

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

Igor Lima de Paula

**Produção e caracterização de produtos lácteos em pó de búfala com e sem
hidrólise da lactose**

Juiz de Fora

2021

Igor Lima de Paula

**Produção e caracterização de produtos lácteos em pó de búfala com e sem
hidrólise da lactose**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Química, da Universidade Federal de Juiz de Fora como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Química. Área de concentração: Físico-Química.

Orientador: Prof. Dr. Luiz Fernando Cappa de Oliveira

Coorientador: Prof. Dr. Rodrigo Stephani

Juiz de Fora

2021

Ficha catalográfica elaborada através do programa de geração automática da Biblioteca Universitária da UFJF, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Paula, Igor Lima de.

Produção e caracterização de produtos lácteos em pó de búfala com e sem hidrólise da lactose / Igor Lima de Paula. -- 2021.
69 p. : il.

Orientador: Luiz Fernando Cappa de Oliveira

Coorientador: Rodrigo Stephani

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de Juiz de Fora, Instituto de Ciências Exatas. Programa de Pós-Graduação em Química, 2021.

1. Produtos lácteos em pó. 2. Espectroscopia Raman. 3. Propriedades físico-químicas. 4. Hidrólise da lactose. I. Oliveira, Luiz Fernando Cappa de, orient. II. Stephani, Rodrigo, coorient. III. Título.

Igor Lima de Paula

Produção e caracterização de produtos lácteos em pó de búfala com e sem hidrólise da lactose

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de Juiz de Fora como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Química.
Área de concentração: Físico-química.

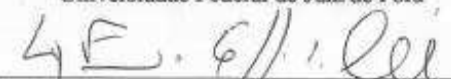
Aprovada em 01 de março de 2021.

BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Luiz Fernando Cappa de Oliveira - Orientador

Universidade Federal de Juiz de Fora



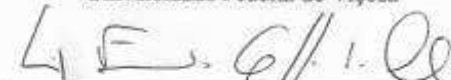
Prof. Dr. Rodrigo Stéphani - Coorientador

Universidade Federal de Juiz de Fora



Prof. Dr. Antônio Fernandes de Carvalho

Universidade Federal de Viçosa



Prof. Dr. Gustavo Fernandes Souza Andrade

Universidade Federal de Juiz de Fora

Dedico este trabalho à minha mãe e àqueles que direta ou indiretamente sempre estiveram ao meu lado ao longo desses últimos anos.

AGRADECIMENTOS

Inicialmente, eu gostaria de agradecer à minha mãe por todo o apoio e carinho ao longo dos anos, sem você não seria nada fácil chegar até aqui, eu te amo. Gostaria de agradecer também ao meu pai (*in memoriam*), pelos momentos que passamos juntos, guardo com todo o carinho cada momento passado com o senhor.

Gostaria de agradecer também aos meus padrinhos, por todas as palavras de incentivo e apoio ao longo da minha jornada, não só acadêmica, como pessoal também. Aos meus irmãos, por todas as risadas e momentos vividos juntos, vocês também fazem parte disso. Aos meus avós, por me mostrarem que a força de vontade é uma das principais virtudes do ser humano.

À minha namorada, Camila, por me incentivar a cada momento, sempre acreditando no meu potencial e me ajudando a me tornar uma pessoa melhor. Obrigado por ser essa pessoa tão especial em minha vida, ela se tornou melhor após te conhecer.

Agradeço também a todos os meus tios, seja de laços sanguíneos e os de coração, vocês também me ajudaram a chegar até aqui, parte do que sou hoje vem de ensinamentos obtidos ao lado de vocês.

Agradeço também meus primos, principalmente Bruna, Lucas, Anna Júlia e Murilo, por tudo que passamos juntos, cada sorriso ao lado de vocês é especial. Agradeço meus amigos de anos, em especial Luís Felipe, Matheus e Arthur por cada vez que ficamos sentados jogando conversa fora, devo muito a vocês. Aos meus amigos de curso e principalmente, aos que fiz no NEEM e no QuimTec, cada dia ao lado de vocês foi prazeroso.

Gostaria de agradecer também ao meu orientador, Professor Dr. Luiz Fernando Cappa de Oliveira, e meu co-orientador Professor Dr. Rodrigo Stephani, por todo o apoio e principalmente pela confiança e ensinamentos transmitidos, parte do que sou hoje profissionalmente é devido ao que aprendi com os senhores.

Aos demais professores do QuimTec, por me ensinarem muito mais do que ciência, as conversas compartilhadas com vocês foram marcantes ao longo da minha vida acadêmica.

Agradeço também a todos os professores e funcionários do Departamento de Química da UFJF. Agradeço aos professores da banca de Defesa de Mestrado Dr. Gustavo Fernandes Souza Andrade e Dr. Antônio Fernandes de Carvalho pela disposição e interesse em contribuir para o melhor desenvolvimento deste projeto.

Por fim, gostaria de agradecer às agências de fomento, CAPES, CNPq e FAPEMIG pelo financiamento que possibilitou a realização desse projeto, e à Universidade Federal de Juiz de Fora, onde cursei não só meu curso de mestrado, como também as minhas graduações.

“It is our choices that show what we truly are, far more than our abilities.” (Rowling, 1998, p. 211).

RESUMO

O leite de búfala é o segundo leite mais consumido no mundo, perdendo apenas para o leite de vaca. Ele apresenta uma composição físico-química bastante diferenciada, que permite um melhor rendimento industrial na produção de derivados. Embora grande parte da produção leiteira seja convertida em derivados, os produtos lácteos em pó de búfala são pouco produzidos hoje no mundo, gerando assim, poucos estudos sobre as características físico-químicas e microestruturais do produto em pó. Com isso, o objetivo deste trabalho consiste na fabricação de produtos lácteos em pó de búfala com e sem hidrólise da lactose, além de estudar como diferentes condições de estocagem pode interferir em diversas características que são consideradas fundamentais para um bom produto. Foram realizadas análises físico-químicas nos produtos após a sua produção (atividade de água, umidade, gordura livre e total, concentração de açúcares), visando entender as características dos produtos formados. Foi estudado, também, como a variação da temperatura, em duas condições de estocagem distintas (21 °C e 50 °C), poderia modificar características como a reidratação do pó, a sua coloração e a sua morfologia. Além disso, foi estudado como a estocagem do produto em diferentes umidades relativas do ar (11,1%; 33,1%; 43,2%; 54,4%; 75,5%) poderia favorecer a cristalização da lactose por meio das técnicas de isoterma de sorção, espectroscopia Raman e quimiometria. Com as análises de caracterização do produto, foi possível perceber que os produtos apresentam bons resultados de atividade de água (0,1705; 0,1672; 0,1737 para T1, T2 e T3 respectivamente) e que o produto que sofreu hidrólise de lactose apresentou maior valor de umidade 4,52, enquanto T1 apresentou 3,30 e T3 3,88. Já o tratamento que sofreu hidrólise da lactose e foi adicionado de maltodextrina, apresentou menor concentração de gordura (22,92%), e o produto tradicional apresentou um maior resultado de gordura livre (5,67%). Vale destacar também que a hidrólise da lactose foi de cerca de 98% nos dois tratamentos que sofreram a quebra deste açúcar. O tratamento sem hidrólise da lactose apresentou melhores resultados de cor e reidratação, comparado aos produtos que sofreram hidrólise da lactose, seguido do produto hidrolisado que sofreu a adição de maltodextrina. Os resultados dos produtos armazenados em condição de estocagem que sofreram variação da temperatura, mostraram que os produtos armazenados em 50 °C apresentaram maior avanço da coloração, fato colaborado pelos resultados obtidos nas análises de HMF livre,

colorimetria e índice de escurecimento, além de apresentar uma pior capacidade de reidratação como observado pela análise de tamanho de partículas, se comparados aos produtos armazenados em temperatura de 21 °C. Vale destacar também que, a morfologia dos pós não sofreu modificações devido à variação da temperatura durante o armazenamento. Analisando o grupo que foi armazenado em diferentes umidades relativas do ar, é possível concluir que quanto maior a umidade do ambiente, mais facilmente ocorre a cristalização da lactose no produto, fato comprovado pelas técnicas utilizadas de isoterma de sorção e espectroscopia Raman acompanhada da quimiometria.

Palavras-chaves: Produtos lácteos em pó. Espectroscopia Raman. Propriedades físico-químicas. Hidrólise da lactose. Reidratação. Morfologia.

ABSTRACT

Buffalo milk is the second most consumed milk in the world, second only to cow's milk. It presents a very differentiated physical-chemical composition, which allows a better industrial performance in the production of derivatives. Although a large part of dairy production is converted into dairy products, buffalo powdered dairy products are poorly produced in the world today, thus generating few studies on the physical-chemical and microstructural characteristics of the powdered product. Thus, the objective of this work consists of the manufacture of buffalo milk powder products with and without lactose hydrolysis, in addition to studying how different storage conditions can interfere in several characteristics that are considered fundamental for a good product. Physical-chemical analyzes were carried out on the products after their production (water activity, moisture, free and total fat, sugar concentration), in order to understand the characteristics of the products formed. It was also studied how the temperature variation, in two different storage conditions (21 ° C and 50 ° C), could modify characteristics such as the rehydration of the powder, its color and its morphology. In addition, it was studied how the storage of the product in different relative humidity of the air (11.1%; 33.1%; 43.2%; 54.4%; 75.5%) could favor the crystallization of lactose through sorption isotherm, Raman spectroscopy and chemometry techniques. With the product characterization analyzes, it was possible to notice that the products present good results of water activity (0.1705; 0.1672; 0.1737 for T1, T2 and T3 respectively) and that the product that underwent lactose hydrolysis presented a higher humidity value of 4.52, while T1 presented 3.30 and T3 3.88. The treatment that underwent lactose hydrolysis and was added with maltodextrin, showed a lower concentration of fat (22.92%), and the traditional product showed a higher result of free fat (5.67%). It is also worth noting that lactose hydrolysis was around 98% in the two treatments that suffered the breakdown of this sugar. The treatment without lactose hydrolysis showed better color and rehydration results, compared to products that underwent lactose hydrolysis, followed by the hydrolyzate product that underwent the addition of maltodextrin. The results of products stored in storage conditions that suffered temperature variation, showed that products stored at 50 ° C showed greater color advancement, a fact that contributed to the results obtained in the analysis of free HMF, colorimetry and darkening index, in addition to presenting a worse rehydration capacity as observed by particle size analysis, when compared to products stored at a temperature of 21 ° C. It is also worth mentioning that

the powder morphology did not change due to the temperature variation during storage. Analyzing the group that was stored in different relative humidity of the air, it is possible to conclude that the higher the humidity of the environment, the more easily the lactose crystallizes in the product, a fact confirmed by the techniques used of sorption isotherm and Raman spectroscopy accompanied by chemometric.

Keywords: Powdered dairy products. Raman spectroscopy. Physicochemical properties. Lactose hydrolysis. Rehydration. Morphology.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Hidrólise da lactose em presença da enzima lactase.....	24
Figura 2 - Desenho experimental do projeto.	32
Figura 3 - Imagem do tratamento T1, onde não é possível perceber a formação de grumos na câmara de secagem em A e, imagem do tratamento T3 antes da diluição, onde é possível observar a formação de um grumo de tamanho elevado em B.	41
Figura 4 - Coloração dos três tratamentos após 21 dias de estocagem nas condições C1 (21 °C) em A e C2 (50 °C) em B.	47
Figura 5 - Distribuição do tamanho de partículas para os tratamentos T1 (preto), T2 (vermelho) e T3 (rosa) nas condições de estocagem C1 (21 °C por 21 dias) em A e C2 (50 °C por 21 dias) em B.	51
Figura 6 - Microscopia eletrônica de varredura para os três tratamentos na condição de estocagem C1 (21 °C).	53
Figura 7 - Microscopia eletrônica de varredura para os três tratamentos na condição de estocagem C2 (50 °C).	54
Figura 8 - Isoterma de sorção para os tratamentos sem hidrólise da lactose (T1), com hidrólise da lactose (T2) e com hidrólise da lactose + maltodextrina (T3). ..	56
Figura 9 - Espectro Raman do tratamento sem hidrólise da lactose (T1) após a produção com as principais bandas marcadas.	57
Figura 10 - Espectro Raman representando os três estados físicos da lactose para o produto sem hidrólise da lactose (T1) ao longo das 9 semanas de análise e em cinza a região que sofre modificação durante o processo de cristalização da lactose que foi utilizada para realizar o PCA.	59
Figura 11 - Separação dos estados físicos da lactose por análise de componentes principais em A e representação dos estados físicos da lactose para tratamento sem hidrólise da lactose (T1) em B e representação dos estados físicos da lactose para os tratamentos com hidrólise da lactose (T2) e com hidrólise da lactose + maltodextrina (T3) em C.	60

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Composição de macronutrientes no leite de búfala produzidos na China em comparação com o leite de vaca.	20
Tabela 2 - Composição mineral no leite de búfala em mg.100g ⁻¹ de leite.	21
Tabela 3 - Resultados de atividade de água e umidade após a produção.	43
Tabela 4 - Resultados de gordura total e gordura livre dos produtos após a produção. .	45
Tabela 5 - Resultado para a composição de açúcares dos pós.....	46
Tabela 6 - Resultados das análises de HMF livre, colorimetria e índice de escurecimento para os três tratamentos nas condições de estocagem C1 e C2.....	49
Tabela 7 - Resultados da análise de tamanho de partículas para as amostras nas condições de estocagem C1 e C2.....	50
Tabela 8 - Resultados de índice de polidispersividade para as amostras armazenadas nas condições C1 e C2.	55
Tabela 9 - Tentativa de atribuição do espectro Raman do tratamento sem hidrólise da lactose (T1) após a produção.	58

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Tg	transição vítrea
DE	equivalente de dextrose
UHT	<i>ultra high temperature</i>
MEV	microscopia eletrônica de varredura
EDS	espectroscopia de energia dispersiva por raios-X
T1	tratamento tradicional
T2	tratamento hidrolisado
T3	tratamento hidrolisado + maltodextrina
C1	condição de estocagem em temperatura controlada de 21 °C em embalagem plástica e caixa apropriada por 21 dias
C2	condição de estocagem em temperatura controlada de 50 °C e umidade relativa do ar <10% por 21 dias
C3	condição de estocagem em temperatura controlada de 21 °C em dessecadores com diferentes umidades relativas do ar por 9 semanas
G1	grupo de análises realizadas nas condições de estocagem que variaram a temperatura do armazenamento
G2	grupo de análises realizadas nas condições de estocagem que variaram a umidade relativa do ar
HMF	5-hidroximetilfurfural
SCI	<i>specular component included</i>
L	parâmetro de luminosidade da colorimetria
a*	parâmetro que varia de verde (-) a vermelho (+) para a colorimetria
b*	parâmetro que varia de azul (-) a amarelo (+) para a colorimetria
IE	índice de escurecimento
LS	análise de tamanho de partículas por difração a laser
PDI	índice de polidispersividade
d ₉₀	90% das partículas que possuem valores iguais ou inferiores aos resultados encontrados
d ₅₀	50% das partículas que possuem valores iguais ou inferiores aos resultados encontrados
d ₁₀	10% das partículas que possuem valores iguais ou inferiores aos resultados encontrados

LiCl	cloreto de lítio
MgCl ₂	cloreto de magnésio
K ₂ CO ₃	carbonato de potássio
Mg(NO ₃) ₂	nitrate de magnésio
NaCl	cloreto de sódio
Ge	germânio
PCA	análise de componentes principais
a _w	atividade de água

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	19
1.1	COMPOSIÇÃO DO LEITE DE BÚFALA	19
1.2	LACTOSE.....	22
1.2.1	O estado físico da lactose	22
1.2.2	Intolerância à lactose	23
1.2.3	Hidrólise da lactose	24
1.3	PRODUTOS LÁCTEOS EM PÓ E CARACTERÍSTICAS DO PRODUTO	25
1.4	TÉCNICAS ANALÍTICAS	27
1.4.1	Espectroscopia Raman	27
1.4.2	Análise de tamanho de partículas por difração a laser	29
1.4.3	Microscopia eletrônica de varredura	30
2	OBJETIVOS	31
2.1	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	31
3	METODOLOGIA	32
3.1	RECONSTITUIÇÃO DOS PÓS.....	33
3.2	SECAGEM	33
3.3	CARACTERIZAÇÃO DO PRODUTO	33
3.3.1	Atividade de água.....	34
3.3.2	Umidade	34
3.3.3	Gordura total.....	34
3.3.4	Gordura livre.....	35
3.3.5	Composição dos açúcares	35
3.4	ARMAZENAMENTO DOS PRODUTOS EM PÓ	36
3.5	GRUPO 1: VARIAÇÃO DA TEMPERATURA NAS CONDIÇÕES DE ESTOCAGEM	36

3.5.1	HMF livre	37
3.5.2	Colorimetria e índice de escurecimento	37
3.5.3	Análise de tamanho de partículas por difração a laser (LS).....	38
3.5.4	Microscopia eletrônica de varredura e índice de polidispersividade	38
3.6	GRUPO 2: VARIAÇÃO DA UMIDADE NAS CONDIÇÕES DE ESTOCAGEM	39
3.6.1	Isoterma de sorção	39
3.6.2	Espectroscopia Raman	40
3.6.3	Quimiometria	40
4	RESULTADOS	41
4.1	CARACTERIZAÇÃO DOS PRODUTOS	42
4.1.1	Atividade de água e umidade	42
4.1.2	Gordura total e gordura livre	44
4.1.3	Composição de açúcares	45
4.2	GRUPO 1: VARIAÇÃO DA TEMPERATURA NAS CONDIÇÕES DE ESTOCAGEM	46
4.2.1	HMF livre, colorimetria e índice de escurecimento	47
4.2.2	Análise de tamanho de partículas por difração a laser	50
4.2.3	Microscopia eletrônica de varredura e índice de polidispersividade	52
4.3	GRUPO 2: VARIAÇÃO DA UMIDADE NAS CONDIÇÕES DE ESTOCAGEM	55
4.3.1	Isoterma de sorção	55
4.3.2	Espectroscopia Raman e quimiometria	56
5	CONCLUSÃO	62
	REFERÊNCIAS.....	64

1 INTRODUÇÃO

O leite de búfala é o segundo leite mais produzido no mundo com cerca de 14% da produção mundial, ficando atrás apenas do leite de vaca, com aproximadamente 81% (ALVES *et al.*, 2020; GUO *et al.*, 2019). Os maiores produtores desse tipo de leite se encontram na Ásia, principalmente na Índia, Paquistão e China (HAN *et al.*, 2007).

Na América do Sul, os três maiores produtores de leite de búfala são Brasil, Argentina e Colômbia (BARRAGÁN-HERNÁNDEZ *et al.*, 2019). O leite bubalino no país é importante em pequenas e médias propriedades rurais, garantindo a produtividade e a permanência do produtor rural (FIGUEIREDO; JÚNIOR; TORO, 2010).

