

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

Alan Campos da Silva

DESENVOLVIMENTO DE DOCE DE LEITE SEM ADIÇÃO DE SACAROSE E SEM
LACTOSE

Juiz de Fora
2016

Alan Campos da Silva

**DESENVOLVIMENTO DE DOCE DE LEITE SEM ADIÇÃO DE SACAROSE E SEM
LACTOSE**

Dissertação apresentada ao curso de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia do Leite e Derivados da Universidade Federal de Juiz de Fora, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciência e Tecnologia do Leite e Derivados.

Orientador: Prof. Dr. Marco Antônio Moreira Furtado

Co-orientador: Prof. Dr. Humberto Moreira Húngaro

**Juiz de Fora
2016**

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

Campos da Silva, Alan .

Desenvolvimento de doce de leite sem adição de sacarose e sem lactose / Alan Campos da Silva. -- 2016.

75 p.

Orientador: Marco Antônio Moreira Furtado

Coorientador: Humberto Moreira Húngaro

Dissertação (mestrado profissional) - Universidade Federal de Juiz de Fora, Faculdade de Farmácia e Bioquímica. Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia do Leite e Derivados, 2016.

1. Doce de leite. 2. Hidrólise da lactose. 3. Lactase. 4. Aceitação sensorial. I. Moreira Furtado, Marco Antônio , orient. II. Moreira Húngaro, Humberto, coorient. III. Título.

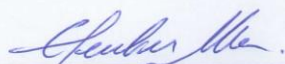
Desenvolvimento de doce de leite sem adição de sacarose e sem lactose

Alan Campos da Silva

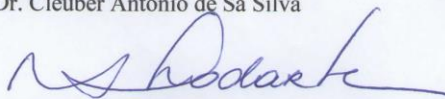
Orientador: Prof. Dr. Marco Antônio Moreira Furtado

Dissertação de Mestrado submetida ao Mestrado Profissional em Ciência e Tecnologia do Leite e Derivados, da Universidade Federal de Juiz de Fora - UFJF, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia do Leite e Derivados.

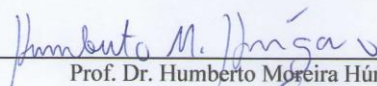
Aprovado em 12/08/2016.



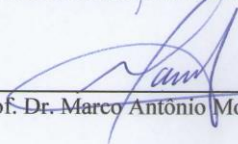
Prof. Dr. Cleuber Antônio de Sá Silva



Prof(a). Dr(a). Mirian Péreira Rodarte



Prof. Dr. Humberto Moreira Húngaro



Prof. Dr. Marco Antônio Moreira Furtado

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter experimentado sua maior graça, o dom da vida. Por ter dividido comigo os sorrisos nas horas alegres e me carregado no colo nos momentos difíceis, obrigado por me guiar no caminho da sabedoria, da serenidade e da fé.

Aos meus pais, Sandra e Mário e minha irmã Nágila, pelo amor incondicional e por estarem ao meu lado em todos os momentos de minha vida, vocês são especiais! Amo vocês!

A minha namorada Thaeny, por todo amor, dedicação, paciência, compreensão e companheirismo, agradeço a Deus por ter colocado você em meu caminho e que possamos continuar felizes para todo sempre, te amo.

A família e laticínio Souvenir, por todo apoio, financiamento, amizade, dedicação, profissionalismo e pelas experiências passadas e vividas, vocês são os grandes responsáveis por minha formação pessoal e profissional, meu muito obrigado.

Aos funcionários do laticínio Souvenir, em especial ao Sérgio Lima, pelo comprometimento, profissionalismo e companheirismo, pelas horas extras e sem almoço desde a pesagem dos ingredientes até a beira do tacho, você também é um mestre.

Ao orientador Marco Antônio Moreira Furtado, pela dedicação, empenho, incentivo, paciência, pelos conhecimentos pessoais, profissionais e acadêmicos. Obrigado por acreditar no trabalho.

Ao co-orientador Humberto Moreira Húngaro por todo apoio na elaboração, realização das análises, discussões e ensinamentos... Meus sinceros agradecimentos!

Aos professores que tanto colaboraram neste projeto, Miriam Pereira Rodarte, Márcio Roberto da Silva, Jair Adriano Kopke de Aguiar, Ângelo Márcio Leite Denadai e Rodrigo Stephani.

Aos professores da Universidade Federal de Viçosa, Antônio Fernandes de Carvalho, Ítalo Tuler Perrone e Eduardo Basílio de Oliveira, por todo apoio e incentivo para a realização deste mestrado.

Aos professores do mestrado por todo conhecimento e ensinamentos adquiridos.

Aos alunos do laboratório de Tecnologia de Alimentos e do Laboratório de Análise de Alimentos e Águas (LAAA) da Faculdade de Farmácia da UFJF, que não mediram esforços e empenho na realização das atividades.

Aos amigos do mestrado pelos momentos de aprendizagem, amizade e companheirismo.

Às empresas Macalé e Chr. Hansen, por todo suporte técnico, financeiro e parceria no projeto.

Ao programa de mestrado, por ter me proporcionado toda essa vivência.

E por todos aqueles que de alguma forma contribuíram para a realização desse mestrado, meus mais sinceros agradecimentos!

“Senhor, concedei-me a serenidade para aceitar as coisas que não posso modificar. Coragem para modificar aquelas que posso e sabedoria para perceber a diferença.”

