal of food and nutritional disorders**, v. 2, n. 5, p. 1–7, 2013.

WALSTRA, P.; GEURTS, T.; NOOMEN, A.; JELLEMA, A.; BOEKELL, M. A. J. S. **Ciência de la leche y tecnología de los productos lácteos**. 2 nd. ed. Zaragoza, 2001.

WALSTRA, P.; WOUSTERS, J. T. M.; GEURTS, T. J. **Food Science and Technology**. New York: Taylor and ed, 2006.

YAZDANPANA, N; LANGRISH, T. a G. Fast crystallization of lactose and milk powder in fluidized bed dryer/crystallizer. **Dairy Science and Technology**. v. 91, p. 323–340. 2011.

YILDIZ, F. **Advances in food biochemistry**. New York: CRC Press, 2010. 507p.