Embora o leite de búfala seja amplamente produzido ao redor do mundo, sua utilização tem maior destaque na produção de derivados lácteos, principalmente manteiga, queijos moles e duros, leite condensado e evaporado, além de creme de leite e iogurte (AHMAD *et al.*, 2008). Já no Brasil, um dos principais produtos lácteos produzidos a partir do leite de búfala é o requeijão (TEIXEIRA; BASTIANETTO; OLIVEIRA, 2005). Essa grande demanda na produção de derivados é decorrente principalmente do seu maior rendimento industrial na produção de derivados, por exemplo, são necessários cerca de 14 litros de leite de búfala pra produzir 1 quilograma de manteiga, ao comparar com o leite de vaca, são necessários mais de 20 litros para produção da mesma quantidade de manteiga (TEIXEIRA; BASTIANETTO; OLIVEIRA, 2005).

As características do leite bubalino apresentam muitas diferenças comparado ao leite de vaca, essas diferenças permitem uma identificação simples, visto que produto é mais adocicado se comparado ao leite bovino devido à maior concentração de lactose no produto, além de apresentar uma coloração mais esbranquiçada devido à ausência de caroteno (ANDRADE, 2015).

Entre todas as diferenças existentes entre os dois principais tipos de leites, a composição centesimal é a que apresentam maior impacto, como por exemplo um maior valor de gordura, proteína e alguns sais (PATEL; MISTRY, 1997).

1.1 COMPOSIÇÃO DO LEITE DE BÚFALA

Devido ao fato de o leite ser produzido para alimentar seus filhotes, existe a possibilidade de ocorrência de flutuações na sua composição, acarretando assim

modificações composicionais. Essa composição pode ser fortemente influenciada pela dieta do mamífero, a sua genética, o estágio de maturação, o manejo, questões ambientais e até mesmo fatores como número de filhotes e a idade do animal (BARRAGÁN-HERNÁNDEZ *et al.*, 2019; BORGES *et al.*, 2017; CAVALCANTE *et al.*, 2019).

A composição físico-química do leite de búfala é bastante diferentes da composição do leite bovino e de outras espécies, tanto nos macronutrientes, como nos micronutrientes encontrados nos dois leites (ALVES *et al.*, 2020). A Tabela 1 mostra a composição média de macronutrientes encontrados no leite de búfala da China em comparação com o leite de vaca.

Tabela 1- Composição de macronutrientes no leite de búfala produzidos na China em comparação com o leite de vaca.

Parâmetros	Leite de Búfala	Leite de Vaca
Gordura (% v.v ⁻¹)	7,59	3,70
Proteína (% m m ⁻¹)	4,86	3,40
Lactose (% m m ⁻¹)	4,74	4,60
Cinzas (% m m ⁻¹)	0,85	0,80

Fonte: Adaptado de (DAMODARAN; PARKIN, 2017; HAN *et al.*, 2007).

O maior percentual de gordura encontrada no leite de búfala está relacionada à presença de ácidos graxos poli-insaturados, que são importantes no desenvolvimento de nutrientes que apresentam ações preventivas sobre alguns tipos de patógenos (BUSTAMANTE; CAMPOS; SÁNCHEZ, 2017). No leite essa gordura é dispersa na forma de gotículas esféricas (glóbulos de gordura), cuja a distribuição do tamanho de partículas podem variar entre as diferentes espécies de leite (MÉNARD *et al.*, 2010). Cerca de 23,7% dos glóbulos de gordura no leite de búfala apresentam tamanho entre 1 e 4 μm , porém cerca de 35,2% apresentam tamanho de maior que 6 μm (ALVES *et al.*, 2020).

As proteínas encontradas no leite podem ser divididas em dois grupos, as caseínas e as soro proteínas, uma parte pequena da população pode produzir reações alérgicas a algumas dessas proteínas, em especial a β -caseína A1 (BARBOSA *et al.*, 2019). A β -caseína A1 é amplamente encontrada em leite bovino, porém a mesma não é encontrada em leite de outras espécies como leite de búfala, camela e cabra, tornando o consumo

desses leite uma ótima ferramenta para indivíduos que apresentam alergia a este determinado componente do leite (HINZ *et al.*, 2012).

O teor de cinzas encontrado em um produto lácteo é a soma de todos os minerais presentes no produto (IMRAN *et al.*, 2008). A concentração dos principais minerais encontrados no leite de búfala produzidos no Índia são representados na Tabela 2.

Tabela 2 - Composição mineral no leite de búfala em mg.100g⁻¹ de leite.

Minerais	Concentração (mg.100g ⁻¹ de leite)
Cálcio	204,23
Fósforo	117,45
Potássio	118,05
Magnésio	23,53
Ferro	0,11
Manganês	0,05
Zinco	0,51
Sódio	42,39

Fonte: Adaptado de (SINGH *et al.*, 2019).

O cálcio é um elemento fundamental para a função de mineralização dos ossos e dentes, além de várias reações fisiológicas e bioquímicas dos seres vivos, o potássio tem um papel importante na pressão osmótica, no equilíbrio ácido-base e também participa do metabolismo de carboidratos e proteínas, já o sódio é essencial no tecido muscular e nervoso dos mamíferos, além desses íons, outros apresentam papéis importantes nas condições de vida dos jovens mamíferos como o fósforo, magnésio, ferro, manganês e zinco (CHEN *et al.*, 2020).

No leite esses elementos estão distribuídos de formas distintas, seja na forma solúvel, seja na forma coloidal, principalmente associados as micelas de caseína (BIJL *et al.*, 2013).

O teor de cálcio encontrado no leite de búfala é cerca de 1,5 vezes maior que o teor no leite bovino e tem maior concentração na fase coloidal, estando associado a micela de caseína, o teor de magnésio é 2 vezes maior que no leite de vaca e também se encontra em maior concentração na fase coloidal. A concentração de fósforo é maior no leite de búfala, onde 67% está na fase coloidal do leite, porém os elementos sódio (98%) e

potássio (93%) estão presentes em maior concentração na fase solúvel, por fim os outros elementos citados na Tabela 2 (ferro, manganês e zinco) estão associados também a fase coloidal (SINGH *et al.*, 2019).

Vale ressaltar que a concentração desses minerais presentes no leite de búfala e até mesmo de outras espécies também sofrem variações devido à época do ano, ao período de amamentação, doenças como mastite, alimentação e outros fatores (DUNSHEA *et al.*, 2019; EL ZUBEIR; ELOWNI; MOHAMED, 2005; SCHRYVER *et al.*, 1986).

De todos os componentes presentes no leite discutidos nas tabelas 1 e 2, um que precisa de uma discussão mais detalhada devido ao grau de importância no processo de produção de produtos lácteos em pó é a lactose (SAXENA *et al.*, 2021).

1.2 LACTOSE

A lactose é o principal carboidrato encontrado no leite e em seus derivados, é formado pela junção de dois monossacarídeos (galactose e glicose) formando assim um dissacarídeo (NEVES; OLIVEIRA, 2020). O leite de búfala apresenta 4,74% de lactose na sua constituição, valores próximos a concentração encontrada em leite de outras espécies de mamíferos (DAMODARAN; PARKIN, 2017; SINGH *et al.*, 2019).

1.2.1 O estado físico da lactose

O estado físico da lactose é importante para os derivados lácteos, principalmente os concentrados e desidratados, e pode apresentar duas estruturas, a cristalina e a amorfa (SAXENA *et al.*, 2021). A estrutura amorfa é molecularmente desordenada e apresentam uma alta viscosidade, além disso é higroscópica e muito sensível à umidade relativa do ar durante o processo de armazenamento desses produtos (MASUM *et al.*, 2020).

O avanço do tempo de armazenamento desses produtos, junto com o aumento da umidade relativa e a temperatura favorecem o processo de reorganização das moléculas de lactose no sistema, tornando a lactose cristalina (STEPHANI *et al.*, 2017). A lactose cristalizada interfere na estabilidade do produto final em diversas características físico-químicas como, reações de deterioração e oxidação, mudanças na viscosidade, escurecimento não enzimático, molhabilidade, entre outros, sendo necessário a manutenção do estado amorfo ao longo de todo o tempo de validade do produto em pó (OMAR; ROOS, 2007).

A mudança do estado amorfo para o estado cristalino é conhecida como transição vítrea (T_g). Essa transformação é reversível e acontece em uma temperatura específica (temperatura de transição vítrea). Quando o material de interesse se encontra abaixo dessa temperatura, suas moléculas encontram-se com a capacidade reduzida para proporcionar suas rotações e vibrações, além de apresentar limitações a suas transições moleculares, classificando o material como um sólido. Entretanto, quando a temperatura se encontra superior a T_g , o grau de liberdade das moléculas aumenta, tornando a classificação do produto em um líquido com alta viscosidade. O estado amorfo é metaestável, gerando assim uma maior propensão a mudar o estado físico da substância para o estado cristalino, que é mais estável termodinamicamente. O controle do estado físico da lactose, assim como a manutenção do estado amorfo durante a secagem e durante o armazenamento é importante para a área de lácteos (MASUM *et al.*, 2020; PAULA *et al.*, 2020).

1.2.2 Intolerância à lactose

Atualmente no mundo cerca de 70% da população adulta apresenta algum grau de intolerância à lactose, sendo a maior incidência em indivíduos encontrados na América do Sul, África e Ásia (FRANCISQUINI *et al.*, 2019; SANTOS *et al.*, 2018). Porém em países europeus a ocorrência da intolerância é menor, como no caso da Holanda que apenas 1% da população apresenta a intolerância (DEKKER; KOENDERS; BRUINS, 2019).

A intolerância à lactose é uma condição caracterizada pela pouca ou total incapacidade de digestão da lactose, devido aos baixos níveis de lactase presentes no corpo dos indivíduos intolerantes (FIALHO *et al.*, 2018; SURI *et al.*, 2019; TORRES *et al.*, 2017).

A presença dessa enzima no corpo humano pode ser afetada por diversos fatores como, idade, raça, integridade da membrana do intestino delgado e tempo de trânsito do intestino delgado (OAK; JHA, 2019). Dentre os principais sintomas se destacam, a distensão e dores abdominais, flatulências e diarreia ambos causados pela fermentação da lactose resultando na produção de gases como metano, dióxido de carbono e hidrogênio, além de ácidos graxos voláteis como o acético, butírico e propiônico que são responsáveis pela redução do pH do meio para valores abaixo de 5,5 (SILVA; GASPARIN, 2010; TORRES *et al.*, 2016).

1.2.3 Hidrólise da lactose

Devido aos crescentes números de pessoas que apresentam algum grau de intolerância a lactose, a indústria de alimentos precisou investir em mecanismos para reduzir a concentração desse carboidrato na composição de seus produtos. Atualmente são conhecidos dois mecanismos para realizar a hidrólise da lactose, a hidrólise química e a hidrólise enzimática (DE ALMEIDA *et al.*, 2015).

O primeiro mecanismo (hidrólise química) não é comumente utilizada na indústria de alimentos, devido a suas condições reacionais bastante elevadas como pH abaixo de 1,5 e temperaturas próximas a 150 °C, o que pode acarretar em problemas composicionais ao produto final (GÄNZLE; HAASE; JELEN, 2008). Entretanto a hidrólise enzimática é amplamente utilizada pela indústria de laticínios devido a sua facilidade de utilização. No mercado existem dois tipos de enzimas capazes de realizar a quebra da lactose, as lactases ácidas e as lactases neutras, a primeira é comumente utilizada por consumidores na forma de suplemento nutricional, enquanto que a segunda é usada em grande escala nas indústrias (DEKKER; KOENDERS; BRUINS, 2019).

Figura 1 - Hidrólise da lactose em presença da enzima lactase.



Fonte: (DAMODARAN; PARKIN, 2017).

A lactase (β -galactosidase) hidrolisa a lactose através da quebra das ligações β -glicosídicas em dois monossacarídeos, a glicose e a galactose (Figura 1), que são facilmente absorvidas pelo intestino delgado (FIALHO *et al.*, 2018; KLEIN; DE JONG; RÉVILLION, 2010). A glicose e a galactose formadas após a reação de hidrólise pode acarretar ao produto final reações de deterioração das proteínas, devido ao fato de que esses dois monossacarídeos reagem com a lisina (reação de Maillard) em uma taxa mais elevada que a lactose (NARANJO *et al.*, 2013).

1.3 PRODUTOS LÁCTEOS EM PÓ E CARACTERÍSTICAS DO PRODUTO

Durante este século, houve um interesse bastante elevado na conversão do leite e seus derivados em produtos lácteos em pó (ZOUARI *et al.*, 2020). Hoje em dia são produzidos diversos tipos de alimentos em pó, como por exemplo, vitaminas, enzimas, leite, caseínas, soro e caseinatos (HABTEGEBRIEL *et al.*, 2018). A técnica mais utilizada para realizar essa operação unitária é o *spray drying* (KHANJI *et al.*, 2018).

A conversão de produtos para sua forma em pó resolve diversos problemas relacionados à preservação e à segurança do produto, além de ressaltar o ganho do ponto de vista logístico, uma vez que transportar produtos em pó requer menor custo (DANTAS *et al.*, 2018; DE OLIVEIRA *et al.*, 2020; XU *et al.*, 2018).

Dentre os métodos de secagem mais usuais, a técnica de *spray drying* apresenta cerca de 10 vezes menos consumo energético que a liofilização (*freeze-drying*) e, ao contrário da técnica de secagem em tambor (*drum drying*), o produto não atinge altas temperaturas durante a evaporação da água (SILVA *et al.*, 2017)

A secagem via *spray dryer* consiste em pulverizar o líquido concentrado em pequenas gotículas através de um atomizador, em uma grande câmara de secagem contendo ar aquecido a cerca de 200 °C (essa temperatura pode variar de acordo com o produto a ser seco e irá controlar a taxa de transferência de massa e de energia entre as gotículas do produto e o ar de secagem) (BELLETTI *et al.*, 2009; SCHUCK *et al.*, 2005). A temperatura do produto situa-se entre a temperatura do atomizador e a temperatura do ar de saída, ou seja, permanece abaixo de 100 °C (SCHUCK *et al.*, 2009). Devido ao aumento da superfície de contato entre o produto e o ar, a água é evaporada rapidamente sem tratamento térmico excessivo (SILVA *et al.*, 2017).

Diversas características instrumentais e técnicas podem influenciar no processo de secagem, e influenciar assim as propriedades dos pós formados. Os principais parâmetros de secagem a ser controlados são: tipos de atomizador, pressão, temperatura do ar de entrada e de saída, umidade relativa do ar de entrada e saída, entre outros (OGOLLA *et al.*, 2019). Além disso, características do produto a ser seco também podem influenciar nas propriedades dos pós formados, como por exemplo a viscosidade do concentrado (DRAPALA *et al.*, 2017).

Uma das características a ser levada em conta para a produção de lácteos em pó é a temperatura de transição vítrea do produto. A secagem tem que ser realizada evitando que o produto alcance essa temperatura, ou seja, o produto formada precisa estar no estado

amorfo para apresentar características de conservação apropriadas (PERRONE *et al.*, 2011). A temperatura de transição vítrea do produto pode ser determinada como a média das transições vítreas de todos os seus componentes (PERRONE *et al.*, 2016).

Como discutido antes, a lactose apresenta um papel importante nas propriedades funcionais e físico-químicas dos produtos lácteos em pó. Ela pode acarretar modificações como aglomeração, piora da reidratação, aumento da coloração do produto e modificações na viscosidade e fluidez por exemplo (HABTEGEBRIEL *et al.*, 2018). Além disso a secagem de produtos lácteos com lactose hidrolisada pode gerar problemas durante a secagem, uma vez que o abaixamento da temperatura de transição vítrea pode gerar aglomeração no equipamento, acarretando em um baixo rendimento da produção (TORRES *et al.*, 2017). Com isso a indústria de alimentos utiliza auxiliares de secagem, que são produtos com altas massas molar e altas temperaturas de transição vítrea, dentre elas se destaca a maltodextrina que são oligossacarídeos, feitos de amido, que possuem equivalentes de dextrose (DE) inferiores a 20 (LANGRISH; CHAN; KOTA, 2007).

A temperatura de secagem também pode gerar modificações na sua microestrutura. A principal modificação estrutural está relacionada a formação de partículas rachadas ou até mesmo quebradas, outro problema recorrente é a não uniformidade nos tamanhos dessas partículas (CARIC, 1987).

A atividade de água e a umidade do produto também são fatores determinantes na conservação do produto. Ao realizar a secagem do produto, procura se obter valores de atividade água próximos a 0,2 visto que valores abaixo ou acima desse, podem gerar diversas condições de degradação do produto como reações de oxidação, reações enzimáticas e auxiliar no desenvolvimento de fungos e bactérias devido a contaminação externa (BELLETTI *et al.*, 2009). O alto valor de umidade também pode acarretar em processos de degradação do produto (PERRONE *et al.*, 2013).

A reação de Maillard também é um fato que gera consequências prejudiciais ao produto final, ela ocorre entre um açúcar redutor e uma proteína (SMITH *et al.*, 1994). A reação de Maillard leva a um escurecimento do produto e a formação de compostos aromáticos (ELLIS, 1959; SHIBAO; BASTOS, 2011). Os produtos lácteos em pó hidrolisados apresentam um potencial maior para que ocorra esta reação visto que apresenta mais açúcares redutores no meio, outro fator que afeta a cinética da reação é a temperatura do produto (SMITH *et al.*, 1994).

Assim, devido à variedade e complexidade das misturas que precisam ser secas, torna-se necessário um método mais rigoroso baseado nas propriedades físico-químicas

e termodinâmicas do produto, além dos parâmetros de secagem a serem utilizados (DE OLIVEIRA *et al.*, 2020; SCHUCK *et al.*, 2016). Mais especificamente analisando produtos lácteos em pó, a literatura é bastante rica em dados para secagem de leite de vaca, porém para secagem de leite oriundos de outros mamíferos, como búfala e camelo, esses dados são bastante escassos (ZOUARI *et al.*, 2019).

1.4 TÉCNICAS ANALÍTICAS

Ao longo do trabalho foram realizadas diversas técnicas analíticas para estudar as propriedades físico-químicas e microestruturais dos produtos lácteos em pó produzidos, entre elas, três vem ganhando destaque no ramo de produtos lácteos: espectroscopia Raman, análise de tamanho de partícula por difração a laser e microscopia eletrônica de varredura.

1.4.1 Espectroscopia Raman

O efeito Raman foi observado experimentalmente pela primeira vez no ano de 1928 pelo cientista indiano Sir Chandrasekhara Venkata Raman, após ter sido previsto pelo físico Adolf Smekal em 1923. No ano de 1930, devido à importância dessa descoberta, o prêmio Nobel de Física foi entregue ao cientista cuja técnica recebe o nome (ALMEIDA, 2011; DE OLIVEIRA, 2001).