Autor desconhecido

RESUMO

Doce de leite (DL) é um dos produtos lácteos concentrados mais populares no Brasil. Entretanto, o elevado valor calórico, teor de açúcar e/ou a presença de lactose limitam sua difusão entre os consumidores. Portanto, o desenvolvimento de produtos lácteos para dietas restritivas, principalmente, intolerância à lactose e valor calórico reduzido, é um desafio para a indústria laticinista e uma oportunidade de mercado. O objetivo deste trabalho foi desenvolver e caracterizar DL sem adição de sacarose e sem lactose (SL) e sem adição de sacarose (SA), bem como avaliar sua aceitação sensorial e intenção de compra pelos consumidores. Produziram-se os três tipos de DL, tradicional (TR), SL e SA. O leite destinado à produção do DL SL foi hidrolisado pela enzima β -galactosidase e o grau de hidrólise acompanhado pelo índice crioscópico. A fabricação ocorreu em tacho aberto com concentração para um teor de sólidos solúveis de 61 – 68 °Brix. Os DL foram analisados, quanto à hidrólise da lactose, por meio de Eletroforese de Carboidratos Assistida por Fluoróforo (FACE) e caracterizados através da composição centesimal, cor, cristais e requisitos microbiológicos. Foi realizada análise sensorial utilizando teste de aceitação em escala hedônica (1 a 9) e análise da intenção de compra (1 a 5). Os resultados foram avaliados pela ANOVA e comparação a posteriori de médias pelo teste t de *Student* com intervalo de confiança de 95%. Os leites utilizados nas produções demonstraram composição centesimal, crioscopia e acidez dentro dos padrões legais vigentes. A hidrólise da lactose no leite, pela enzima β -galactosidase, foi atingida com 80 minutos a 40 °C, na concentração de 0,7 g/L e confirmada no DL SL pela FACE por meio das bandas eletroforéticas de glicose e galactose. Os DL produzidos apresentaram características composicionais em conformidade com o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade (RTIQ), embora diferentes entre si. Em relação à cor, o DL SA exibiu coloração mais clara ($L = 44,09 \pm 0,73$). O número de cristais por grama de doce de leite nos DL TR e SA foram $2,63 \times 10^4 \pm 19,00$ e $4,63 \times 10^6 \pm 298,22$, e tamanho de cristais $29,78 \mu\text{m} \pm 27,84$ e $24,83 \mu\text{m} \pm 1,04$, respectivamente. Quanto à aceitação sensorial, o DL TR obteve as maiores notas na maioria dos atributos julgados e na análise de intenção de compra. Cristais de lactose não foram percebidos no DL SL, possivelmente em função da hidrólise da lactose e sua aceitação foi igual ($p > 0,05$) ou superior ($p < 0,05$) ao DL TR em relação aos atributos cor, consistência e textura. O DL SA foi o menos aceito pelos consumidores.

Palavras-chave: Doce de leite. Hidrólise da lactose. Lactase. Aceitação sensorial.

ABSTRACT

Doce de leite (DL) is the one most popular concentrated dairy product in Brazil. However, the high-calorie, sugar content and/or the presence of lactose limit its spread among consumers. Therefore, the development of dairy products to restrictive diets, especially lactose intolerance and the reduced-calorie is a great challenge for the dairy industry and a market opportunity. Thus, the aim of this work was the development and characterization of DL with no added sucrose and lactose (SL) and without the addition of sucrose (SA) as well as, to evaluate the sensory acceptability and the purchase intent by consumers. Three sort of DL were produced, the traditional one (TR), SL and SA samples. For the preparation of the DL SL, the milk was hydrolyzed by β -galactosidase enzyme and the hydrolysis degree was accompanied by the cryoscopic index. The production took place in open pan with soluble solids concentration of 61-68 °Brix. DL were analyzed regarding lactose hydrolysis by Fluorophore-Assisted Carbohydrate Electrophoresis (FACE), and characterized as regards chemical composition, color, crystals presence and microbiological requirements. Sensory analysis was performed using acceptance test in hedonic scale (1 to 9) and the purchase intent analysis (1 to 5). The results were evaluated by ANOVA and a posteriori comparison of average by the *Student's t* test with confidence interval of 95%. The milk samples used in the DL production showed centesimal composition, freezing point and acidity values within the current legal standards. Lactose hydrolysis was achieved with 80 minutes at 40 ° C, with concentration of 0.7 g/L, confirmed in the DL SL sample by FACE analysis through glucose and galactose electrophoretic bands. The prepared DL showed compositional features in accordance with the Technical Regulation of Identity and Quality (RTIQ), even though different from each other.. Regarding color, the DL SA sample exhibited lighter color ($L = 44.09 \pm 0.73$). The number of crystals per gram of *doce de leite* in the DL TR and SA sample was $2.63 \times 10^4 \pm 19.00$ and $4.63 \times 10^6 \pm 298.22$, with crystal size of $29.78 \pm 27.84 \mu\text{m}$ and $24.83 \pm 1.04 \mu\text{m}$, respectively. As for sensory acceptance, DL TR obtained the highest scores in the most judge attributes and in the purchase intent analysis. Lactose crystals were not perceived in the DL SL sample, most likely as a result of the lactose hydrolysis and their acceptance was equal ($p > 0.05$) or greater ($p < 0.05$) when compared to color, texture and consistency of the DL TR sample. The DL SA sample was the least accepted by consumers.

Keywords: *Doce de leite*. Lactose hydrolysis. Lactase. Sensory acceptance.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Fórmula estrutural α - e β - lactose	27
Figura 2 – Esquema da reação de hidrólise enzimática da lactose pela enzima β -galactosidase (lactase).....	35
Figura 3 – Fluxograma de produção de doce de leite com adição parcial da mistura.....	41
Figura 4 – Fluxograma de produção de doce de leite com adição total da mistura.....	43
Figura 5 – Porcentagem de hidrólise da lactose no leite em função do tempo (n=3).....	48
Figura 6 – Análise de FACE dos doces de leite tradicionais.....	49
Figura 7 – Análise de FACE dos doces de leite sem adição de sacarose e sem lactose.....	50
Figura 8 – Análise de FACE dos doces de leite sem adição de sacarose.....	50
Figura 9 – Cristais de lactose no doce de leite tradicional (1) e no doce de leite sem adição de sacarose (2) (tamanho em μm com aumento de 250x).....	57
Figura 10 – Cristais de lactose no doce de leite sem adição de sacarose e sem lactose (tamanho em μm com aumento de 250x).....	57
Figura 11 – Faixa etária dos provadores (n=162).....	60
Figura 12 – Consumo de doce de leite pelos provadores (n=162).....	61
Figura 13 – Frequência de consumo de doce de leite pelos provadores (n=162).....	61
Figura 14 – Principal critério de compra pelos provadores (n=162).....	62

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Modificações devido ao aquecimento e à concentração do leite e suas principais consequências.....	31
Tabela 2 – Formulação das três produções de doce de leite.....	40
Tabela 3 – Análises físico-químicas dos leites utilizados na fabricação dos doces de leite (n=9).....	47
Tabela 4 – Composição centesimal dos doces de leite (n=9).....	51
Tabela 5 – Requisitos físico-químicos obrigatórios para doce de leite, de acordo com Brasil, 1997.....	51
Tabela 6 – Análise de cor dos doces de leite (n=9).....	54
Tabela 7 – Análise de cristalização dos doces de leite (n=9).....	56
Tabela 8 - Análises microbiológicas realizadas nos doces de leite (n=9).....	59
Tabela 9 - Critérios de aceitação para análises microbiológicas de doce de leite referentes às legislações (BRASIL, 1997; 2001).....	59
Tabela 10 - Análise sensorial dos doces de leite (n=162).....	62
Tabela 11 – Análise da intenção de compra dos doces de leite (n=162).....	64

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

DL- doce de leite;

TR – doce de leite tradicional;

SL – doce de leite sem adição de sacarose e sem lactose;

SA – doce de leite sem adição de sacarose;

RTIQ - Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade;

PIA - Pesquisa Industrial Anual;

FAO – Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura;

PIB- Produto Interno Bruto;

ALICEWeb - Sistema de Análise das Informações de Comércio Exterior via Internet;

MDCI – Ministério do Desenvolvimento, Indústria, e Comercio Exterior;

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística;

INDI - Instituto de Desenvolvimento Integrado de Minas Gerais;

MG - Minas Gerais;

MAPA – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento;

UFJF – Universidade Federal de Juiz de Fora;

ANOVA – Análise de Variância;

ESD – Extrato Seco Desengordurado;

EST – Extrato Seco Total;

GH – Grau de hidrólise enzimática;

ATD – Acidez Total Desenvolvida;

IL – Intolerância a lactose;

EUA – Estados Unidos da América;

CO₂ – dióxido de carbono;

O₂ – oxigênio;

N₂ – nitrogênio;

H⁺ - íon hidrogênio;

Ca₃(PO₄)₂ – Fosfato de cálcio;

FACE – Eletroforese de Carboidratos Assistida por Fluoróforo;

CEPEA – Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada

°C – graus Celsius (unidade de temperatura);

°Brix – graus Brix (percentual de sólidos solúveis);

Aw - atividade de água;

% - percentual;

g – grama (unidade de medida de massa);

g/mL – gramas por mililitro;

g/100g – gramas de soluto por 100 gramas de solução ou de amostra;

g/100mL – gramas de soluto por 100 mililitros de solução ou de amostra;

g/L- gramas de soluto por litro de solução ou de amostra;

% m/v - percentual de massa de soluto em relação ao volume de solução;

mol/L – mol do soluto por litro de solução;

Kcal.g-1 – quilocalorias por gramas de alimento;

h - hora (unidade de medida de tempo);

min – minutos (unidade de medida de tempo);

L – litros (unidade de medida de volume);

ml – mililitro – (unidade de medida de volume);

Kg - quilograma (unidade de medida de massa);

µm – micrômetros (unidade de medida de comprimento);

nm – nanômetros (unidade de medida de comprimento);

pH – potencial hidrogeniônico;

mg – miligrama (unidade de medida de massa);

KJ – Kilojoules;

UFC/g – Unidade Formadora de Colônia por grama de amostra;

NMP/g – Número Mais Provável por grama de amostra.

-NH₃⁺ - grupo amino;

-NH₂ – grupo amina;

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	16
2. OBJETIVOS	17
2.1 OBJETIVO GERAL.....	17
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	17
3. REFERENCIAL TEÓRICO	18
3.1 PRODUTOS LÁCTEOS PARA DIETAS RESTRITIVAS.....	18
3.2 DOCE DE LEITE.....	21
3.3 TECNOLOGIA DE FABRICAÇÃO DE DOCE DE LEITE.....	23
3.4 ELABORAÇÃO E AVALIAÇÃO DE DOCE DE LEITE PARA DIETAS RESTRITIVAS	33
4. MATERIAIS E MÉTODOS	39
4.1 LEITE CRU.....	39
4.2 PRODUÇÕES DOS DOCES DE LEITE.....	39
4.2.1. Doce de leite tradicional (TR)	39
4.2.2 Doce de leite sem adição de sacarose e sem lactose (SL)	42
4.2.2.1 <i>Hidrólise enzimática</i>	42
4.2.3 Doce de leite sem adição de sacarose (SA)	42
4.3 CONFIRMAÇÃO DA HIDRÓLISE DA LACTOSE E VERIFICAÇÃO DOS CARBOIDRATOS PRESENTES NO PRODUTO FINAL.....	43
4.4 CARACTERIZAÇÃO DOS DOCES DE LEITE	44
4.4.1 Análises físico-químicas	44
4.4.2 Avaliação da cor	44
4.4.3 Avaliação da cristalização	45
4.4.4 Análises microbiológicas	45
4.4.5 Análise da aceitação sensorial	46