A espectroscopia Raman consiste no espalhamento inelástico de luz monocromática, através do vetor campo elétrico da radiação eletromagnética que interage com as moléculas da matéria. A diferença entre a frequência da radiação incidente e da frequência da radiação espalhada, consiste nas frequências vibracionais que são observados no devido espectro Raman do material estudado, gerando os espectros Raman Stokes e anti-Stokes (HE *et al.*, 2019).

Toda molécula polar apresenta um momento de dipolo intrínseco ou efetivo. Entretanto, quando o campo elétrico da radiação incidente interage sobre a matéria, ocorre o surgimento de um novo momento de dipolo, que é induzido pela radiação (momento de dipolo induzido), que apresenta um relação com o campo elétrico da radiação incidente como visto na Equação 1, após o truncamento da expansão do momento de dipolo induzido no primeiro termo (STEPHANI, 2015).

$$\vec{P} = \alpha \vec{E} \quad (1)$$

O termo α é referente à polarizabilidade eletrônica da molécula, esse termo apresenta semelhanças com o momento de dipolo efetivo e é uma propriedade intrínseca de cada sistema químico, mas que só irá se manifestar na presença de uma interação da radiação eletromagnética com a molécula em estudo (STEPHANI, 2015). Considerando que o campo elétrico incidente e a coordenada q podem ser escritos pela equação 2:

$$\begin{aligned} E &= E_0 \cos(2\pi\nu_0 t) \\ q &= q_0 \cos(2\pi\nu_v t) \end{aligned} \quad (2)$$

onde E_0 é a amplitude vibracional, ν_0 é a frequência do laser, q_0 é a coordenada q inicial e ν_v é a frequência vibracional da coordenada q . Sabendo também que as vibrações moleculares irão induzir modificações na polarizabilidade com frequência que correspondem aos modos normais de vibração, pode-se escrever uma série de Taylor para representar a polarizabilidade do sistema em relação a coordenada normal (Equação 3)

$$\alpha = \alpha_0 + \left(\frac{d\alpha}{dq}\right)_0 q_0 \cos(2\pi\nu_v t) \quad (3)$$

Assim substituindo as Equações 2 e 3 na Equação 1, o momento de dipolo induzido ficará:

$$\vec{P} = \alpha_0 \vec{E}_0 \cos(2\pi\nu_0 t) + \frac{1}{2} \left(\frac{d\alpha}{dq}\right)_0 q_0 \vec{E}_0 \{\cos[2\pi(\nu_0 + \nu_v)t] + \cos[2\pi(\nu_0 - \nu_v)t]\} \quad (4)$$

O primeiro termo contém a frequência da radiação incidente e corresponde ao espalhamento elástico da radiação (espalhamento Rayleigh), esse efeito ocorre após a interação do fóton com a molécula, que volta ao nível de energia inicial e o fóton é espalhado sem modificação de frequência. No segundo termo aparece os espalhamentos inelásticos da radiação, o termo $(\nu_0 + \nu_v)$ é chamado espalhamento anti-Stokes, onde a molécula se encontra em um estado excitado, ao interagir com o fóton a molécula muda para um estado virtual para em seguida decair para o estado fundamental. Já no termo $(\nu_0 - \nu_v)$, a molécula se encontra no estado fundamental e após a interação com a radiação decai para um estado excitado (ALMEIDA, 2011; SALA, 2008).

A técnica de espectroscopia Raman já é utilizada em produtos lácteos devido a sua capacidade de analisar diversos componentes presentes em uma mesma amostra, estudos mostram que é possível quantificar adulterantes em matrizes lácteas, estudar a estrutura química de sacarídeos e ajudar na padronização do controle de qualidade desses produtos (GILLIBERT *et al.*, 2018; KIM *et al.*, 2012; STEPHANI, 2015; STEPHANI *et al.*, 2017).

1.4.2 Análise de tamanho de partículas por difração a laser

A técnica de análise de tamanho de partículas devido a sua facilidade de operação, rapidez e amplitude de leitura é utilizada em diversos ramos industriais. A difração a laser baseia-se no princípio de que quanto menor for o tamanho da partícula, maior será o ângulo de difração de um feixe luminoso que atravessa essa partícula. A técnica permite obter uma média da distribuição do tamanho de partículas de uma determinada amostra (COSTA, 2016).

O equipamento consiste de uma fonte de luz, um circuito de dispersão, detectores e uma célula de medida. As partículas do material de interesse se encontram em um fluido em movimento que passam pelo equipamento, assim essas partículas causam descontinuidades no fluxo do fluido. O feixe de luz capta essa descontinuidade e a correlaciona com o tamanho das partículas. Com o aumento do número de partículas do meio, a luz incidente sofre uma interação, formando um invólucro tridimensional de luz. O formato e o tamanho deste invólucro são afetados pelo índice de refração da partícula no meio dispersante, pelo comprimento de onda da luz utilizada no equipamento e pelo formato da partícula. O sinal é convertido para o tamanho de partículas através da teoria de Mie e se obtém os resultados da análise (ALLEN, 1993; BONIATTI, 2013; MELQUÍADES, 2019).

Diversos estudos mostram a eficiência dessa técnica para estudar produtos alimentícios em especial os lácteos. Com essa técnica foi possível estudar como as condições de secagem podem gerar impactos no tamanho de partículas de frações proteicas de leite (TORO-SIERRA; SCHUMANN; KULOZIK, 2013). Outros estudos mostram como a técnica pode ser empregada no estudo da reidratação de leite em pó bovino (FRANCISQUINI *et al.*, 2020; RICHARD *et al.*, 2013). Foi mostrado também como a técnica pode ser utilizada para mediar a eficiência de homogeneização em leite UHT (*Ultra High Temperature*) (RANSMARK *et al.*, 2019). Por fim, a técnica também

pode ser utilizada para estudar as características da composição de leite, como no caso da gordura (MÉNARD *et al.*, 2010).

1.4.3 Microscopia eletrônica de varredura

A técnica de microscopia eletrônica de varredura (MEV) fornece informações sobre a morfologia e até a identificação de elementos químicos em amostras sólidas. Essa técnica pode ser aplicada em diferentes campos da ciência como: biologia, odontologia, engenharia, química, física e até mesmo em alimentos (ABDULLAH; MOHAMMED, 2019; CAMPOS *et al.*, 2020).

A microscopia eletrônica de varredura permite obter a imagem ampliada e tridimensional da amostra devido a interação entre um feixe de elétrons com o material de estudo, desde que o mesmo não seja transparente aos elétrons. Esse feixe de elétrons é acelerado através de uma diferença de potencial e colimado por uma coluna ótica eletrônica sendo conduzido até à câmara que contém o material. (MONTEIRO, 2017; SMITH; OATLEY, 1955).

As informações sobre a amostra são obtidas pela detecção de elétrons transmitidos por meio de um cintilador e de um fotomultiplicador. O sinal no fotomultiplicador é amplificado e usado para modular a intensidade de um tubo de exibição digitalizado de forma síncrona para formar a imagem da análise. O contraste dessa imagem é produzido pelo fato de que alguns elétrons são espalhados por uma abertura localizada entre a amostra e o cintilador (CREWE; ISAACSON; JOHNSON, 1969).

O microscópio eletrônico de varredura apresenta diversas qualidades se comparado ao microscópio óptico, entre elas se destaca o poder de ampliação que pode chegar até a 1 milhão de vezes dependendo do modelo, além de apresentar imagens mais bem detalhadas, porém é um equipamento com alto custo se comparado ao microscópio óptico (ABDULLAH; MOHAMMED, 2019). Outra qualidade dessa técnica é a espectroscopia de energia dispersiva por raios X (EDS, que pode fornecer de forma qualitativa e até algumas vezes quantitativas a composição química da superfície do material (CAMPOS *et al.*, 2020).

2 OBJETIVOS

O objetivo principal deste projeto consiste na produção e caracterização de produtos lácteos em pó de búfala, com e sem hidrólise da lactose, além de entender como as condições de armazenamento destes produtos podem interferir nas suas propriedades físico-químicas e microestruturais.

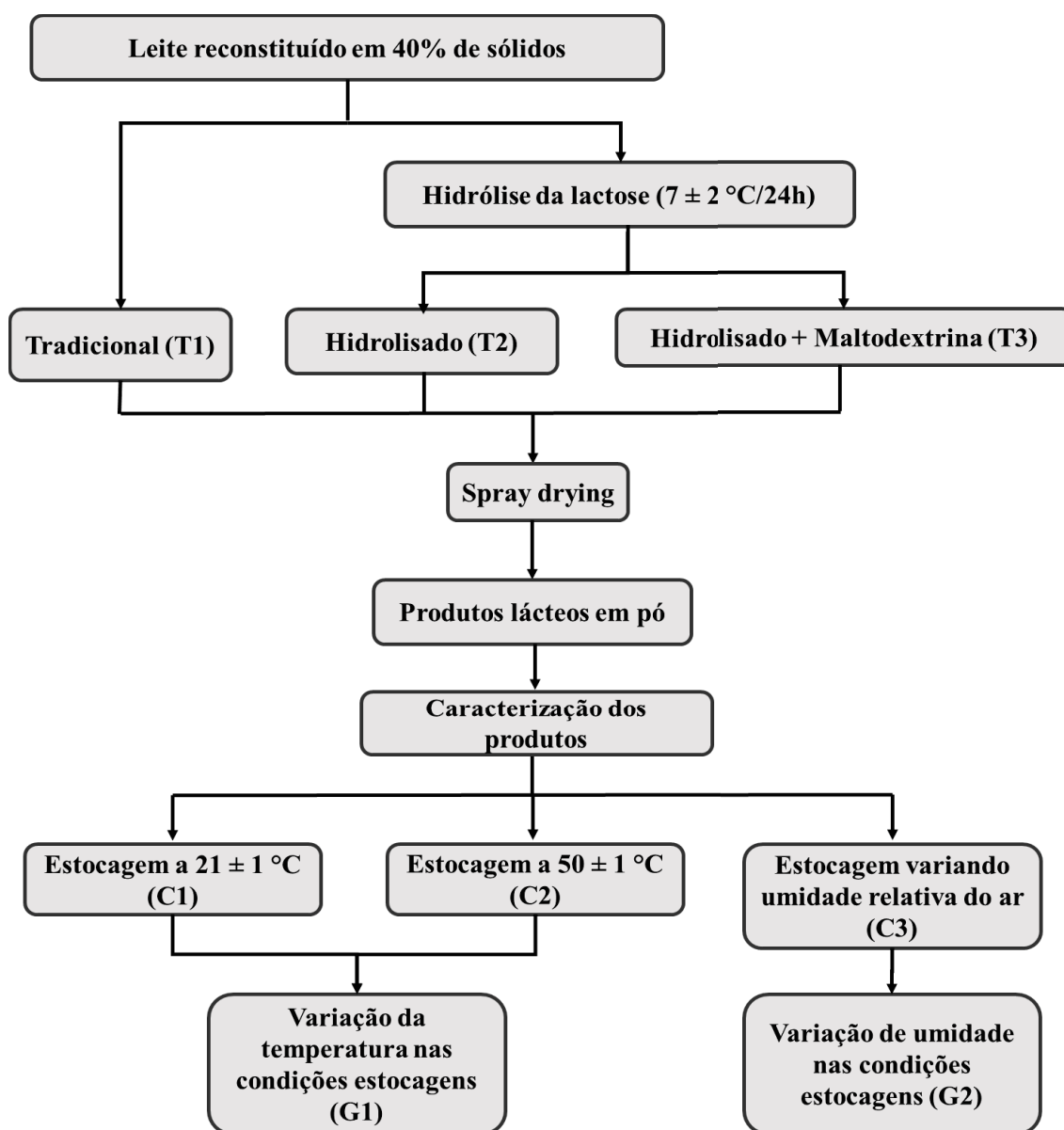
2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ✓ Determinar a composição centesimal dos produtos em pó obtidos após a produção;
- ✓ Estudar as características físico-químicas dos produtos, por meio da estocagem em ambientes com diferentes umidades relativas do ar;
- ✓ Realizar a caracterização dos estados termodinâmicos da lactose por espectroscopia Raman em ambientes com diferentes umidades relativas do ar;
- ✓ Estudar as características físico-químicas dos produtos, por meio da estocagem em condições de temperatura de 21 °C e 50 °C por 21 dias, através do monitoramento de diferentes propriedades dos pós;
- ✓ Estudar a microestrutura dos pós formados em diferentes condições de estocagem, por meio da técnica de microscopia eletrônica de varredura (MEV).

3 METODOLOGIA

O desenho experimental do projeto pode ser visto através da Figura 2 mostrado abaixo, onde é possível observar todas as etapas de produção dos produtos lácteos em pó (T1, T2, T3), além do fracionamento dos pós (C1, C2 e C3), seguido das análises de caracterização dos pós e dos dois grupos de análises realizadas em diferentes condições de análise (G1 e G2).

Figura 2- Desenho experimental do projeto.



Fonte: elaborado pelo autor (2021).

3.1 RECONSTITUIÇÃO DOS PÓS

Visando garantir uma maior padronização das amostras, partiu-se de um leite em pó integral de búfala previamente produzido no Instituto de Laticínios Cândido Tostes (controle), localizado no município de Juiz de Fora. O pó controle, foi reconstituído para aproximadamente 40% de extrato seco, gerando um total de 1000 g de concentrado para três diferentes tratamentos (em duplicada): tradicional (T1), hidrolisado (T2) e hidrolisado + maltodextrina (T3).

Os tratamentos T1 e T2 consistiram na utilização de 418 g de leite em pó controle e 582 g de água deionizada. Já o tratamento T3 foi adicionado de 418 g de leite em pó controle, 103 g de maltodextrina (com especificações: 20DE – Mor/REX^R 1920) e 479 g de água deionizada. Nessa massa final, nos produtos T2 e T3 foram adicionados de 5 mL de uma solução de lactase da marca LACTLOW (com especificações: densidade aparente de 1,15 g.mL⁻¹ e atividade enzimática de 2600 LAU-B.g⁻¹). Todos os tratamentos, que receberam a adição da enzima, foram armazenados por 24 horas em temperatura controlada de 7 ± 2 °C. Esse processo visava garantir uma maior eficiência da hidrólise da lactose.

3.2 SECAGEM

Finalizado a etapa de reconstituição e ação da enzima lactase, os seis produtos (2 oriundos de cada tratamento) foram secos em um Mini *Spray Dryer* B-290 (marca: BUCHI), em parceria com o Departamento de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Juiz de Fora. Para a secagem dos produtos, foram fixados os seguintes parâmetros de secagem: temperatura de entrada (150 – 160 °C); temperatura de saída (85 – 90 °C); vazão de ar (40 – 50 L.min⁻¹); vazão de produto (0,8 – 1,0 L.min⁻¹).

3.3 CARACTERIZAÇÃO DO PRODUTO

Para as análises de caracterização do produto, foram realizadas análises de atividade de água, umidade, gordura total, gordura livre e composição dos açúcares. Todas as

análises foram realizadas nos produtos após o processo de fabricação, com a finalidade de realizar o estudo da composição dos pós obtidos nos três tratamentos.

3.3.1 Atividade de água

A medição da atividade de água foi realizada em um determinador modelo Aqualab 4TE (marca: Aqualab) por meio do ponto de orvalho, que é a temperatura até a qual o ar deve ser resfriado para que a condensação da água se inicie. Para essa medida a amostra foi adicionada ao porta amostra e colocada dentro do equipamento até que ocorresse a estabilização, em seguida foi realizado a leitura do resultado da amostra.

3.3.2 Umidade

Os teores de umidade dos produtos foram determinados com a utilização de uma balança de infravermelho modelo MA 150 (marca: Sartorius) que monitora a variação da massa em função de uma temperatura programada. Utilizou a programação pré-determinada de 115 °C por 30 minutos e coleta de dados de 30 em 30 segundos. Após o fim da coleta dos dados, foi gerada uma planilha representando a perda mássica e, ao não ocorrer variação superior a 0,05 g de perda de água, foi possível determinar a umidade de cada produto.

3.3.3 Gordura total

O teor de gordura em cada amostra foi medido seguindo o procedimento de Gerber. Inicialmente foi realizado a preparação de uma solução de 12% de sólidos dos pós para, em seguida, começar o procedimento de análise. Adicionou-se 10 mL de ácido sulfúrico ao butirômetro, em seguida com o auxílio de uma pipeta, foi adicionado lentamente 11 mL da solução da amostra previamente preparada e, por fim, adicionou 1 mL de álcool isoamílico. Fechou o butirômetro com a rosca e realizou a homogeneização da amostra. Em seguida, o butirômetro foi levado a uma centrifuga por 5 minutos, para depois ser

adicionado ao banho-maria a aproximadamente 63 °C por 5 minutos, fazendo posteriormente a leitura na graduação da vidraria (HORWITZ, 2016).

3.3.4 Gordura livre

Essa técnica, consiste na extração da gordura livre por meio de solventes orgânicos. Inicialmente foi realizado a limpeza dos balões do rotaevaporador e em seguida, cada balão foi levado a estufa com temperatura próxima de 100 °C por uma hora. Os balões, em seguida foram adicionados em dessecadores, para após o resfriamento serem pesados (M2).

Pesou-se em um béquer aproximadamente 10 g de amostra e adicionou entre 40 e 50 mL de éter de petróleo, essa solução foi mantida sob agitação magnética por 5 minutos com o béquer tampado para evitar maiores perdas por volatilização do éter de petróleo. Esse processo de extração foi realizado três vezes com a finalidade de se obter um melhor resultado na extração. Após a extração, o éter de petróleo foi recuperado por meio de destilação em rotaevapor. A amostra resultante foi armazenada em estufa, com temperatura de 100 °C, por no mínimo uma hora até total remoção do solvente ainda presente do processo de rotaevaporação. Em seguida, o balão foi levado para um dessecador para resfriamento e pesado em seguida (M1).

A gordura livre foi quantificada por gravimetria, de acordo com a Equação 5 e o resultado foi expresso como porcentagem de gordura total. Todo esse processo foi realizado em cada um dos tratamentos (SCHUCK; DOLIVET; JEANTET, 2012).

$$GL = \frac{(M1-M2) \times 100}{GT} \quad (5)$$

Onde: GL = gordura livre; M1 = massa do balão com a amostra; M2 = massa do balão vazio; GT = gordura total.

3.3.5 Composição dos açúcares

As análises de composição de açúcares (lactose, glicose e galactose) foram realizadas pela técnica de cromatografia, com coluna de Bio-rad HPX-87P + pré-coluna

+ *de-ashing*, em temperatura de 60 °C. A fase móvel utilizada foi água ultrapura, com fluxo de 0,6 mL.minuto⁻¹. O volume de injeção da amostra foi de 10 µL e tempo de corrida de 25 minutos.