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	47
5.1 LEITE	47
5.2 HIDRÓLISE DA LACTOSE NO LEITE PELA ENZIMA LACTASE.....	48
5.3.CONFIRMAÇÃO DA HIDRÓLISE DA LACTOSE E VERIFICAÇÃO DOS CARBOIDRATOS PRESENTES NO PRODUTO FINAL.....	49
5.4 ANÁLISE DE COMPOSIÇÃO CENTESIMAL DOS DOCES DE LEITE.....	50
5.5 ANÁLISE DE COR.....	53
5.6 ANÁLISE DOS CRISTAIS DE LACTOSE	56
5.7.ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS	58
5.8 ANÁLISE DA ACEITAÇÃO SENSORIAL	60
6. CONCLUSÃO	65
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	66
APÊNDICES	75

1. INTRODUÇÃO

O doce de leite (DL) é um produto típico dos países da América do Sul, apresentando grande consumo nesses países, principalmente no Brasil. Muito utilizado como sobremesas e recheios, é o principal produto lácteo, concentrado por ação da energia na forma de calor, produzido por pequenas e médias indústrias de laticínios.

O consumo deste derivado vem crescendo mundialmente, tornando-se uma boa oportunidade para o crescimento de laticínios em todo país. O mercado de DL tem uma ampla variedade de consumidores, que o procuram por sua textura viscosa, seu sabor pronunciado, adocicado e pela praticidade no armazenamento, tornando-se uma forma agradável de consumir um derivado do leite. A busca por produtos de qualidade e que satisfaçam as necessidades dos consumidores, são importantes condições para o desenvolvimento de novos produtos.

Apesar do grande potencial de mercado e exportação, por possuir todo processo logístico favorável e ser produzido principalmente por países sul-americanos, alguns fatores impedem esse avanço como, a mudança dos hábitos alimentares mundiais, principalmente na Europa, ocasionando a procura por produtos *diet e light* para manter uma alimentação saudável gerando bem-estar aos consumidores.

O crescimento do mercado de lácteos para dietas restritivas e, conseqüentemente, o aumento da demanda deste tipo de produto é uma tendência mundial, principalmente pela preocupação dos consumidores com a forma física e a saúde. A indústria laticinista deve enxergar neste mercado uma possibilidade de incrementar sua produção, desenvolvendo produtos diferenciados com maior valor agregado.

A intolerância a lactose, incapacidade de digerir esse dissacarídeo devido à quantidade insuficiente ou ausência da enzima digestiva (lactase), é outro importante fator que prejudica o consumo de DL. Sabe-se que grande parte da população mundial apresenta algum grau de intolerância. Portanto, é responsabilidade da indústria através da ciência e tecnologia, produzir novos produtos que resolvam essas carências, pois apesar de existirem produtos lácteos para dietas com restrição, muitas vezes, esses deixam a desejar quando comparados aos tradicionais, principalmente no DL onde os ingredientes principais são leite e açúcar (sacarose).

Desenvolver esses novos produtos é fundamental para as indústrias e necessário aos consumidores, por isso as análises de caracterização e os testes de aceitação são extremamente importantes na avaliação da aceitabilidade mercadológica e da qualidade do produto, devendo ser inerentes ao controle de qualidade das indústrias.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

O objetivo do presente trabalho foi desenvolver e caracterizar doces de leite sem adição de sacarose e sem lactose (SL) e sem adição de sacarose (SA), bem como avaliar sua aceitação sensorial e intenção de compra por parte dos consumidores.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Produzir três tipos de DL: tradicional (TR), sem adição de sacarose e sem lactose (SL) e sem adição de sacarose (SA);
- Acompanhar a porcentagem e o tempo hidrólise da lactose no leite, destinado à produção do DL SL;
- Verificar a hidrólise da lactose no DL SL por meio da Eletroforese de Carboidratos Assistida por Fluoróforo (FACE);
- Caracterizar os DL por meio das análises de composição centesimal, cor, presença de cristais e microbiologia;
- Avaliar a aceitação sensorial dos produtos e analisar a intenção de compra dos consumidores;

3. REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 PRODUTOS LÁCTEOS PARA DIETAS RESTRITIVAS

Tanto o leite quanto seus derivados são fontes importantes de proteína animal, vitaminas, minerais e ácidos graxos essenciais para crianças, jovens e adultos (WALSTRA *et al.*, 2006).

O consumo de lácteos vem crescendo anualmente, fatores como crescimento populacional, associado ao aumento de renda, bem como a aceleração da urbanização e às mudanças de hábito dos consumidores como a busca por produtos saudáveis, com qualidade e consumo responsável, provocam alterações nos mercados mundiais, de forma que a demanda de leite e derivados deve acompanhar essas mudanças (SIQUEIRA, 2015).

A indústria de alimentos deve ficar atenta às tendências e desafios deste novo cenário da demanda, como forma de manter o seu posicionamento competitivo. Maciços investimentos em pesquisa, desenvolvimento e inovação, seja de produtos, seja de processos, se farão necessários, monitorando-se permanentemente o ambiente regulatório (COSTA *et al.* 2010).

Segundo especialistas, apesar de existir um bom mercado em potencial para o consumo do DL, alguns fatores limitam a evolução do negócio, como a pequena capacidade de produção das indústrias, concorrência acirrada, falta de padronização do produto e variação do preço de atacado (PERRONE *et al.*, 2011).

Além das mudanças da demanda no consumo de lácteos, outras características inerentes ao DL afetam seu consumo, como o elevado conteúdo de açúcar no produto; alto poder calórico, em desconformidade com as mudanças de hábitos alimentares mundiais; a alergia a proteína do leite, que impede o consumo de leite e derivados pelos alérgicos e à lactose, dissacarídeo presente no produto que pode interferir na qualidade através da formação dos cristais e prejudicar a saúde dos consumidores intolerantes.

Estima-se que grande parte da população adulta mundial pertence a um grupo que manifesta sinais e sintomas de má digestão da lactose e que esse número seja superestimado, devido ao fato da existência de equívocos em casos de autodiagnóstico (PEREIRA *et al.*, 2012; RODRIGUEZ *et al.*, 2008; VUORISALO *et al.*, 2012).

A má digestão da lactose ocorre quando a quantidade da enzima β -galactosidase (lactase) presente nas vilosidades do intestino delgado reduz a uma pequena fração podendo até mesmo tornar-se ausente. Quando a quantidade de lactose ingerida é maior do que a quantidade

suportada pelo organismo, são evidenciados os sintomas de intolerância a lactose (IL) e o indivíduo passa a manifestar desconfortos gastrointestinais (NATIONAL DAIRY COUNCIL, 2008; PEREIRA *et al.*, 2012; WILT *et al.*, 2010; WOOTEN, 2010).

Portanto, os indivíduos com má digestão da lactose podem ou não manifestar os sintomas clínicos de IL em função do grau de decréscimo da atividade da lactase. Dessa forma, a deficiência da lactase pode existir, sem que necessariamente o indivíduo manifeste os sintomas de IL (NATIONAL DAIRY COUNCIL, 2008; 2010; ORDÓÑEZ, 2005; PEREIRA *et al.*, 2012).

As pessoas que possuem deficiência na produção de lactase, quando consomem leite, a lactose não é hidrolisada no intestino delgado e, conseqüentemente, não é absorvida. Desta maneira, a pressão osmótica do intestino aumenta e uma quantidade considerável de água é retirada dos tecidos vizinhos (LONGO, 2006; GOURSAUD, 1985; KOCIÁN, 1988; FERREIRA, 1997). Então a lactose passa para o intestino grosso e os micro-organismos ali presentes promovem a fermentação da lactose resultando na produção de gases naturais como metano, dióxido de carbono, hidrogênio que são os responsáveis pelas flatulências, distensão e dores abdominais; e a produção de ácidos graxos de cadeia curta como acético, butírico e propiônico responsáveis pela redução do pH do meio. A acidificação do meio, juntamente com o aumento da pressão osmótica, promove diarreia com eliminação de eletrólitos e fluídos. De maneira geral, os sintomas iniciam em torno de 30 minutos a 2 horas após a ingestão de alimentos contendo lactose (GASPARIN *et al.*, 2010; MATTAR, 2010; NATIONAL DAIRY COUNCIL, 2008; PEREIRA *et al.*, 2012; SILVA, 1995; WOOTEN, 2010).

Os índices de IL na população mundial encontram-se correlacionados com aspectos culturais e com a tradição de cada nação. Populações que não possuem em sua cultura o hábito do consumo de leite e derivados manifestam uma maior prevalência dos sintomas de IL. Um estudo de qualidade comprovou que a característica lactase persistente é autossômica dominante e herdada (LONGO, 2006; SWALLOW, 2003).

A IL pode ser definida de três diferentes formas, que representam a maneira como se manifesta. A primeira é a intolerância genética ou congênita, manifestada em recém-nascidos, essa é uma condição permanente e muito rara. Depois temos a intolerância adquirida, manifestada após uma inflamação ou algum dano permanente na mucosa intestinal. Geralmente se manifesta em adultos e é muito comum. (KOCIÁN, 1988; LONGO, 2006; TÉO, 2002). A intolerância transitória é, usualmente, uma condição temporária que ocorre devido a danos causados no revestimento da mucosa intestinal, causado por medicamentos, doença, cirurgia ou radioterapia para os enterócitos (BROWN-ESTER *et al.*, 2012; SAVAIANO e LEVITT,

1987; SCRIMSHAW e MURRAY, 1988; SRINIVASAN e MINOCHA, 1998). Depois que o dano é reparado, a mucosa se regenera e passa a produzir lactase novamente, ainda que seja uma das últimas enzimas que volta a ser produzida (LONGO, 2006; KOCIÁN, 1988; TÉO, 2002).

Os produtos lácteos com baixo teor de lactose ou zero lactose encontrados nas gôndolas dos mercados são alternativas para as pessoas que apresentam algum nível de intolerância a esse açúcar. Destacam-se os lácteos fermentados, os queijos duros, o doce de leite sem lactose e os leites com reduzido teor de lactose. Estes produtos possibilitam ao consumidor a ingestão adequada de nutrientes, minimizando os riscos de comprometimento da saúde (NATIONAL DAIRY COUNCIL; 2010; PEREIRA *et al.*, 2012).