3.4 ARMAZENAMENTO DOS PRODUTOS EM PÓ

Após a caracterização geral dos produtos, os pós foram armazenados e divididos em três condições de estocagem distintas: temperatura controlada de 21 ± 1 °C em embalagem plástica e caixa apropriada sem entrada de ar por 21 dias (C1); temperatura controlada de 50 ± 1 °C por 21 dias em estufa, onde a mesma apresentava baixa umidade relativa do ar (<10%) medida com auxílio de um termohigrômetro (C2); temperatura controlada de 21 ± 1 °C em dessecadores, com diferentes umidades relativas do ar (11,1%; 33,1%; 43,2%; 54,4%; 75,5%) por 9 semanas (C3).

As análises foram divididas em dois grupos, após o fracionamento dos produtos, sendo algumas análises realizadas em mais de uma condição de estocagem. Cada grupo de análise buscava entender algumas modificações nas propriedades dos pós ao longo do seu armazenamento.

O primeiro grupo (G1) consistia em entender como a variação da temperatura, modificava diferentes características dos produtos após 21 dias armazenados nas condições de estocagem C1 (21 °C) e C2 (50 °C). Já o segundo grupo (G2) visava compreender como a variação da umidade do ambiente poderia modificar as propriedades físico-químicas dos produtos durante 9 semanas.

3.5 GRUPO 1: VARIAÇÃO DA TEMPERATURA NAS CONDIÇÕES DE ESTOCAGEM

Para o grupo de análises variando as temperaturas de estocagem dos produtos (condição de estocagem C1 e C2), foram realizadas análises de 5-hidroximetilfurfural livre (HMF livre), colorimetria, índice de escurecimento, análise de tamanho de partículas por difração a laser, microscopia eletrônica de varredura e índice de polidispersividade.

3.5.1 HMF livre

As amostras foram inicialmente reconstituídas em uma solução de 12% de sólidos, em seguida 10 mL dessa solução de amostra foi adicionada de 5 mL de ácido oxálico 0,3 mol.L⁻¹ e 5 mL de ácido tricloroacético 40% (m.v⁻¹). A solução resultante foi homogeneizada para em seguida ser filtrada. Após total filtração, retirou-se uma alíquota de 4 mL de filtrado e adicionou-se 1 mL de ácido tiobarbitúrico 0,05 mol.L⁻¹. A amostra foi aquecida em banho-maria a 40 °C por 30 minutos.

As leituras foram realizadas em um espectrofotômetro *Ocean Optics* USB 200+XR1-ES (marca: *Ocean Insight*). Utilizou-se o valor de absorvância obtida no comprimento de onda de 433 nm, na equação da reta obtida pela curva analítica realizada durante o processo de análise e obteve-se assim os valores de HMF livre para cada amostra (FRANCISQUINI *et al.*, 2016; KEENEY; BASSETTE, 1959).

3.5.2 Colorimetria e índice de escurecimento

Para mensurar a cor dos pós, foi utilizado um espectrômetro CM-5 (marca: Komica Minolta), a técnica utilizada foi a escala CIELa*b*, o modelo do dispositivo de separação espectral foi de grade de difração planar, empregando o SCI (*specular component included*), a faixa de medição de refletância e de comprimento de onda foi de 360 até 740 nm com intervalo de comprimento de onda de 10 nm.

Esse sistema de cores utiliza três parâmetros: L que se refere à luminosidade da amostra, essa escala varia de 0 até 100, quanto mais próximo de 100 mais claro é o produto e quanto mais próximo de 0 mais escuro é a amostra. A escala a* varia entre valores positivos e negativos, quanto mais positivo for o valor mais próximo da cor vermelha se encontra a amostra, e o valor mais negativo, mais próximo da cor verde está o produto. Por fim, a escala b* também varia entre valores positivos e negativos, quando o valor for positivo, mais a amostra tende a cor amarela e, caso for negativo o resultado, a amostra tende ao azul (DE OLIVEIRA *et al.*, 2020; GADONSKI *et al.*, 2018).

Com os resultados obtidos pela análise de colorimetria foi possível calcular o índice de escurecimento (IE) dos pós pelas Equações 6 e 7 (NASSER *et al.*, 2017).

$$IE = \frac{[100 \times (z-0,3)]}{0,17} \quad (6)$$

$$z = \frac{(a^* \times 1,750 \times L)}{(5,645 \times L + a^* - 3,012 \times b^*)} \quad (7)$$

Onde: L, a* e b* são os resultados obtidos por meio da colorimetria.

3.5.3 Análise de tamanho de partículas por difração a laser (LS)

A distribuição do tamanho de partículas foi obtida por meio do analisador de tamanho de partículas por difração a laser Beckman Coulter LS 13 320 (marca: Beckman Coulter), acoplado ao módulo de análise líquida *Aqueous liquid module* (marca: Beckman Coulter).

As amostras foram analisadas da seguinte forma: 1 g da amostra foi pesada e adicionada em 10 mL de água deionizada por agitação magnética por 3 minutos. Em seguida a amostra reconstituída foi adicionada lentamente e em quantidades suficientes no reservatório do módulo de análise líquida, contendo água visando obter o nível de obscurência ideal para a leitura.

Os dados foram coletados na região de 0,375 µm a 2000 µm, com tempo de coleta estabelecido de 99 segundos. Os resultados foram obtidos utilizando 1,332 como índice de refração para o meio dispersante (água) e 1,57 para as partículas da amostra e o *software Beckman Coulter* versão 5.03 foi aplicado para obtenção dos dados estatísticos (TORRES *et al.*, 2017).

3.5.4 Microscopia eletrônica de varredura e índice de polidispersividade

A microscopia eletrônica de varredura foi realizada em um microscópio modelo TM 3000 (marca: Hitachi Ltd) com aceleração do feixe de 15 kV.

Para a avaliação do comprimento das partículas obtidas nas imagens do MEV, foi utilizado o *software ImageJ* (ABRÀMOFF; MAGALHÃES; RAM, 2004; IGATHINATHANE; PORDESIMO; BATCHELOR, 2009). As imagens foram analisadas nos tamanho de 30 e 50 µm.

Com a avaliação dos comprimentos das partículas obteve-se o índice de polidispersividade (PDI). Este PDI é calculado pela Equação 8 e refere-se ao grau de não uniformidade da distribuição de tamanho das partículas. Uma amostra monodispersa apresenta alto grau de uniformidade com $PDI < 0,4$, enquanto uma amostra polidispersa apresenta um baixo grau de uniformidade com $PDI > 0,7$ (DANAEI *et al.*, 2018).

$$PDI = \frac{d_{90} - d_{10}}{d_{50}} \quad (8)$$

Onde: d_{90} , d_{50} e d_{10} significam respectivamente 90%, 50% e 10% das partículas que possuem valores iguais ou inferiores aos resultados encontrados.

3.6 GRUPO 2: VARIAÇÃO DA UMIDADE NAS CONDIÇÕES DE ESTOCAGEM

Para o grupo 2, onde objetivou estudar as mudanças nas características dos pós em estocagem com diferentes umidades relativas do ar foram realizadas análises de isoterma de sorção, espectroscopia Raman e quimiometria nos produtos armazenados na condição de estocagem C3.

3.6.1 Isotherma de sorção

Para a realização da análise de isoterma de sorção, foi pesado cerca de 2 g de amostras em suportes plásticos. Cada amostra (em duplicata) foi armazenada em cada um dos cinco dessecadores, com cada dessecador apresentando diferentes condições de umidade relativa do ar distintas (11,1%; 33,1%; 43,2%; 54,4%; 75,5%) durante 21 dias. Para atingir a umidade relativa do ar desejada, em cada um dos dessecadores foi utilizado soluções saturadas dos seguintes sais: LiCl, MgCl₂, K₂CO₃, Mg(NO₃)₂ e NaCl para as umidades de 11,1%; 33,1%; 43,2%; 54,4%; 75,5% respectivamente (TORRES *et al.*, 2016).

Após 21 dias, as amostras foram pesadas novamente (retirando o peso dos recipientes plásticos), visando obter a variação no teor de água ao longo do processo de armazenamento. Com os dados obtidos foi possível gerar um gráfico de isoterma de sorção que correlaciona a massa de água no produto com a atividade de água do meio (TORRES *et al.*, 2016).

3.6.2 Espectroscopia Raman

Medidas de espectroscopia Raman foram realizadas nos pós estocados nos 5 dessecadores com diferentes umidades relativas do ar, por um período de nove semanas em cada um desses dessecadores. Foi utilizado um espectrômetro modelo FT-Raman RFS 100 (marca: Bruker), equipado com um detector de Ge, com linha de excitação de 1064 nm a partir de um *laser* de estado sólido de ND:YAG. As amostras foram adicionadas em porta amostras de alumínio e levadas ao equipamento onde foram utilizados os seguintes parâmetros espectrais para coleta de dados: 110 mW de potência, 512 varreduras e resolução espectral de 4 cm^{-1} na região de 4000 cm^{-1} a 50 cm^{-1} . O *software* OPUS 6.0 (marca: Bruker) foi empregado para a coleta dos dados e o programa OriginPro8 foi utilizado para a elaboração dos gráficos representativos de cada produto.

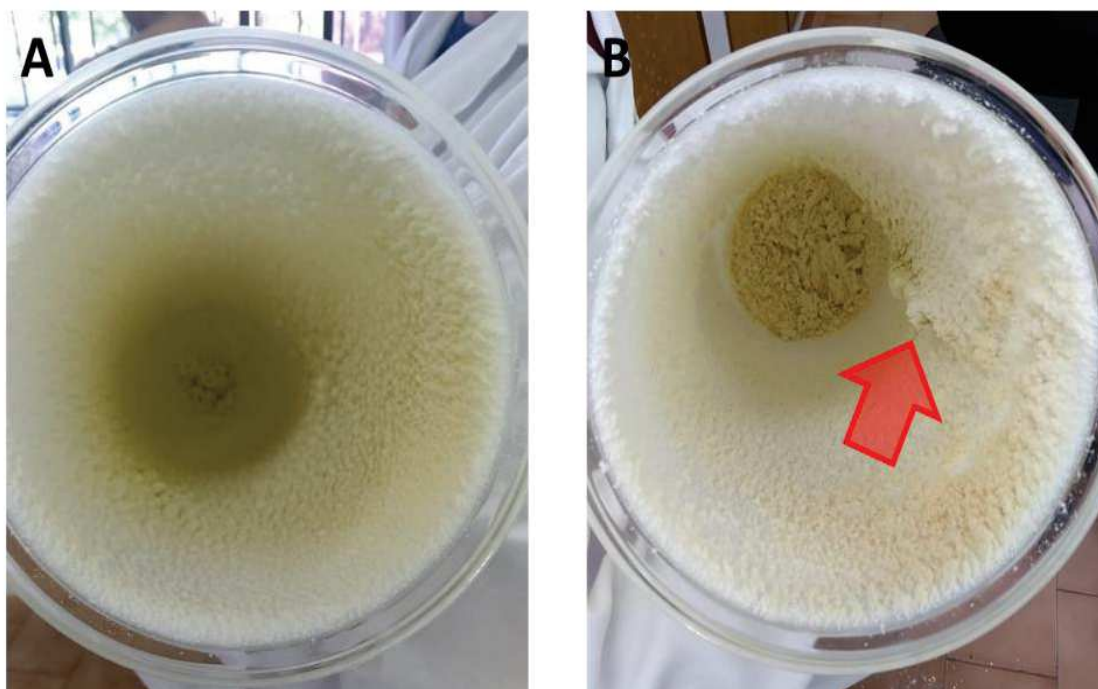
3.6.3 Quimiometria

Para a obtenção dos resultados estatísticos, foi realizado a quimiometria através da análise de componentes principais (PCA) nos espectros Raman utilizando o *software* Matlab versão 7.10.0 (R2010a) Foi utilizado a região espectral entre 3200 cm^{-1} até 2800 cm^{-1} . Essa região foi escolhida devido a modificações nas suas bandas durante todo o processo de cristalização da lactose. Foram empregados os pré-processamentos *baseline*, segunda derivada, MSC, *normalize* e *mean center*. O número de componentes principais foi realizado através do gráfico de autovalor, que permitiu a avaliação das atribuições dos espectros no gráfico de escores.

4 RESULTADOS

Após a reconstituição e o tempo de ação da enzima, os concentrados foram secos em *spray dryer*. O produto sem hidrólise da lactose (T1) não apresentou problemas durante a secagem como é possível perceber na Figura 3A. No tratamento T2, que sofreu hidrólise da lactose, ocorreu a formação de pequenos pontos de adesão na câmara de secagem. Por fim, no produto T3 (com adição de maltodextrina), devido à sua alta viscosidade, formaram-se nas paredes do equipamento grandes pontos de adesão com alto teor de umidade, devido a não eficiência de atomização do produto (Figura 3B). Visando contornar a formação desses agregados, foi realizado uma diluição do concentrado em 20%, gerando assim, um produto menos viscoso. Com a diluição do concentrado, a secagem do tratamento T3 seguiu sem maiores problemas, gerando menos entupimentos no equipamento que o tratamento T2.

Figura 3 - Imagem do tratamento T1, onde não é possível perceber a formação de grumos na câmara de secagem em A e, imagem do tratamento T3 antes da diluição, onde é possível observar a formação de um grumo de tamanho elevado em B.



Fonte: Elaborado pelo autor (2021).

A maior aderência na câmara de secagem nos tratamentos T2 e T3, em relação ao tratamento T1, é referente ao fato de que, ao realizar a hidrólise da lactose ocorre a liberação de outros dois sacarídeos de menor massa molar (glicose e galactose). A substituição da lactose, por estes dois monossacarídeos, acarreta na redução da temperatura de transição vítrea (T_g) devido ao abaixamento da massa molar dos sacarídeos presentes no concentrado (TORRES *et al.*, 2017).

Ao comparar os tratamentos que sofreram hidrólise da lactose, foi possível perceber uma melhor secagem do produto T3 em relação ao produto T2. A adição da maltodextrina no tratamento T3, eleva a temperatura de transição vítrea, visto que, a maltodextrina apresenta uma alta massa molar (LANGRISH; CHAN; KOTA, 2007).

4.1 CARACTERIZAÇÃO DOS PRODUTOS

A seguir, serão discutidos os resultados das análises referentes a caracterização geral dos produtos. As análises foram realizadas nos três tratamentos após o processo de produção dos mesmos. Foram realizadas as análises de atividade de água, umidade, gordura total, gordura livre e teor de açúcares nos pós dos três tratamentos.

4.1.1 Atividade de água e umidade

Os resultados obtidos para atividade de água (a_w) e umidade para os três tratamentos após a produção estão representados na Tabela 3.

A atividade de água de um alimento pode ser definida como a capacidade termodinâmica ou a concentração efetiva de água em um determinado produto que pode realmente participar como agente químico em processos biológicos e/ou químicos. Embora esse valor seja adimensional, ela pode ser expressa através de uma equação que correlaciona a pressão de vapor do produto sobre a pressão de vapor da água pura (DAMODARAN; PARKIN, 2017).

Os parâmetros de secagem (demonstrados na metodologia), para os concentrados, foram determinados visando obter produtos com atividades de água próximas a 0,2. Nessa atividade de água, os pós são preservados mais facilmente, visto que em atividades de

água menor que 0,1, ocorre um avanço das reações de oxidação e, em atividades de água superior a 0,4, ocorre avanços de hidrólises não enzimáticas, aumento da possibilidade de desenvolvimento de microrganismos (fungos filamentosos e leveduras) devido a contaminação do produto, além de outros tipos de mecanismos que podem degradar o produto (PAULA *et al.*, 2020).

Tabela 3 - Resultados de atividade de água e umidade após a produção.

Tratamento	a_w	Umidade (%)
T1	0,1705±0,0112 ^a	3,30±0,14 ^a
T2	0,1672±0,0107 ^a	4,52±0,16 ^b
T3	0,1737±0,010 ^a	3,88±0,22 ^{ab}

Médias seguidas de uma mesma letra, como índice, na mesma coluna, não diferem entre si ($p < 0,05$).

T1 – sem hidrólise da lactose, T2 – com hidrólise da lactose, T3 – com hidrólise da lactose + maltodextrina.

Fonte: Elaborado pelo próprio autor (2021).

Os três tratamentos apresentaram atividades de água iguais estatisticamente, com um valor levemente menor para o tratamento T2. Os valores entre 0,1672 e 0,1737 estão próximos do valor esperado (0,2), o que garante ao produto uma melhor estabilidade, como já relatado acima.

Analisando os resultados obtidos com dois trabalhos da literatura que realizaram a determinação da atividade de água em diferentes produtos lácteos desidratados, foi possível constatar que, os produtos obtidos nesse trabalho estão de acordo com a faixa de resultados relatados para uma melhor conservação. No primeiro trabalho, foi realizado a atividade de água em leite em pó desnatado de vaca e de camela, onde obtiveram as seguintes médias de resultados: 0,252 para leite bovino e 0,251 para leite de camelo (ZOUARI *et al.*, 2020). Já para o segundo trabalho, realizado em leite integral de vaca e camela, obteve-se os resultados de 0,258 para o produto bovino e 0,189 para o produto oriundo de leite de camela (SULIEMAN *et al.*, 2014). Vale ressaltar também que a comparação entre os resultados obtidos neste trabalho com os da literatura não pode ser feita de forma efetiva devido a alguns fatores. Entre eles se destaca as diferentes

composições das matérias primas utilizadas e também as diferentes condições de secagem dos produtos. Assim, a apresentação dos dados da literatura é apenas para conferir se os resultados obtidos estão de acordo com os melhores resultados possíveis.

Ao analisar o teor de umidade dos tratamentos, é possível concluir que os produtos T1 e T2 são diferentes estatisticamente entre si, e com o tratamento T3 sendo igual a ambos. Essa diferença entre os tratamentos T1 e T2 pode ser associada ao abaixamento da temperatura de transição vítrea no produto após a hidrólise da lactose, acarretando assim em um aumento na higroscopicidade do produto, além do fato que a glicose e a galactose apresentam maior capacidade de hidratação que a lactose. Essa elevação da higroscopicidade em produtos hidrolisados já foi relatada na literatura, onde o tratamento que sofreu hidrólise da lactose (>99%) apresentou umidade de 10,1%, enquanto que o produto sem hidrólise apresentou umidade de 4,1% (TORRES *et al.*, 2017). Por fim, no tratamento T3, com a adição da maltodextrina, ocorre um produto com menor higroscopicidade, levando a um valor de umidade um pouco menor que no tratamento T2.

Em trabalho recente da literatura, os autores encontraram um valor médio de umidade de 1,82% e 1,67% para os leites de vaca e de camela, respectivamente (SULIEMAN *et al.*, 2014). A umidade obtida no tratamento T1 (3,30%) está um pouco superior, com esses resultados encontrados para leite em pó de vaca e de camela. Novamente os dados apresentados da literatura foram utilizados apenas como inferência aos resultados obtidos neste trabalho.

Tanto os valores de atividade de água quanto os de umidade, sofrem interferência dos parâmetros utilizados durante a secagem do produto. Com isso, uma maior compreensão das condições de secagem é importante para obtenção de produtos com maior tempo de conservação (PERRONE *et al.*, 2013).

4.1.2 Gordura total e gordura livre

Os resultados obtidos para gordura total (Tabela 4), nos tratamentos T1 e T2, são iguais estatisticamente entre si, porém T3 difere dos outros dois produtos. Esse menor valor obtido para o produto T3 pode ser justificado pela adição de maltodextrina, que gerou uma diluição dos componentes presentes no leite em pó.

Os tratamentos T1 e T2 apresentaram, respectivamente, teor de gordura total médio de 30,42% e 30,00%. Esses valores condizem com os encontrados na literatura para leite em pó de vaca ($\pm 29,40\%$) e camela ($\pm 28,37\%$), embora sejam oriundos de espécies de mamíferos diferentes (SULIEMAN *et al.*, 2014). Os resultados também estão de acordo para leite em pó de búfala, que apresentou resultados de gordura total de $\pm 34,08\%$ (BORGES *et al.*, 2017).

Tabela 4 - Resultados de gordura total e gordura livre dos produtos após a produção.

Tratamento	Gordura total (%)	Gordura livre (%)
T1	30,42 \pm 1,77 ^a	5,67 \pm 0,61 ^a
T2	30,00 \pm 0,01 ^a	1,88 \pm 0,47 ^b
T3	22,92 \pm 1,17 ^b	1,59 \pm 0,27 ^b

Médias seguidas de uma mesma letra, como índice, na mesma coluna, não diferem entre si ($p < 0,05$).

T1 – sem hidrólise da lactose, T2 – com hidrólise da lactose, T3 – com hidrólise da lactose + maltodextrina.

Fonte: Elaborado pelo próprio autor (2021).

O produto T1 apresentou uma concentração de gordura livre, estatisticamente, maior que os produtos T2 e T3 que apresentaram melhores resultados para essa análise. Esse valor pode estar associado ao fato de que, a transformação do estado amorfo para o cristalino da lactose tem efeitos prejudiciais sobre a estabilidade do pó, levando a maiores níveis de gordura livre no produto, além de uma maior deterioração do sabor, aumento da viscosidade e escurecimento não enzimático, com isso, a manutenção do estado amorfo é uma vantagem porque assim evita a formação da gordura livre no meio (MCCARTHY *et al.*, 2013).

4.1.3 Composição de açúcares

A composição de açúcares (Tabela 5) comprovou a eficiência da hidrólise da lactose (98% de hidrólise), visto que o produto T1 apresentou um valor de lactose de aproximadamente 30 g.100g⁻¹ de produto, o T2 de 0,54 g.100g⁻¹ e T3 de 5,93 g.100g⁻¹.

Vale destacar que o valor acentuado de lactose, para o tratamento T3, é devido à presença de maltodextrina no produto que apresentou tempo de retenção próximo, alterando assim o valor real para lactose. A queda do valor de lactose a resultados próximos de zero, já foi relatado na literatura para leite em pó hidrolisado de vaca (TORRES *et al.*, 2017).

Com a quebra da lactose, ocorre a liberação de glicose e galactose no meio, assim, a presença desses dois açúcares nos tratamentos T2 e T3 também é indicativa da eficiência da hidrólise enzimática nos produtos (FIALHO *et al.*, 2018).

Tabela 5 - Resultado para a composição de açúcares dos pós.

Tratamento	Lactose (g.100g ⁻¹)	Glicose (g.100g ⁻¹)	Galactose (g.100g ⁻¹)
T1	30,13±0,77 ^a	0,00±0,00 ^a	0,25±0,00 ^a
T2	0,54±0,21 ^b	12,81±0,70 ^b	12,51±0,19 ^b
T3	5,93±0,14 ^{c*}	11,01±0,31 ^c	10,7±0,18 ^c

Médias seguidas de uma mesma letra, como índice, na mesma coluna, não diferem entre si (p<0,05).

T1 – sem hidrólise da lactose, T2 – com hidrólise da lactose, T3 – com hidrólise da lactose + maltodextrina.

*Valor expresso em teor de lactose, considerando a interferência da maltodextrina na quantificação.

Fonte: Elaborado pelo próprio autor (2021).

4.2 GRUPO 1: VARIAÇÃO DA TEMPERATURA NAS CONDIÇÕES DE ESTOCAGEM

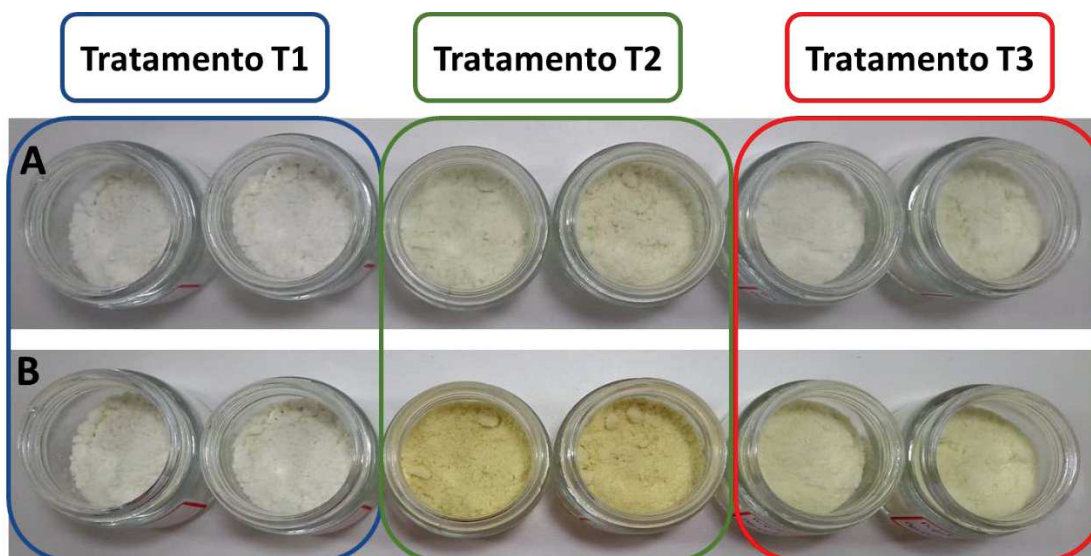
Serão discutidos neste bloco os resultados das análises do grupo 1, que são referentes à variação da temperatura nas condições de estocagem, onde foram realizadas as análises de HMF livre, colorimetria, índice de escurecimento, análise de tamanho de partículas, microscopia eletrônica de varredura e índice de polidispersividade.

4.2.1 HMF livre, colorimetria e índice de escurecimento

Inicialmente, é mostrado na Figura 4, a diferença qualitativa na coloração dos pós dos três tratamentos, armazenados nas condições de estocagem C1 e C2 após os 21 dias de armazenamento.

Comparando os pós armazenados na condição de estocagem C1, é possível perceber que, os tratamentos T1 e T3 apresentam coloração próximas entre si, enquanto que, o tratamento T2 apresenta uma coloração mais amarelada. Já para os pós armazenados em condição C2, o produto T1 mantém sua coloração branca, porém, o tratamento T3 apresenta uma coloração mais intensa, se comparado ao tratamento anterior. Por fim, é possível perceber que, o tratamento T2 apresenta um avanço expressivo da coloração após ser armazenado por 21 dias em condição de estocagem de 50 °C. Visando comprovar esse avanço da coloração dos produtos nessas duas condições de estocagem, foi realizado nos produtos as análises de HMF livre, colorimetria e índice de escurecimento (Tabela 6).

Figura 4 - Coloração dos três tratamentos após 21 dias de estocagem nas condições C1 (21 °C) em A e C2 (50 °C) em B.



Fonte: Elaborado pelo autor (2021).

Pode-se afirmar que o produto T2 apresentou concentração de HMF livre diferente estatisticamente, quando comparado aos outros dois tratamentos, em ambas as condições de armazenamento. Parte do avanço da concentração do HMF livre está associada à

reação de Maillard. Essa reação ocorre na presença de aquecimento, com a condensação de açúcar redutor com agrupamentos amino (aminoácidos, peptídeos ou proteínas) e vários fatores podem intensificar ou retardar o avanço desta reação, como por exemplo a temperatura, o pH e o tipo e/ou qualidade do açúcar redutor no meio (AALAEI; RAYNER; SJÖHOLM, 2019). O produto T1 apresentou a menor concentração de HMF livre, visto que apresentava uma menor concentração de açúcar redutor no meio, gerando assim um avanço da reação de escurecimento não enzimático menor. O produto T2 exibiu a maior concentração de HMF livre, devido ao fato da ocorrência da hidrólise da lactose, aumentando a concentração de açúcares redutores no sistema, acelerando a reação de Maillard (NARANJO *et al.*, 2013).

O perfil encontrado neste trabalho também foi relatado na literatura em leite UHT, onde o produto sem hidrólise da lactose apresentou valores inferiores a $18 \mu\text{m.L}^{-1}$ e o produto hidrolisado gerou resultados superiores a $30 \mu\text{m.L}^{-1}$ (NEVES; OLIVEIRA, 2020).

O produto T3, embora tenha sofrido hidrólise da lactose, apresentou concentração de HMF livre inferior ao produto T2 nas duas condições de estocagem. Este fato pode ser justificado pela presença da maltodextrina, que por ser um carboidrato não redutor, não participa da reação de Maillard, gerando assim um impedimento espacial, dificultando a formação de HMF livre, como relatado em doce de leite ao adicionar diferentes concentrações de sacarose, outro tipo de açúcar não redutor (FRANCISQUINI *et al.*, 2019).

Comparativamente, na condição de estocagem C2, ocorreu uma maior concentração de HMF livre que nos produtos estocados em condição C1 para todos os tratamentos. Isto se deve ao aumento da temperatura, que acelera a velocidade da reação de Maillard, elevando conseqüentemente os valores de HMF livre. O aumento deste indicador da reação pelo aumento da temperatura, também foi relatado para amostras de mel (DAMODARAN; PARKIN, 2017; FALLICO *et al.*, 2004).

Os três tratamentos estocados na condição C1 apresentaram colorações iguais estatisticamente para as escalas L e a^* . Já para a escala b^* , ocorreu diferença estatística entre os tratamentos T1 e T2, mostrando que o produto sofre um escurecimento quando ocorreu a hidrólise da lactose. Já na condição de estocagem C2, os três produtos são diferentes entre si para os três parâmetros de cor (L, a^* e b^*): o produto T1 apresenta uma

menor coloração, seguido pelo tratamento T3 e por fim o tratamento T2 apresentou uma coloração mais intensa, fato comprovado pelo menor valor de L e pelos maiores valores de a^* e b^* . Estes resultados também indicam um maior avanço da reação de Maillard nos produtos com maiores concentrações de açúcares redutores, como observado pela técnica de HMF livre.

Outro meio de comparar o avanço do escurecimento dos produtos é por meio do índice de escurecimento, que leva em consideração os valores gerados pela colorimetria, como apresentado na metodologia. Nos pós armazenados, tanto na condição C1, quanto na condição C2, é possível constatar que, o produto T2 apresentou um índice de escurecimento mais acentuado se comparado a T1. O produto T3 apresentou um valor intermediário aos outros dois tratamentos, ou seja, a adição da maltodextrina influenciou de forma significativa o escurecimento dos produtos.

Tabela 6 - Resultados das análises de HMF livre, colorimetria e índice de escurecimento para os três tratamentos nas condições de estocagem C1 e C2.

Análise	T1	T2	T3
C1			
HMF livre	105,26 ± 28,09 ^a	342,69 ± 75,01 ^b	176,19 ± 0,88 ^a
L	94,96 ± 0,20 ^a	93,32 ± 0,48 ^a	94,34 ± 0,28 ^a
a^*	-1,73 ± 0,03 ^a	-1,42 ± 0,51 ^a	-1,83 ± 0,09 ^a
b^*	6,86 ± 0,90 ^a	12,17 ± 1,54 ^b	9,10 ± 0,91 ^{ab}
IE	5,87 ± 0,11 ^a	12,52 ± 2,33 ^b	8,47 ± 0,96 ^b
C2			
HMF livre	157,68 ± 9,74 ^a	986,82 ± 167,28 ^b	390,03 ± 8,64 ^a
L	94,56 ± 0,16 ^c	87,64 ± 0,38 ^a	92,50 ± 0,01 ^b
a^*	-1,67 ± 0,04 ^a	2,45 ± 0,09 ^c	-1,16 ± 0,04 ^b
b^*	8,40 ± 0,11 ^a	23,28 ± 0,49 ^c	15,39 ± 0,32 ^b
IE	7,77 ± 0,80 ^a	32,28 ± 0,82 ^c	16,82 ± 0,44 ^b

Médias seguidas de uma mesma letra, como índice, na mesma linha, não diferem entre si ($p < 0,05$).

T1 – sem hidrólise da lactose, T2 – com hidrólise da lactose, T3 – com hidrólise da lactose + maltodextrina. C1 – 21 °C por 21 dias, C2 – 50 °C por 21 dias.

Fonte: Elaborado pelo próprio autor (2021).

Comparando a condição de estocagem C1 e C2 observa-se que o índice de escurecimento aumentou em todos os produtos na condição de estocagem C2. Este fato é justificado pelo avanço da reação de Maillard que ocorre em maior velocidade em temperaturas mais elevadas (NASSER *et al.*, 2017).

4.2.2 Análise de tamanho de partículas por difração a laser

Na Tabela 7 encontram-se os resultados referentes a análise de tamanho de partículas por difração a laser. Esta análise mede o diâmetro de partículas devido ao seu volume. Já na Figura 5, é possível observar os gráficos da distribuição do tamanho de partículas para cada um dos três tratamentos na condição de estocagem C1 e C2.

Tabela 7 - Resultados da análise de tamanho de partículas para as amostras nas condições de estocagem C1 e C2.

Análise	T1	T2	T3
C1			
d ₉₀	51,11 ± 16,80 ^a	171,18 ± 49,33 ^b	87,39 ± 8,36 ^a
<1 µm	11,73 ± 1,22 ^c	0,00 ± 0,00 ^a	2,95 ± 1,59 ^b
C2			
d ₉₀	113,38 ± 13,88 ^a	362,74 ± 11,59 ^b	127,94 ± 28,32 ^a
<1 µm	0,00 ± 0,00 ^a	0,00 ± 0,00 ^a	0,00 ± 0,00 ^a

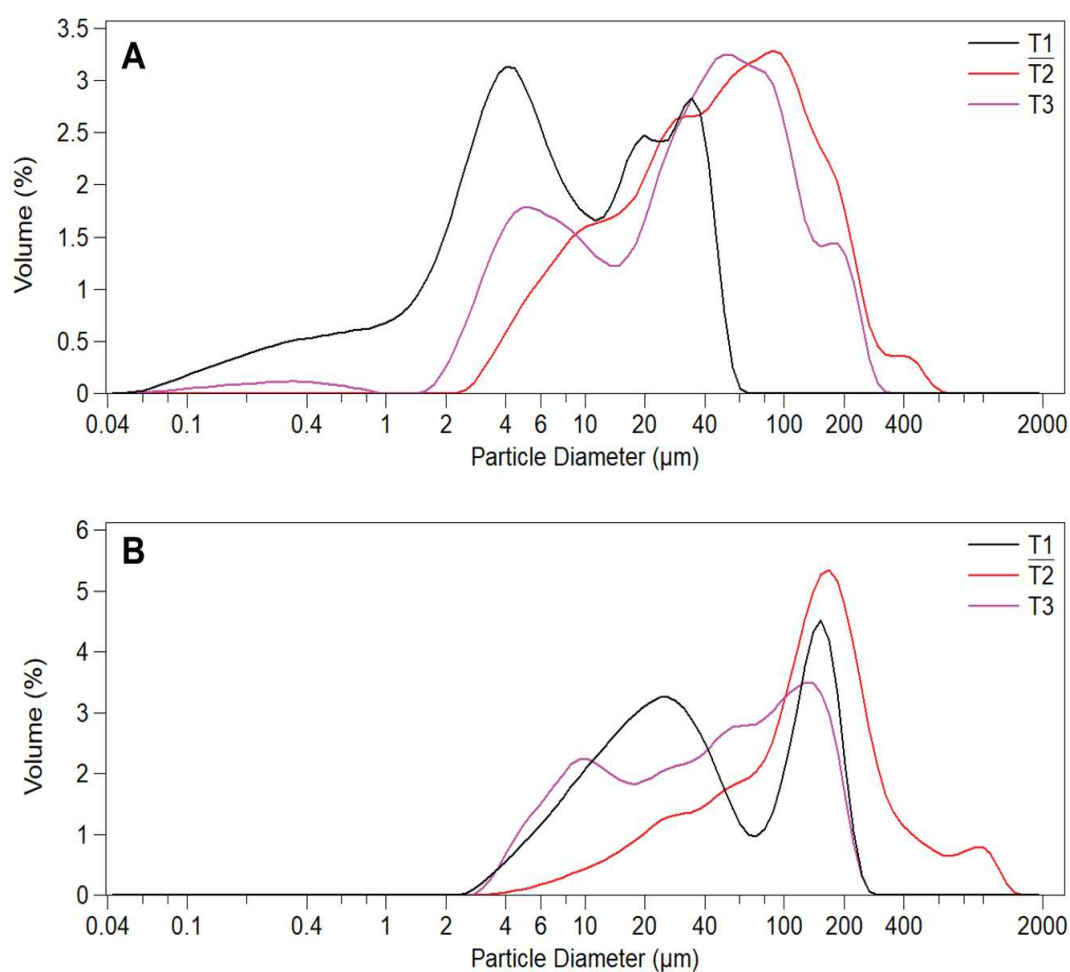
Médias seguidas de uma mesma letra, como índice, na mesma linha, não diferem entre si (p<0,05). T1 – sem hidrólise da lactose, T2 – com hidrólise da lactose, T3 – com hidrólise da lactose + maltodextrina. C1 – 21 °C por 21 dias, C2 – 50 °C por 21 dias.

Fonte: Elaborado pelo próprio autor (2021).

O produto T1 apresentou uma melhor reconstituição, se comparado aos tratamentos hidrolisados na condição C1. Este pó apresentou 11% de suas partículas com tamanho menor que 1 µm e um menor valor de d₉₀, fato também observado na curva em preto da Figura 5A, onde a mesma apresenta regiões com menores distribuições de tamanho. A região menor que 1 µm é referente as proteínas encontradas no leite (CAMPOS *et al.*, 2020). Sabe-se que quanto maior o valor de d₉₀, menor é a eficiência de reconstituição do pó. Na literatura, foi encontrado uma pior reconstituição do leite em pó de vaca

hidrolisado quando comparado com o produto sem hidrólise da lactose (TORRES *et al.*, 2017). Esta situação também foi observada para fórmulas infantis, onde os produtos com maiores teores de lactose apresentaram uma melhor reconstituição se comparado aos produtos que sofreram a quebra desse açúcar (MASUM *et al.*, 2020). Nesta mesma condição de estocagem, o produto T3, por ter sido adicionado de maltodextrina apresentou um melhor processo de reconstituição em relação a T2, apesar de ambos serem hidrolisados. Isto pode ser comprovado pelos menores valores de d_{90} e pela maior população de partículas na região menor que $1\ \mu\text{m}$ do produto T3 (Figura 5A).