Produtos lácteos que apresentam teores reduzidos de lactose e açúcar enquadram-se no regulamento técnico referente às informações sobre Alimentos para Fins Especiais, que podem ser definidos como “formulações ou processados, nos quais se introduzem modificações no conteúdo de nutrientes, adequados à utilização em dietas, diferenciadas ou opcionais, atendendo às necessidades das pessoas em condições metabólicas e fisiológicas especiais” (BRASIL, 1998).

O mercado de lácteos para fins especiais vem apresentando maior crescimento do que o de lácteos tradicionais, com tendência de manter essa diferença por muito tempo (BRANDÃO e FONTES, 2006).

O aumento para este tipo de alimento entre 2004 e 2009, foi de 800 milhões de euros no Reino Unido, totalizando 5,4 bilhões de euros. Nos Estados Unidos da América (EUA), os dados são ainda maiores, o mercado que em 2006 totalizava 45 bilhões de dólares, em 2009 ultrapassou os 54 bilhões de dólares (BRANDÃO e FONTES, 2006). Segundo Ito (2015), o segmento “zero lactose” teve seu fortalecimento no mercado. A categoria, segundo dados da Tetra Pak, cresceu 64% no ano de 2015 em relação a 2014.

Como destacado por Costa *et al.* (2010), países em desenvolvimento, em especial China, Índia, e também o Brasil, passaram por um período de forte crescimento econômico e de renda nos últimos anos. Esse movimento foi acompanhado pelo incremento da urbanização, intensificando e alterando o perfil de consumo da população mundial, com o aumento da preferência por alimentos mais elaborados e proteicos.

Segundo Pereira *et al.* (2012) os produtos lácteos com redução de lactose atingem um público consumidor maior do que apenas os portadores de má digestão da lactose, devido ao maior poder edulcorante apresentado pelos produtos, decorrente da quebra da lactose em

glicose e galactose, maior solubilidade em água desses monossacarídeos, além de serem diretamente fermentados e imediatamente absorvidos no intestino.

Essas características podem implicar em algumas mudanças desejáveis no processamento de DL. Através da hidrólise da lactose no leite obtêm-se açúcares mais solúveis, o que implica na diminuição da quantidade deste açúcar no meio, podendo-se controlar ou até mesmo evitar o surgimento de cristas de lactose durante seu armazenamento prolongado (PERRONE *et al.*, 2011).

Há muitos estudos de lácteos sem lactose na área de iogurtes, bebidas lácteas e queijos, mas em relação ao DL, esses são escassos. Apesar do DL ser um produto apreciado em diversos países, por conta de sua textura e sabor pronunciado e possuir mercado consumidor promissor, novas tecnologias de processamento e ingredientes são necessários para acompanhar a demanda de mercado mundial. Devido ao comércio crescente e promissor dos produtos sem lactose, as indústrias alimentícias têm a possibilidade de investir e inovar nesse nicho de mercado, principalmente no Brasil, com seu elevado potencial consumidor.

3.2 DOCE DE LEITE

DL é um produto de leite concentrado obtido por tratamento térmico com ou sem pressão negativa, com ingredientes adicionados, especialmente a sacarose e glicose que conferem características sensoriais e físico-químicas diferenciais em relação a outros produtos lácteos (GARITTA *et al.*, 2004; GAZE *et al.*, 2014; HOUGH e GARITTA, 2012; MORO e HOUGHT, 1985; PERRONE *et al.*, 2011; RANALLI *et al.*, 2012; VELASCO *et al.*, 2010).

De acordo com a Portaria n° 354, de 04 de Setembro de 1997, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) que preconiza o Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade de Doce de leite, defini-se DL como sendo o produto, com ou sem adição de outras substâncias alimentícias, obtido por concentração e ação do calor a pressão normal ou reduzida do leite ou leite reconstituído, com ou sem adição de sólidos de origem láctea e/ou creme e adicionado de sacarose (parcialmente substituída ou não por monossacarídeos e/ou outros dissacarídeos) (BRASIL, 1997).

A denominação doce de leite está reservada ao produto em que a base láctea não contenha gordura e/ou proteína de origem não láctea (BRASIL, 1997). O máximo de sacarose a ser adicionado é de 30% sobre o volume de leite, podendo esta ser parcialmente substituída em até 40% por mono ou dissacarídeos, da mesma forma permite-se a adição de amido ou amido modificado em concentração máxima de 0,5% sobre o volume de leite. São ingredientes

opcionais: creme de leite, sólidos de origem láctea, cacau, chocolate, coco, amêndoas, amendoim, frutas secas, cereais e/ou outros produtos alimentícios isolados ou misturados em uma proporção entre 5% e 30% m/m do produto final (PERRONE *et al.*, 2012). Após a fabricação, o DL deve apresentar como resultados físico-químicos, teor de umidade máximo de 30 g/100g; matéria gorda de 6,0 a 9,0 g/100g, teor de proteína mínimo de 5,0 g/100g e teor de cinzas máximo de 2,0 g/100g. Há também os requisitos sensoriais quanto à consistência para o doce de leite em cremosa ou pastosa, sem cristais perceptíveis sensorialmente; coloração castanho caramelado proveniente da reação de Maillard; sabor e odor característicos (BRASIL, 1997).