Figura 5 - Distribuição do tamanho de partículas para os tratamentos T1 (preto), T2 (vermelho) e T3 (rosa) nas condições de estocagem C1 (21 °C por 21 dias) em A e C2 (50 °C por 21 dias) em B.



Fonte: Elaborado pelo autor (2021).

Em condição de estocagem C2, o produto T1 apresentou uma melhor reidratação se comparado aos outros dois tratamentos. Ao comparar os dois tratamentos que sofreram hidrólise da lactose, o produto T3 apresentou uma melhor reconstituição se comparado a T2 devido aos valores obtidos de d_{90} e para região menor que $1 \mu\text{m}$.

Na condição C2 foi constatada uma piora na reconstituição nos três tratamentos quando comprado com os pós da condição C1. Um fator que pode justificar a diferença na taxa de reidratação dos pós quando armazenados em temperaturas diferentes é a modificação da composição superficial do pó, uma vez que ocorre um aumento na concentração de lipídeos na superfície, ocorrendo assim um abaixamento na concentração de outros compostos que apresentam reações de interação com as moléculas da água (NASSER, *et al.*, 2017). Outro fator para gerar essa piora na reconstituição pode estar relacionado pelo avanço da reação de Maillard, que em temperaturas elevadas aumenta a taxa da reação, o que pode prejudicar a solubilidade do produto. Outro fator que também prejudica a solubilidade do pó, são as reações de oxidação do produto que ocorrem na medida que o pó envelhece (DAMODARAN; PARKIN, 2017; THOMAS *et al.*, 2004).

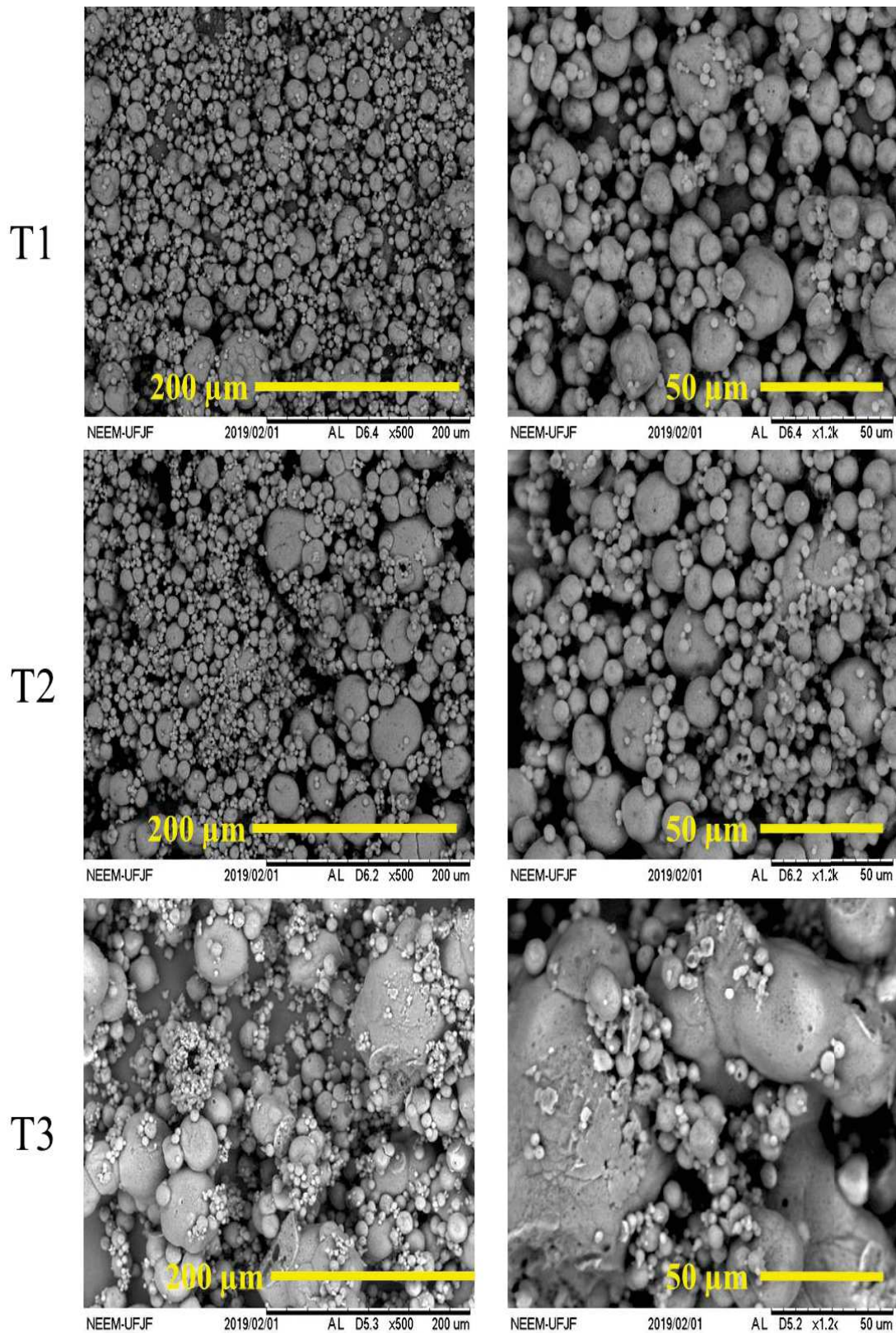
4.2.3 Microscopia eletrônica de varredura e índice de polidispersividade

Foram realizadas medidas de microscopia eletrônica de varredura nas amostras dos pós armazenados nas condições de estocagem C1 (Figura 6) e C2 (Figura 7), visando entender a morfologia dos produtos.

Analisando as imagens, em ambas as condições de estocagem dos produtos, é possível constatar que o produto T1 apresenta menos aglomerações quando comparados aos outros dois tratamentos. Já no tratamento T3, foi possível inferir que, existem partículas com maiores tamanhos se comparadas aos outros tratamentos, fato justificado a agregação do produto durante o processo de secagem.

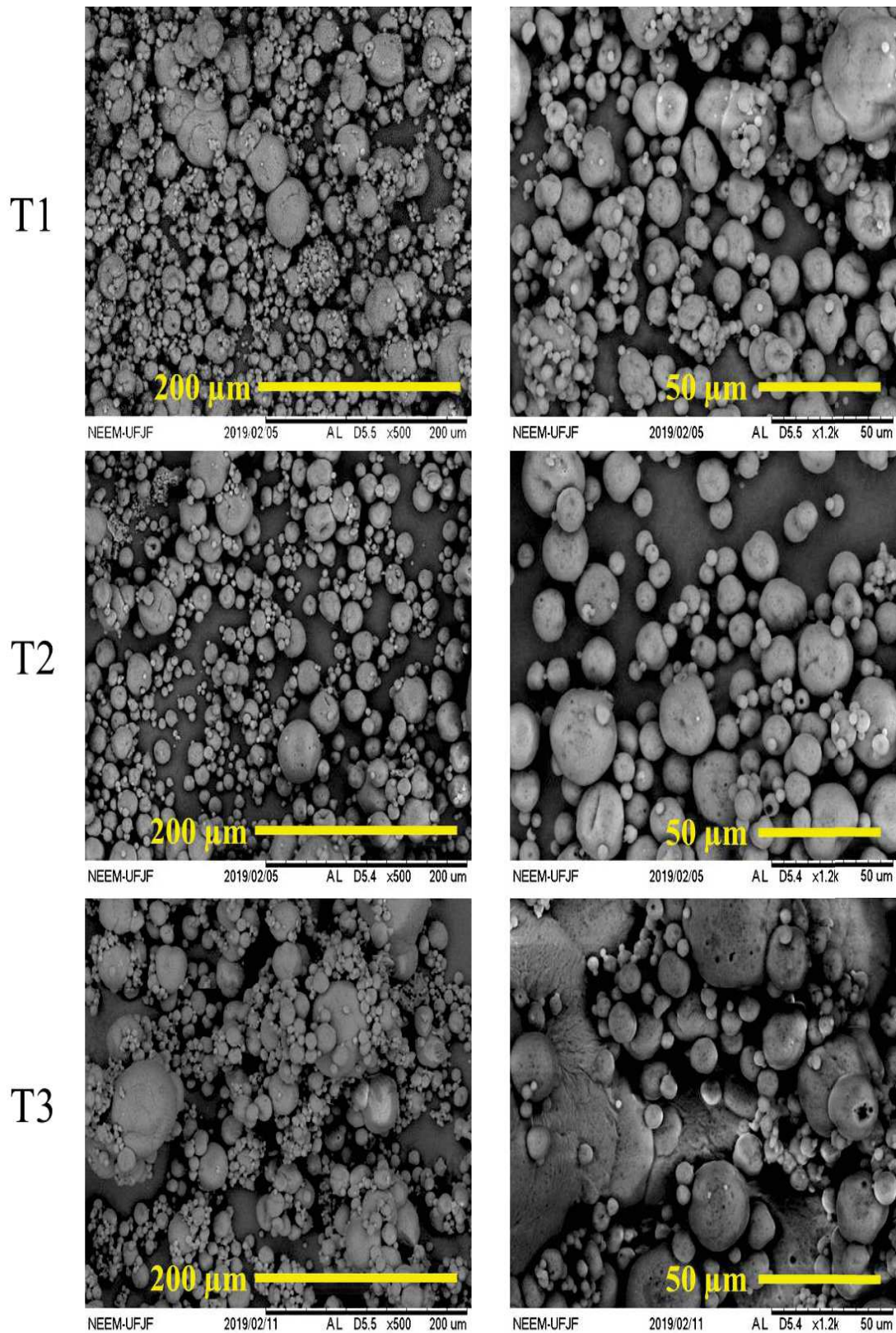
Com o auxílio do *software* ImageJ, foi possível calcular o índice de polidispersividade (PDI), como é possível observar na Tabela 8. Esse índice infere se a amostra é caracterizada como monodispersa ou polidispersa. Uma amostra é dita polidispersa quando o PDI é superior a 0,7, significando que, a amostra não apresenta uma homogeneidade no tamanho de suas partículas. Contraposto, uma amostra é dita monodispersa quando o PDI apresenta valores menores que 0,4, resultando em uma homogeneidade nas suas distribuições (DANAIE *et al.*, 2018).

Figura 6 - Microscopia eletrônica de varredura para os três tratamentos na condição de estocagem C1 (21 °C).



Fonte: Elaborado pelo autor (2021).

Figura 7 - Microscopia eletrônica de varredura para os três tratamentos na condição de estocagem C2 (50 °C).



Fonte: Elaborado pelo autor (2021).

Tabela 8 - Resultados de índice de polidispersividade para as amostras armazenadas nas condições C1 e C2.

Tratamento	Estocagem C1	Estocagem C2
T1	2,37 ± 0,55 ^a	2,08 ± 0,83 ^a
T2	1,67 ± 0,15 ^a	1,96 ± 0,27 ^a
T3	1,83 ± 0,28 ^a	1,77 ± 0,18 ^a

Médias seguidas de uma mesma letra, como índice, na mesma coluna, não diferem entre si ($p < 0,05$).

T1 – sem hidrólise da lactose, T2 – com hidrólise da lactose, T3 – com hidrólise da lactose + maltodextrina. C1 – 21 °C por 21 dias, C2 – 50 °C por 21 dias.

Fonte: Elaborado pelo próprio autor (2021).

Com os valores obtidos pela Tabela 8 é possível concluir que todos os tratamentos apresentaram uma distribuição classificada como polidispersa, já que seus valores são superiores a 0,7. Sendo assim, todas as amostras não apresentam homogeneidade. Além disto, a estocagem C2 não interferiu consideravelmente no índice de polidispersividade para nenhum dos três tratamentos; tal fato significa que a estocagem nas condições realizadas no trabalho não modificou a morfologia das partículas dos pós produzidos.

4.3 GRUPO 2: VARIAÇÃO DA UMIDADE NAS CONDIÇÕES DE ESTOCAGEM

A seguir, serão discutidos os resultados referentes às análises do grupo 2. Foram realizadas análises de isoterma de sorção, espectroscopia Raman e quimiometria dos pós armazenados na condição de estocagem C3.

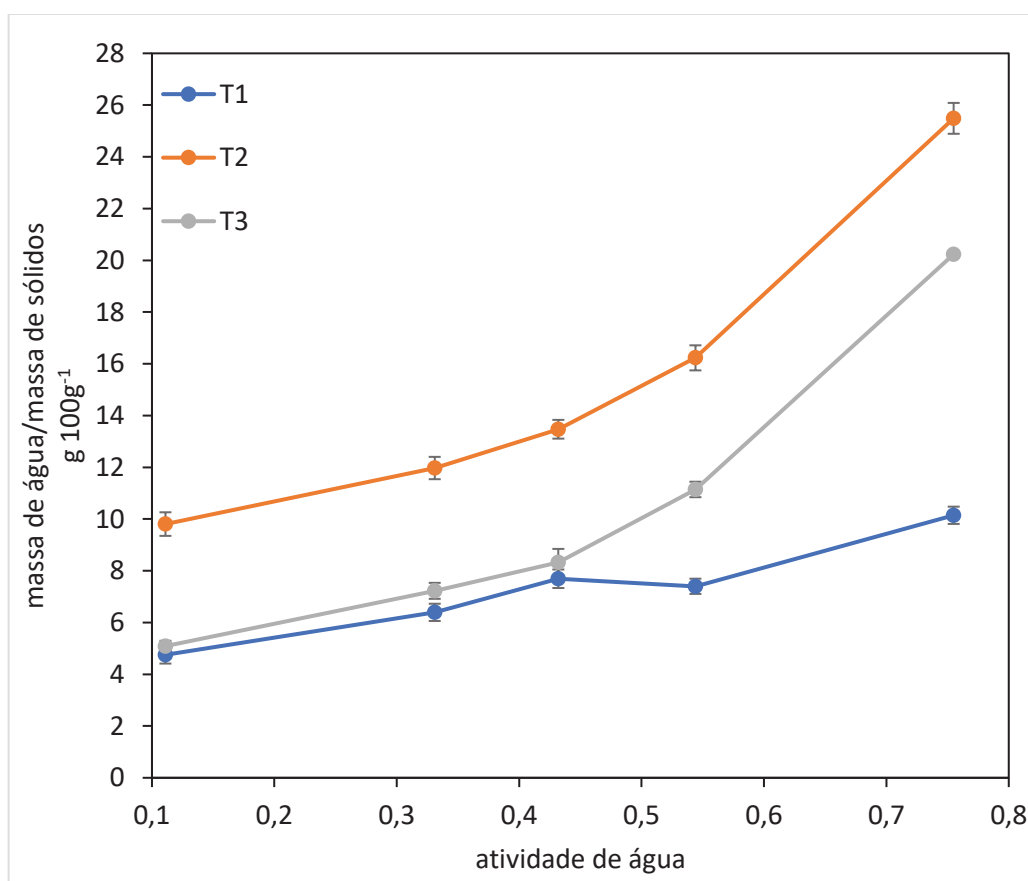
4.3.1 Isoterma de sorção

A Figura 8 expõe o gráfico de isoterma de sorção para os três tratamentos armazenados na condição de estocagem C3.

O produto T1 (curva em azul) obteve uma menor incorporação de água se comparado aos outros dois tratamentos, sendo possível verificar uma inflexão entre os valores de atividade de água de 0,4 e 0,6. Esta inflexão está diretamente relacionada com o processo de cristalização da lactose (TORRES *et al.*, 2016). Já os produtos que sofreram hidrólise da lactose, T2 (curva em laranja) e T3 (curva em cinza), foram capazes de reter

uma maior quantidade de água por 100 g de sólidos, fato que pode ser correlacionado à hidrólise da lactose nestes dois tratamentos. Este fato também foi observado na literatura para leite em pó integral hidrolisado de vaca (TORRES *et al.*, 2016). Por fim, era de se esperar que a absorção de água nos tratamentos hidrolisados acarretasse na cristalização da glicose e/ou galactose, açúcares liberados após a quebra da lactose por meio da lactase, visto que a lactose cristaliza em umidades relativas mais elevadas, porém esse fato não foi observado no presente trabalho (SCHUCK *et al.*, 2005).

Figura 8 - Isotherma de sorção para os tratamentos sem hidrólise da lactose (T1), com hidrólise da lactose (T2) e com hidrólise da lactose + maltodextrina (T3).

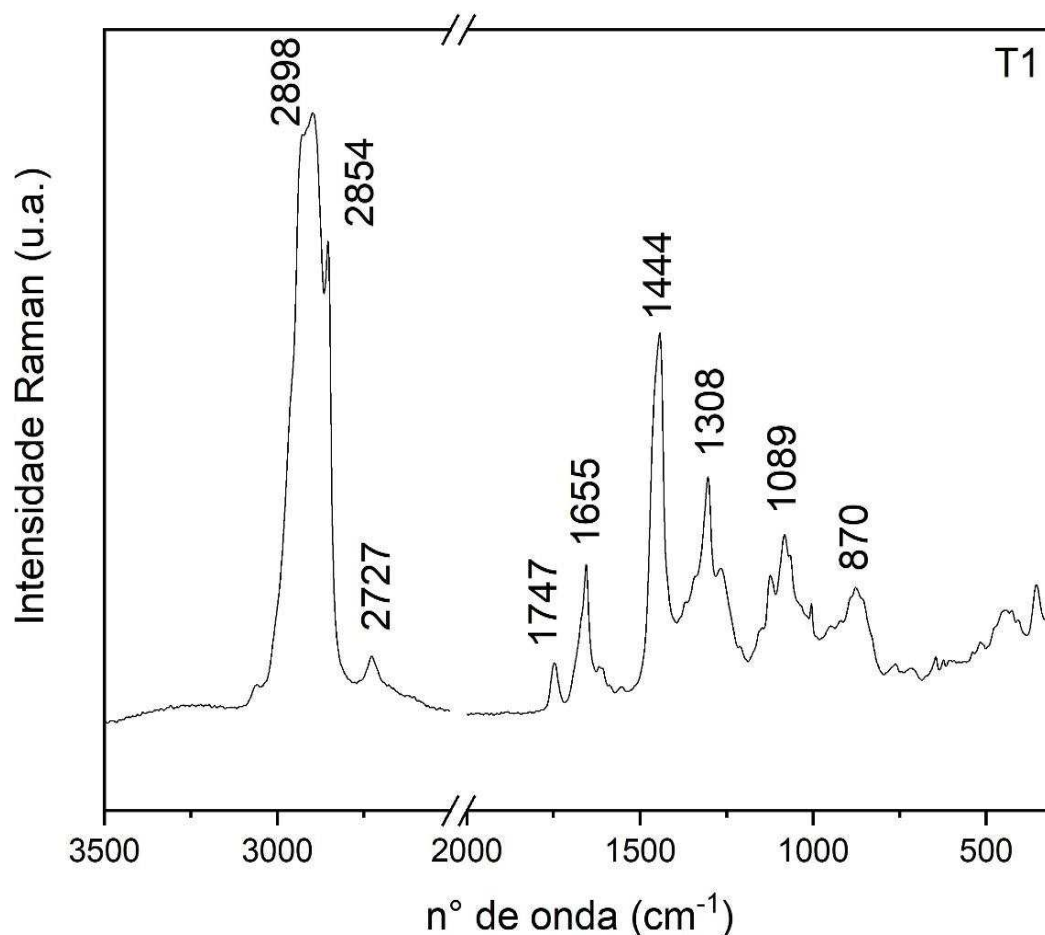


Fonte: Elaborado pelo autor (2021).