O DL não é fabricado e comercializado apenas no Brasil, Argentina ou Uruguai. Em todos os países da América Latina, encontram-se variedades do produto, com nomes diversos. Em países de língua espanhola, *dulce de leche* é o nome mais comum, mas também é conhecido como *manjar blanco* no Chile, Peru, Equador, Colômbia e Panamá e, nesse último, também *comobién-me-sabe*; *cajeta* no México e na América Central; *jamoncillo* no México; *arequipe* na Colômbia; *leche de burra* em El Salvador e na Nicarágua (KATZ, 2007). O que se pode assegurar é que o DL teve suas origens na fabricação caseira, pois nas fazendas sua elaboração, assim como de queijos, era um modo de conservação do leite. A técnica de condensar um produto (leite ou fruta) com açúcar foi trazida ao continente americano pelos portugueses e espanhóis, que também são responsáveis pela introdução da cana-de-açúcar no continente. Entre os séculos XIX e XX, veio o avanço da produção industrial em larga escala (KATZ, 2007; PERRONE *et al.*, 2011).

A pecuária leiteira tornou-se uma das mais importantes atividades econômicas para o Brasil, sendo a quarta maior *commodity* produzida (em quantidade) e a quinta mais consumida (em valor) no país em 2012 (FAO, 2015). O Brasil é um dos maiores produtores de leite mundial, junto com os EUA, Índia e China. A região sudeste destaca-se nessa atividade e o estado de Minas Gerais representa grande parte da produção nacional (IBGE, 2015).

Ao longo dos últimos anos a produção de leite brasileira vem aumentando. No entanto, houve uma desaceleração do consumo por conta de questões de ordem econômica do país, como menor crescimento do PIB e desvalorização do dólar frente ao real. A recuperação deve começar a partir de 2017 com uma demanda per capita de 171,16 litros, com a esperada retomada da atividade econômica (ROCHA, 2015).

Em relação às exportações, o cenário de 2014 foi favorável aos lácteos do Brasil. Segundo os dados do Ministério do Desenvolvimento, Indústria e Comércio Exterior (MDIC),

o Brasil aumentou seu faturamento com as exportações de lácteos em 254,3% e o volume em 118,0%, em comparação com 2013 (PITHAN e SILVA, 2015).

Segundo dados do Centro de Estudos Avançados em Pesquisa Aplicada (CEPEA), as importações de lácteos em 2015 tiveram um aumento de 51% no volume em comparação ao ano anterior, ao mesmo tempo em que as exportações diminuíram 0,5%. O principal fornecedor de lácteos ao país em 2015 foi o Uruguai, com 48,7% do total internalizado, seguido da Argentina e EUA. As exportações de leite condensado, por exemplo, diminuíram 25% de um ano para o outro, os maiores destinos de exportação foram Venezuela, Arábia Saudita e Angola (GRIGOL e NEGRI, 2016).

As maiores importações de DL brasileiras no ano de 2015 vieram da Argentina, segundo o Sistema de Análise das Informações de Comércio Exterior (ALICEWeb). Em relação às exportações brasileiras o principal destaque foram os EUA.

Outro mercado promissor para os produtos brasileiros é o continente africano, particularmente para os lácteos concentrados, que tem aumentado o consumo em diversos países. Um exemplo é a Angola, que tem sido um importante comprador (SMID, 2015).

No Brasil, estima-se que a produção de DL represente, segundo dados da Pesquisa Industrial Anual (PIA) publicada pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), 0,82% do que é produzido pelo setor laticinista no país, o que vai de encontro com Perrone *et al.* (2011) que considerou o valor de 0,6% da produção do setor. O estado de Minas Gerais é responsável por aproximadamente 30% da produção nacional de leite (IBGE, 2015; PERRONE *et al.*, 2011), possui o maior parque industrial de laticínios do país com 34,4% do total das empresas e detém aproximadamente 50% da produção brasileira de doce de leite, destacando-se como o principal produtor brasileiro (COLOMBO *et al.*, 2009; INDI, 2009; PERRONE *et al.*, 2011).

3.3 TECNOLOGIA DE FABRICAÇÃO DE DOCE DE LEITE

Tecnologicamente, DL se encaixa na categoria de leite preservado por evaporação e adição de açúcar, de modo que, pela diminuição da atividade da água, pode ser armazenado à temperatura ambiente (SILVA *et al.*, 2014). A substituição de parte da sacarose por glicose confere melhora da textura, brilho, redução na formação e crescimento dos cristais de lactose e aumento da viscosidade do produto (DEMIATE *et al.*, 2001; PERRONE, 2007).

A principal matéria-prima utilizada em sua fabricação é o leite, que segundo a definição do RIISPOA (Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal) é o produto oriundo da ordenha completa, ininterrupta, em condições de higiene, de vacas saudáveis, bem alimentadas e descansadas (BRASIL, 1952). Do ponto de vista biológico e físico-químico, o leite é um fluido biológico complexo contendo, provavelmente, 100.000 diferentes espécies de moléculas em vários estados de dispersão, mas muitas ainda não foram identificadas (CARVALHO, 2007).

Os principais componentes do leite são água (86-88%), gordura (3-6%), proteínas (3-4%), lactose (5%) e minerais (cinzas) (0,7%), perfazendo um total de sólidos de 11-14%. A composição do leite é afetada por vários fatores, entre os quais a raça do animal, estágio de lactação, o estado de saúde e o nutricional do mamífero, a estação do ano (referente à temperatura e aos efeitos do estágio de lactação, mesmo se bezerros não são procriados durante o ano todo), além de fatores genéticos (FOX e MCSWEENEY, 1998).