4.3.2 Espectroscopia Raman e quimiometria

A Figura 9 mostra o espectro Raman para o tratamento T1 após a produção, com as principais bandas vibracionais marcadas no espectro. A Tabela 9 representa a tentativa de atribuição de cada modo vibracional, com base em dados relatados na literatura.

Figura 9 - Espectro Raman do tratamento sem hidrólise da lactose (T1) após a produção com as principais bandas marcadas.



Fonte: Elaborado pelo autor (2021).

A banda em 2898 cm^{-1} pode ser atribuída ao estiramento simétrico CH_3 de proteínas e carboidratos, enquanto que a banda em 2854 cm^{-1} pode ser atribuída a um modo vibracional característico de lipídeos (estiramento da ligação CH_2). Em 1747 cm^{-1} , novamente, pode ser observada uma banda relacionada a lipídeos, referente ao modo de estiramento $\text{C}=\text{O}$ dos ácidos graxos do leite. A banda em 1655 cm^{-1} pode ser atribuída ao modo amida I de estruturas proteicas e ao modo de estiramento $\text{C}=\text{C}$ de ácidos graxos insaturados. A banda em 1444 cm^{-1} pode ser assinalada à deformação da ligação CH de estruturas lipídicas, carboidratos e aminoácidos alifáticos. Finalmente, as bandas presentes entre 1200 cm^{-1} e 800 cm^{-1} podem ser correlacionadas com diferentes modos

vibracionais de carboidratos (ALMEIDA, 2011; MAHDAD-BENZERDJEB; TALEB-MOKHTARI; SEKKAL-RAHAL, 2007; TORRES *et al.*, 2016; ZHOU *et al.*, 2006).

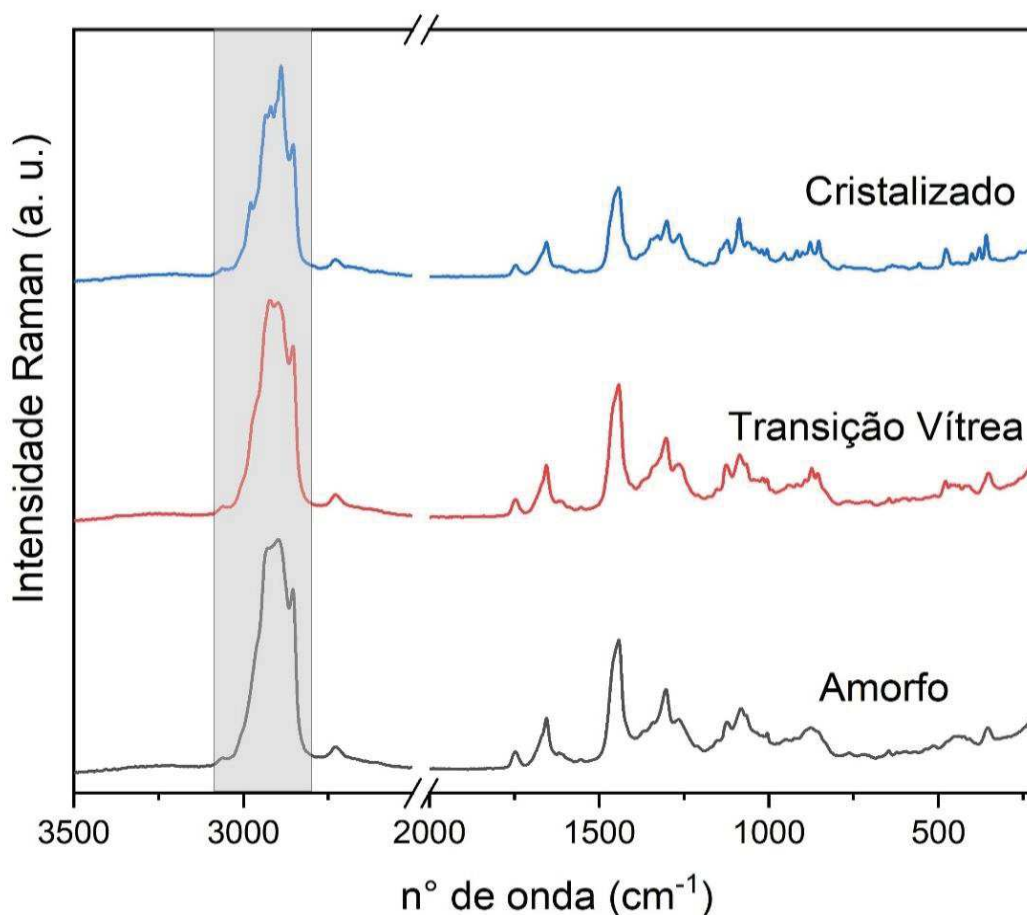
Tabela 9 - Tentativa de atribuição do espectro Raman do tratamento sem hidrólise da lactose (T1) após a produção.

Número de onda (cm ¹)	Tentativa de atribuição
2898	$\nu_s(\text{CH}_3)$
2854	$\nu_s(\text{CH}_2)$
1747	$\nu(\text{C}=\text{O})_{\text{ester}}$
1655	$\nu_{\text{Amida I}}$; $\nu(\text{C}=\text{C})$
1444	$\delta(\text{CH}_2)$
1340	$\delta(\text{C-H})$; $\nu(\text{C-O})$
1122	$\nu(\text{C-O}) + \nu(\text{C-C}) + \delta(\text{C-O-H})$
1082	$\nu(\text{C-O}) + \nu(\text{C-C}) + \delta(\text{C-O-H})$
1004	Respiração do anel (Phe)
877	$\delta(\text{C-C-H}) + \delta(\text{C-O-C})$

Fonte: adaptado de (ALMEIDA, 2011; MAHDAD-BENZERDJEB; TALEB-MOKHTARI; SEKKAL-RAHAL, 2007; TORRES *et al.*, 2016; ZHOU *et al.*, 2006).

A técnica Raman também foi utilizada para estudar o estado físico da lactose presente nos produtos. Com os espectros Raman dos três tratamentos representados na Figura 10, é possível perceber que, em diversas regiões dos espectros, ocorrem mudanças espectrais devido a mudanças no estado físico da lactose. A maior diferença observada se encontra na faixa marcada em cinza na Figura 10, na região que compreende a faixa entre 2800 cm⁻¹ e 3200 cm⁻¹, referente a bandas de carboidratos, como descrito acima. Quando a lactose se encontra no estado amorfo (espectro em preto), temos o aparecimento de duas bandas não muito bem resolvidas. À medida que a cristalização vai ocorrendo, dentro do processo de transição vítrea (espectro em vermelho), é possível perceber o início da mudança espectral, com aparecimento de novas bandas e, ao ocorrer a cristalização (espectro em azul), as bandas observadas no espectro apresentam melhores resoluções e com largura de meia banda menores, como observado anteriormente na literatura (STEPHANI *et al.*, 2017).

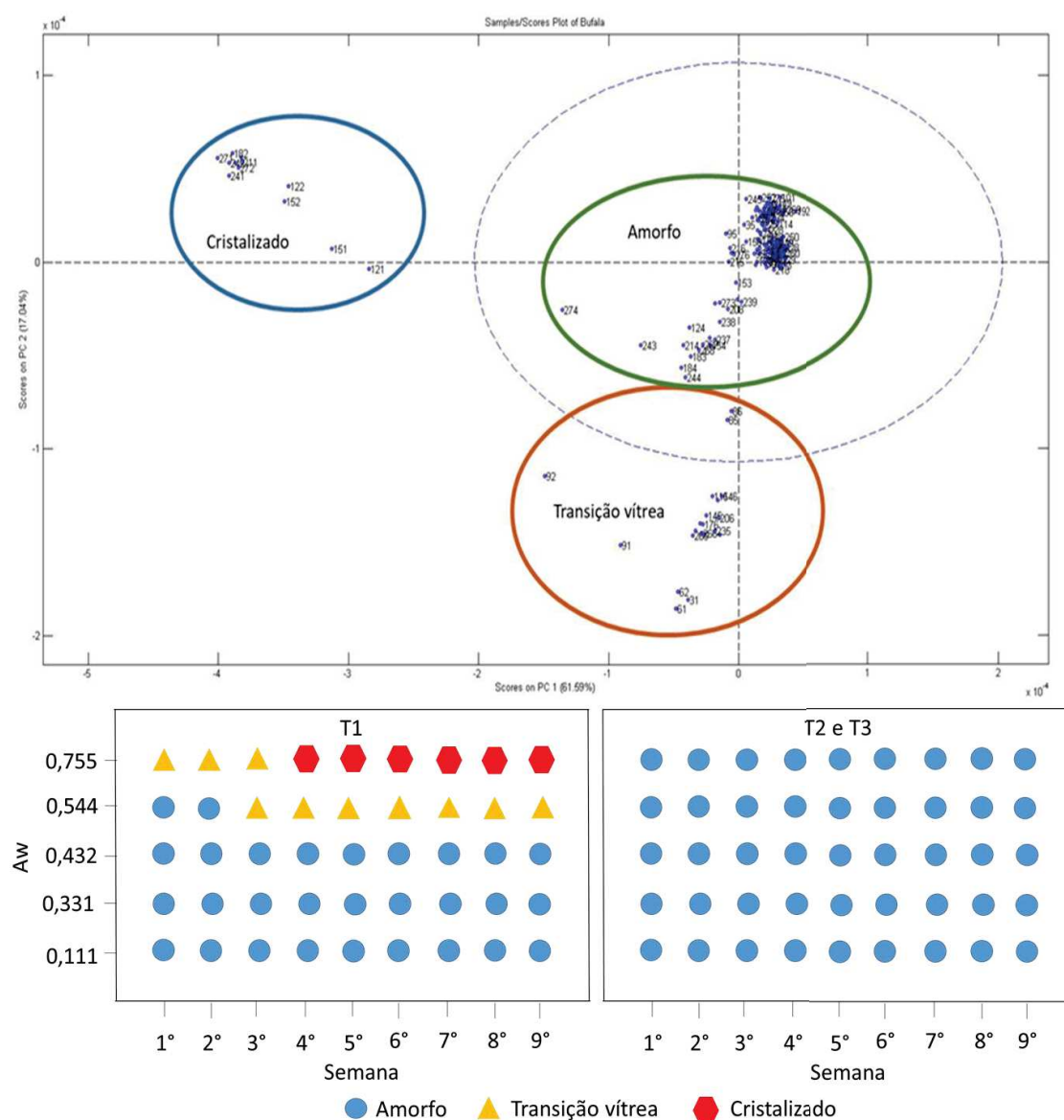
Figura 10 - Espectro Raman representando os três estados físicos da lactose para o produto sem hidrólise da lactose (T1) ao longo das 9 semanas de análise e em cinza a região que sofre modificação durante o processo de cristalização da lactose que foi utilizada para realizar o PCA.



Fonte: Elaborado pelo autor (2021).

Como a espectroscopia Raman apresentou potencial para determinar os estados físicos da lactose, foi utilizado tratamento via quimiometria para separar os produtos em diferentes etapas do processo de cristalização (estado amorfo, transição vítrea e cristalino), como observado na Figura 11. Como descrito na metodologia, foi utilizada a região de 3200 cm^{-1} até 2800 cm^{-1} , visando estudar o processo de cristalização da lactose, visto que é nessa região que ocorre as maiores modificações no espectro.

Figura 11 - Separação dos estados físicos da lactose por análise de componentes principais em A e representação dos estados físicos da lactose para tratamento sem hidrólise da lactose (T1) em B e representação dos estados físicos da lactose para os tratamentos com hidrólise da lactose (T2) e com hidrólise da lactose + maltodextrina (T3) em C.



Fonte: Elaborado pelo autor (2021).

No tratamento T1, foi possível verificar que a lactose no pó começou a entrar no estado de transição vítrea na primeira semana em atividade de água de 0,775 e na terceira semana em atividade de água de 0,554, enquanto que a lactose encontrou-se cristalizada,

apenas na atividade de água de 0,755 a partir da quarta semana. Ambos os fatos, a entrada no estado de transição vítrea e a cristalização da lactose, podem ser justificados em decorrência da absorção de água pelo sistema, garantindo assim uma maior mobilidade para as moléculas de lactose se rearranjarem na forma cristalina (KAMRUL HAQUE; ROOS, 2004). Em atividade de água menor ou igual a 0,432, a lactose do produto manteve-se no estado amorfo, visto que a menor presença de água no meio não foi suficiente para ocorrer o rearranjo necessário para a cristalização da lactose (KAMRUL HAQUE; ROOS, 2004).

Nos produtos que sofreram hidrólise da lactose (T2 e T3), o tratamento via quimiometria classificou todos os produtos no estado amorfo, visto que a estrutura da lactose foi quebrada em glicose e galactose, não existindo assim o dissacarídeo em concentrações suficientes para ocorrer a cristalização.

A técnica de espectroscopia Raman pode ajudar no controle de secagem de produtos lácteos em pó devido à possibilidade de gerar uma maior padronização do produto, não apenas após a secagem, mas também durante o processo de desidratação dos mesmos. Além disto, a técnica apresenta uma análise mais simples que outras técnicas, não é destrutível e é considerada uma técnica multicomponente, ou seja, é possível estudar diversos compostos presentes nos produtos ao mesmo tempo.

5 CONCLUSÃO

A secagem do produto T1 seguiu sem problemas, já os produtos hidrolisados apresentaram a formação de pontos de adesão na câmara de secagem, onde o produto com a adição de maltodextrina após a diluição, apresentou melhores resultados na secagem.

Analisando os resultados das análises de caracterização dos produtos é possível concluir que os três tratamentos apresentaram valores de atividade de água próximo do esperado. Para a análise de umidade o produto T2 apresentou um maior valor se comparado aos outros dois tratamentos. As hidrólises da lactose nos tratamentos T2 e T3 foram de aproximadamente 98%, resultados comprovados pela composição dos teores de açúcares presentes nos produtos. O tratamento T1 apresentou maior concentração de gordura livre, fato que pode ser justificado pela cristalização da lactose no produto, e por fim o tratamento T3 apresentou um valor de gordura total menor que os outros tratamentos, visto que a adição da maltodextrina resultou em uma diluição dos componentes presentes no leite.

No grupo de análises G1, onde foi analisada a variação da temperatura durante o processo de armazenamento dos produtos, é possível concluir que o tratamento T2 apresentou maiores valores de HMF livre, uma pior capacidade de reidratação e um maior avanço da coloração se comparado a T1 e T3 na condição de estocagem C1 e C2. Comparando os resultados entre as duas condições, todos os parâmetros analisados apresentaram uma piora na condição C2; esta piora das condições é associada à maior temperatura de armazenamento, causando o avanço de diversas reações que degradam o produto, entre elas a reação de Maillard.

No grupo de análises G2, onde os produtos foram armazenados em diversos ambientes com condições de umidade relativa diferentes, foi possível perceber que no tratamento T1, a lactose se encontra cristalizada em atividades de água maiores, enquanto os produtos hidrolisados não apresentam a cristalização. A técnica de espectroscopia Raman associada a tratamento quimiométrico mostrou-se uma aliada no estudo de caracterização desses açúcares, devido a praticidade que a técnica proporciona.

Vale salientar que ao analisar todos os resultados obtidos neste trabalho é possível perceber que apenas a manutenção do estado amorfo do produto não gera a garantia de obtenção de melhores produtos no final do processo. Ambos os tratamentos T2 e T3, por serem hidrolisados se encontravam em estado amorfo ao longo de todo o estudo, porém apresentaram piores resultados de HMF livre, reidratação, cor, entre outros, perante ao

produto T1 que ao longo do tempo poderia sofrer o processo de cristalização da lactose. Vale ressaltar também que a adição da maltodextrina auxiliou em melhores resultados ao comparar os dois tratamentos que sofreram hidrólise da lactose, se tornando assim um ótimo aliado na produção de produtos lácteos em pó de búfala hidrolisados que tenham como objetivo final o consumidor direto.

Por fim é possível concluir que o leite de búfala apresenta maior facilidade no processo de secagem que o leite bovino devido ao seu alto valor proteico que auxilia no processo de secagem. Além disso foi possível perceber que a produção de pós sem hidrólise da lactose é mais simples que de produtos hidrolisados. Os pós que sofrem hidrólise da lactose também necessitam de um melhor controle de armazenamento (menor valor de temperatura e umidade) que o produto tradicional visto que esses produtos podem desenvolver diversas características indesejáveis aos pós.

REFERÊNCIAS

AALAEI, K.; RAYNER, M.; SJÖHOLM, I. Chemical methods and techniques to monitor early Maillard reaction in milk products; A review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 59, n. 12, p. 1829–1839, 2019.

ABDULLAH, A.; MOHAMMED, A. Scanning Electron Microscopy (SEM): A Review. **Proceedings of 2018 International Conference on Hydraulics and Pneumatics - HERVEX**, v. 7–9, n. November, p. 1–9, 2019.

ABRÀMOFF, M. D.; MAGALHÃES, P. J.; RAM, S. J. Image processing with imageJ. **Biophotonics International**, v. 11, n. 7, p. 36–41, 2004.

AHMAD, S. et al. Effects of acidification on physico-chemical characteristics of buffalo milk: A comparison with cow's milk. **Food Chemistry**, v. 106, n. 1, p. 11–17, 2008.

ALLEN, T. **Particle size measurement**. 4^o ed. London: Chapman & Hall, 1993.

ALMEIDA, M. R. DE. **Avaliação da Qualidade e Variedade de Leite em Pó e Leite Condensado por Espectroscopia Raman e Análise Multivariada**. 2011. Dissertação (Mestrado em Química) - Departamento de Química, Universidade Federal de Juiz de Fora, 2011.

ALVES, M. F. et al. Effect of spray drying on the fatty acids content and nutritional indices of buffalo powdered milk. **Food Science and Technology**, v. 40, n. 1, p. 230–237, 2020.

ANDRADE, K. D. DE. **Qualidade do leite de búfala (*Bubalus bubalis*) suplementada com selênio**. 2015. Dissertação (Mestrado em Produção Animal) - Departamento de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, 2015.

BARBOSA, M. G. et al. Leites A1 e A2: revisão sobre seus potenciais efeitos no trato digestório. **Segurança Alimentar e Nutricional**, v. 26, p. 1–11, 2019.

BARRAGÁN-HERNÁNDEZ, W. A. et al. Caracterización y clasificación de la calidad composicional de la leche de búfalo (*Bubalus bubalis*) y de vaca (*Bos spp.*) en Colombia. **Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia**, v. 66, n. 1, p. 43–52, 2019.

BELLETTI, N. et al. The size of native milk fat globules affects physico-chemical and sensory properties. **Journal of food protection**, v. 72, n. 10, p. 2162–2169, 2009.

BIJL, E. et al. Protein, casein, and micellar salts in milk: Current content and historical perspectives. **Journal of Dairy Science**, v. 96, n. 9, p. 5455–5464, 2013.

BONIATTI, J. **Desenvolvimento e validação de metodologia de distribuição granulométrica por espalhamento de luz laser do insumo farmacêutico ativo efavirenz**. [s.l.] Fundação Oswaldo Cruz, 2013.

- BORGES, M. V. et al. Chemical, Sctructural and Proteomic of buffalo milk powder produced in mini spray dryer. **Revista Mexicana de Ingeniera Quimica**, v. 16, n. 1, p. 67–76, 2017.
- BUSTAMANTE, C.; CAMPOS, R.; SÁNCHEZ, H. Production and composition of buffalo milk supplemented with agro industrial byproducts of the African palm. **Revista Facultad Nacional de Agronomia Medellin**, v. 70, n. 1, p. 8085–8090, 2017.
- CAMPOS, N. DA S. et al. Técnicas analíticas para o controle de qualidade e desenvolvimento de produtos na indústria de secagem de soro. In: DE CARVALHO, A. F. et al. (Eds.). . **Química e tecnologia do soro de leite**. 1. ed. Juiz de Fora: Innóvite, 2020. p. 145–173.
- CARIC, M. Effects of Drying Techniques on Milk Powders Quality and Microstructure : A Review. **Food Structure**, v. 6, n. 2, 1987.
- CAVALCANTE, P. O. S. et al. Multivariate approach in the evaluation of the production and composition of buddalo milk in nordestine semiarid. **Revista Caatinga**, v. 32, n. 4, p. 1077–1086, 2019.
- CHEN, L. et al. Analysis of 17 elements in cow, goat, buffalo, yak, and camel milk by inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS). **RSC Advances**, v. 10, n. 12, p. 6736–6742, 2020.
- COSTA, C. H. F. DA. **Avaliação microestrutural do leite pasteurizado submetido ao teste do álcool visando procedimento UHT**. 2016. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia do Leite e Derivados) - Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Juiz de Fora, 2016.
- CREWE, A. V.; ISAACSON, M.; JOHNSON, D. A simple scanning electron microscope. **Review of Scientific Instruments**, v. 40, n. 2, p. 241–246, 1969.
- DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L. **Química de alimentos de Fennema**. 5. ed. New York: CRC Press, 2017.
- DANAELI, M. et al. Impact of particle size and polydispersity index on the clinical applications of lipidic nanocarrier systems. **Pharmaceutics**, v. 10, n. 2, p. 1–17, 2018.
- DANTAS, D. et al. Influence of spray drying conditions on the properties of avocado powder drink. **Food Chemistry**, v. 266, p. 284–291, 2018.
- DE ALMEIDA, K. N. et al. Hidrólise Enzimática Da Lactose De Permeado De Soro. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 70, n. 2, p. 55, 2015.
- DE OLIVEIRA, A. H. et al. Influence of spray drying conditions on the properties of whole goat milk. **Drying Technology**, p. 1–12, 2020.
- DE OLIVEIRA, L. F. C. Espectroscopia Molecular. **Cadernos Temáticos de Química Nova na Escola**, v. 4, n. Maio, p. 24–30, 2001.

DEKKER, P. J. T.; KOENDERS, D.; BRUINS, M. J. Lactose-free dairy products: Market developments, production, nutrition and health benefits. **Nutrients**, v. 11, n. 3, p. 1–14, 2019.

DRAPALA, K. P. et al. Influence of emulsifier type on the spray-drying properties of model infant formula emulsions. **Food Hydrocolloids**, v. 69, p. 56–66, 2017.

DUNSHEA, F. R. et al. Mineral and citrate concentrations in milk are affected by seasons, stage of lactation and management practices. **Agriculture (Switzerland)**, v. 9, n. 2, p. 9–11, 2019.

EL ZUBEIR, I. E. M.; ELOWNI, O. A. O.; MOHAMED, G. E. Effect of mastitis on macro-minerals of bovine milk and blood serum in Sudan. **Journal of the South African Veterinary Association**, v. 76, n. 1, p. 22–25, 2005.

ELLIS, G. P. The Maillard Reaction. In: **Advances in carbohydrate chemistry**. [s.l.] Academic Press, 1959. p. 63–134.

ELMONSEF OMAR, A. M.; ROOS, Y. H. Glass transition and crystallization behaviour of freeze-dried lactose-salt mixtures. **LWT - Food Science and Technology**, v. 40, n. 3, p. 536–543, 2007.

FALLICO, B. et al. Effects of conditioning on HMF content in unifloral honeys. **Food Chemistry**, v. 85, n. 2, p. 305–313, 2004.

FIALHO, T. L. et al. Lactose-hydrolyzed milk powder: Physicochemical and technofunctional characterization. **Drying Technology**, v. 36, n. 14, p. 1688–1695, 2018.

FIGUEIREDO, E. L.; JÚNIOR, J. D. B. L.; TORO, M. J. U. Caracterização Físico-Química E Microbiológica Do Leite De Búfala “in Natura” Produzido No Estado Do Pará. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, v. 4, n. 1, p. 19–28, 2010.

FRANCISQUINI, J. D. A. et al. Avaliação da intensidade da reação de Maillard, de atributos físico-químicos e análise de textura em doce de leite. **Revista Ceres**, v. 63, n. 5, p. 589–596, 2016.

FRANCISQUINI, J. D. A. et al. 5-Hydroxymethylfurfural formation and color change in lactose-hydrolyzed Dulce de leche. **Journal of Dairy Research**, v. 86, n. 4, p. 477–482, 2019.

FRANCISQUINI, J. D. A. et al. Particle size distribution applied to milk powder rehydration. **Química Nova**, v. 43, n. 2, p. 226–230, 2020.

GADONSKI, A. P. et al. Avaliação do efeito cromático em resinas compostas nanoparticuladas submetidas a solução café. **Revista de Odontologia da UNESP**, v. 47, n. 3, p. 137–142, 2018.

GÄNZLE, M. G.; HAASE, G.; JELEN, P. Lactose: Crystallization, hydrolysis and value-added derivatives. **International Dairy Journal**, v. 18, n. 7, p. 685–694, 2008.

GILLIBERT, R. et al. Food quality control by Surface Enhanced Raman Scattering. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 105, p. 185–190, 2018.

GUO, L. et al. A survey on the aflatoxin M1 occurrence in raw milk and dairy products from water buffalo in South China. **Food Control**, v. 105, n. April, p. 159–163, 2019.

HABTEGEBRIEL, H. et al. Effect of operating parameters on the surface and physico-chemical properties of spray-dried camel milk powders. **Food and Bioprocess Processing**, v. 112, p. 137–149, 2018.

HAN, B. Z. et al. A survey on the microbiological and chemical composition of buffalo milk in China. **Food Control**, v. 18, n. 6, p. 742–746, 2007.

HE, H. et al. Applications of Raman spectroscopic techniques for quality and safety evaluation of milk: A review of recent developments. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 59, n. 5, p. 770–793, 2019.

HINZ, K. et al. Comparison of the principal proteins in bovine, caprine, buffalo, equine and camel milk. **Journal of Dairy Research**, v. 79, n. 2, p. 185–191, 2012.

HORWITZ, W. **Official Methods of Analysis of AOAC International**. 20 Ed. 2016.

IGATHINATHANE, C.; PORDESIMO, L. O.; BATCHELOR, W. D. Major orthogonal dimensions measurement of food grains by machine vision using ImageJ. **Food Research International**, v. 42, n. 1, p. 76–84, 2009.

IMRAN, M. et al. Physicochemical characteristics of various milk samples available in Pakistan. **Journal of Zhejiang University: Science B**, v. 9, n. 7, p. 546–551, 2008.

KAMRUL HAQUE, M.; ROOS, Y. H. Water Plasticization and Crystallization of Lactose in Spray-dried Lactose/Protein Mixtures. **Journal of Food Science**, v. 69, n. 1, p. 23–29, 2004.

KEENEY, M.; BASSETTE, R. Detection of Intermediate Compounds in the Early Stages of Browning Reaction in Milk Products. **Journal of Dairy Science**, v. 42, n. 6, p. 945–960, 1959.

KHANJI, A. N. et al. Structure, gelation, and antioxidant properties of curcumin-doped casein micelle powder produced by spray-drying. **Food and Function**, v. 9, n. 2, p. 971–981, 2018.

KIM, A. et al. Melamine Sensing in Milk Products by Using Surface Enhanced Raman Scattering. **Analytical Chemistry**, v. 84, p. 9303–9309, 2012.

KLEIN, M. P.; DE JONG, E. V.; RÉVILLION, J. P. P. Utilização da β -galactosidase para prevenção da cristalização em doce de leite. **Ciencia e Agrotecnologia**, v. 34, n. 6, p. 1530–1535, 2010.

LANGRISH, T. A. G.; CHAN, W. C.; KOTA, K. Comparison of maltodextrin and skim milk wall deposition rates in a pilot-scale spray dryer. **Powder Technology**, v. 179, n. 1–

2, p. 84–89, 2007.

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. **Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 68, n. 2, p. 284–299, 2007.

MASUM, A. K. M. et al. Effect of storage conditions on the physicochemical properties of infant milk formula powders containing different lactose-to-maltodextrin ratios. **Food Chemistry**, v. 319, n. March, p. 126591, 2020.

MCCARTHY, N. A. et al. Effect of protein content on the physical stability and microstructure of a model infant formula. **International Dairy Journal**, v. 29, n. 1, p. 53–59, 2013.

MELQUÍADES, L. L. **Leite em pó reduzido e baixo teor de lactose: produção e determinação das propriedades físico-químicas e microestruturais durante o armazenamento**. 2019. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia) - Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Juiz de Fora, 2019.

MÉNARD, O. et al. Buffalo vs. cow milk fat globules: Size distribution, zeta-potential, compositions in total fatty acids and in polar lipids from the milk fat globule membrane. **Food Chemistry**, v. 120, n. 2, p. 544–551, 2010.

MONTEIRO, M. K. S. **Obtenção e caracterização de bionanocompósitos de fécula de mandioca e argila bentonita organofilizada por mistura de tensoativos**. 2017. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, 2017.

NARANJO, G. B. et al. The kinetics of Maillard reaction in lactose-hydrolysed milk powder and related systems containing carbohydrate mixtures. **Food Chemistry**, v. 141, n. 4, p. 3790–3795, 2013.

NASSER, S. et al. Influence of storage conditions on the functional properties of micellar casein powder. **Food and Bioproducts Processing**, v. 106, p. 181–192, 2017.

NASSER, S. et al. Microstructure evolution of micellar casein powder upon ageing: Consequences on rehydration dynamics. **Journal of Food Engineering**, v. 206, p. 57–66, 2017.

NEVES, L. N. DE O.; OLIVEIRA, M. A. L. Effects of enzymatic lactose hydrolysis on thermal markers in lactose-free UHT milk. **Journal of Food Science and Technology**, v. 57, n. 9, p. 3518–3524, 2020.

OAK, S. J.; JHA, R. The effects of probiotics in lactose intolerance: A systematic review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 59, n. 11, p. 1675–1683, 2019.

OGOLLA, J. A. et al. Influence of Inlet Drying Air Temperature and Milk Flow Rate on the Physical, Optical and Thermal Properties of Spray-Dried Camel Milk Powders. **Food and Bioprocess Technology**, v. 12, n. 5, p. 751–768, 2019.

PATEL, R. S.; MISTRY, V. V. Physicochemical and Structural Properties of Ultrafiltered Buffalo Milk and Milk Powder. **Journal of Dairy Science**, v. 80, n. 5, p. 812–817, 1997.

PAULA, I. L. DE et al. Estado vítreo e condições de operação do spray dryer para a secagem de soro. In: DE CARVALHO, A. F. et al. (Eds.). . **Química e tecnologia do soro de leite**. 1. ed. Juiz de Fora: Innóvite, 2020. p. 98–113.

PERRONE, Í. T. et al. Influência das condições de operação em spray dryer piloto sobre a umidade e a atividade de água do leite em pó integral. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 68, n. 393, p. 5–9, 2013.

PERRONE, Í. T. et al. Soro Em Pó: Estado Vítreo E Condições De Operação Do Spray Dryer. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 71, n. 2, p. 106, 2016.

PERRONE, T. et al. Processo Para a Secagem De Soro Integral Em Equipamento Semi-Industrial. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 66, n. 381, p. 16–22, 2011.

RANSMARK, E. et al. Measurement of homogenisation efficiency of milk by laser diffraction and centrifugation. **International Dairy Journal**, v. 96, p. 93–97, 2019.

RICHARD, B. et al. Towards a better control of dairy powder rehydration processes. **International Dairy Journal**, v. 31, n. 1, p. 18–28, 2013.

ROWLING, J. K. **Harry Potter and the Chamber of Secrets**. 1° ed. London: Bloomsbury Publishing, 1998, p. 211.

SALA, O. **Fundamentos da Espectroscopia Raman e no Infravermelho**. 2° ed. São Paulo: UNESP, 2008.

SANTOS, V. M. DOS et al. Soro de leite com hidrólise da lactose: desafios na secagem. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 73, n. 2, p. 102–111, 2018.

SAXENA, J. et al. Influence of lactose pre-crystallization on the storage stability of infant formula powder containing lactose and maltodextrin. **Food Hydrocolloids**, v. 111, n. July 2020, p. 106385, 2021.

SCHRYVER, H. F. et al. Lactation in the horse: The mineral composition of mare milk. **Journal of Nutrition**, v. 116, n. 11, p. 2142–2147, 1986.

SCHUCK, P. et al. Thermohygroscopic sensor: A tool for optimizing the spray drying process. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 6, n. 1, p. 45–50, 2005.

SCHUCK, P. et al. Drying by desorption: A tool to determine spray drying parameters. **Journal of Food Engineering**, v. 94, n. 2, p. 199–204, 2009.

SCHUCK, P. et al. Recent advances in spray drying relevant to the dairy industry: A comprehensive critical review. **Drying Technology**, v. 34, n. 15, p. 1773–1790, 2016.

SCHUCK, P.; DOLIVET, A.; JEANTET, R. **Analytical Methods for Food and Dairy Powders**. 1. ed. West Sussex: John Wiley & Sons, 2012.

SHIBAO, J.; BASTOS, D. H. M. Produtos da reação de Maillard em alimentos: Implicações para a saúde. **Revista de Nutricao**, v. 24, n. 6, p. 895–904, 2011.

SILVA, C. R. DA et al. Thermodynamic characterization of single-stage spray dryers: Mass and energy balances for milk drying. **Drying Technology**, v. 35, n. 15, p. 1791–1798, 2017.

SILVA, F.; GASPARIN, R. Alergia à Proteína do Leite de Vaca Versus Intolerância à Lactose: As Diferenças e Semelhanças. **Saúde e Pesquisa**, v. 3, n. 1, p. 107–114, 2010.

SINGH, M. et al. Profiling and distribution of minerals content in cow, buffalo and goat milk. **Indian Journal of Dairy Science**, v. 72, n. 5, p. 480–488, 2019.

SMITH, K. C. A.; OATLEY, C. W. The scanning electron microscope and its fields of application. **British Journal of Applied Physics**, v. 6, n. 11, p. 391–399, 1955.

SMITH, M. A. et al. Advanced Maillard reaction end products are associated with Alzheimer disease pathology. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 91, n. 12, p. 5710–5714, 1994.

STEPHANI, R. **Uma contribuição à pesquisa das propriedades dos concentrados proteicos de soro de leite**. 2015. Tese (Doutorado em Química) - Departamento de Química, Universidade Federal de Juiz de Fora, 2015.

STEPHANI, R. et al. Raman spectroscopy as a tool to identify modification of whey protein concentrate (WPC) during shelf life. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 11, p. 1–9, 2017.

SULIEMAN, A. M. E. et al. Comparison of Physicochemical Properties of Spray-dried Camel's Milk and Cow's Milk Powder. **International Journal of Food Science and Nutrition Engineering**, v. 4, n. 1, p. 15–19, 2014.

SURI, S. et al. Considerations for development of lactose-free food. **Journal of Nutrition and Intermediary Metabolism**, v. 15, n. November 2018, p. 27–34, 2019.

TEIXEIRA, L. V.; BASTIANETTO, E.; OLIVEIRA, D. A. A. Leite de búfala na indústria de produtos lácteos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 29, n. 2, p. 96–100, 2005.

THOMAS, M. E. C. et al. Milk powders ageing: Effect on physical and functional properties. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 44, n. 5, p. 297–322, 2004.

TORO-SIERRA, J.; SCHUMANN, J.; KULOZIK, U. Impact of spray-drying conditions on the particle size of microparticulated whey protein fractions. **Dairy Science and Technology**, v. 93, n. 4–5, p. 487–503, 2013.

TORRES, J. K. F. et al. Hidrólise Da Lactose E Produção De Leite Em Pó: Aspectos Tecnológicos. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 71, n. 2, p. 94, 2016.

TORRES, J. K. F. et al. Technological aspects of lactose-hydrolyzed milk powder. **Food Research International**, v. 101, n. February, p. 45–53, 2017.

XU, D. et al. Effect of carrier agents on the physical properties and morphology of spray-dried *Monascus* pigment powder. **Lwt**, v. 98, n. 11, p. 299–305, 2018.

ZHOU, Q. et al. Sequential changes of main components in different kinds of milk powders using two-dimensional infrared correlation analysis. **Journal of Molecular Structure**, v. 799, n. 1–3, p. 77–84, 2006.

ZOUARI, A. et al. Effect of outlet drying temperature and milk fat content on the physicochemical characteristics of spray-dried camel milk powder. **Drying Technology**, v. 37, n. 13, p. 1615–1624, 2019.

ZOUARI, A. et al. Changes in physical and biochemical properties of spray dried camel and bovine milk powders. **Lwt**, v. 128, n. March, p. 109437, 2020.