Do ponto de vista físico-químico, o leite é uma secreção de pH próximo à neutralidade (6,50 a 6,70), que se constitui uma emulsão de gorduras e água, estabilizada por uma dispersão coloidal de proteínas, em uma solução de sais, vitaminas, peptídeos, lactose, oligossacarídeos, caseínas e outras proteínas. Possui também enzimas, anticorpos, hormônios, pigmentos (carotenos, xantofilas, riboflavina), células (epiteliais, leucócitos, bactérias e leveduras) e gases dissolvidos (CO_2 , O_2 e N_2) (CARVALHO, 2007).

O leite a ser utilizado na fabricação do DL deve ter não somente a sua qualidade microbiológica assegurada, como também estabilidade a processamento térmico e, preferencialmente, teor de sólidos elevado (PERRONE *et al.*, 2011).

Um dos principais ingredientes no processamento do DL é a sacarose, conhecida popularmente como açúcar de mesa, um glicídio composto por uma unidade de glicose ligada a uma de frutose unida através de suas extremidades reductoras. Pelo fato de não ter uma extremidade redutora ela é classificada como açúcar não redutor e não participa da reação de Maillard (DAMODARAN *et al.*, 2010). Possui poder edulcorante relativo igual a 1 e solubilidade em água de 204 g/100g de água a 20 °C. É o açúcar mais utilizado para fabricação do DL e pode ser encontrado sob a forma refinada e cristal. Emprega-se este açúcar para gerar sabor, textura e pressão osmótica. Apresenta como vantagens o baixo custo, grande disponibilidade, fácil manuseio, alta solubilidade e ser um dos fatores que proporcionam alta viscosidade ao produto final (PERRONE *et al.*, 2011).

Nos alimentos, podem ocorrer reações de escurecimento enzimático (ação de polifenóis-oxidases) ou não-enzimático (caramelização, oxidação da vitamina C e reação de Maillard). Em

leite e produtos derivados, é comum o desenvolvimento da reação de Maillard, a partir de tratamentos térmicos empregados na tecnologia de processamento (SILVA, 1997).

Quimicamente, essa reação, descrita pela primeira vez em 1912 por Louis-Camille Maillard, consiste numa reação amino-carbonila envolvendo grupos aldeído (açúcar redutor: lactose) (SILVA, 1997) e principalmente D-glicose (DAMODARAN *et al.*, 2010) e grupos amina $-RNH_2$ (proteínas, peptídeos e aminoácidos), com eliminação de água e formação de glicosaminas. Na sequência, ocorrem diversas etapas (rearranjo de Amadori ou de Heyns, enolização, formação de bases de Schiff, formação de 5-hidroxi metilfurfural - HMF), que terminam na polimerização e no aparecimento de compostos escuros chamados melanoidinas (SILVA, 1997).

A reação de escurecimento não enzimático pode ser desejável e produzir, sob condições favoráveis, flavor agradável, aroma e coloração característicos ou indesejável e gerar significativas perdas de certos aminoácidos, diminuição da digestibilidade das proteínas e, portanto, redução no valor nutritivo (ARAÚJO, 2004).

De acordo com Boekel (1998) e Perrone *et al.* (2011), a diminuição do valor nutritivo é devido ao bloqueio dos resíduos de lisina, a qual não fica disponível para digestão. Outras consequências são a formação de compostos antioxidantes nas etapas mais avançadas da reação e o desenvolvimento de coloração amarronzada devido às melanoidinas.

A mistura de produtos formados é uma função da temperatura, tempo, pH, natureza dos açúcares redutores e natureza dos compostos amino. Os principais fatores que interferem na reação de escurecimento não enzimático são: (1) temperatura, a reação é mais lenta a temperatura baixas e sua velocidade praticamente duplicada a cada aumento de 10 °C entre 40 °C e 70 °C; (2) pH, a velocidade da reação é máxima a pH próximo da neutralidade (diminuindo-se este, diminui-se a velocidade da reação); (3) ajuste do conteúdo de água, quando a (A_w) é superior a 0,9, ou seja, quando os reagentes estão muito diluídos, há diminuição da velocidade de escurecimento e essa velocidade tende a zero quando a atividade de água tende a um valor abaixo de 0,2 (BOBBIO, 1992; PERRONE *et al.*, 2011) a velocidade máxima da reação ocorre com A_w entre 0,6 e 0,7 (cerca de 30% de umidade) (DAMODARAN *et al.*, 2010); (4) açúcar específico, a velocidade da reação depende da natureza do carboidrato e que a reação é maior em monossacarídeos do que em dissacarídeos; (5) natureza do aminoácido: a estrutura da molécula dos aminoácidos é importante para a velocidade da reação que é decrescente na ordem do aminoácido básico lisina, para o aminoácido neutro glicina (BOBBIO, 1992; PERRONE, *et al.* 2011); e (6) na presença de íons de metais de transição, a reação é acelerada pela presença de ânions como fosfato e citrato, e, também por íons cobre, que sob condições

energéticas favoráveis, sofrem oxidação de um elétron, sendo o caso dos íons Fe (II) e Cu (I) (uma reação de radical livre pode ser envolvida perto do final do processo de formação do pigmento) (DAMODARAN *et al.*, 2010).

A reação dos açúcares redutores com as proteínas do leite, reação de Maillard, contribui na formação do sabor do leite, chocolate, do caramelo, do puxa-puxa e do DL (DAMODARAN *et al.*, 2010).

O açúcar glicose também é utilizado no processamento do DL, um monossacarídeo de menor poder edulcorante (0,5-0,8) de doçura relativa, em relação à sacarose. É um açúcar redutor e apresenta grande facilidade de hidratação, ou seja, elevada solubilidade (PERRONE, 2007).

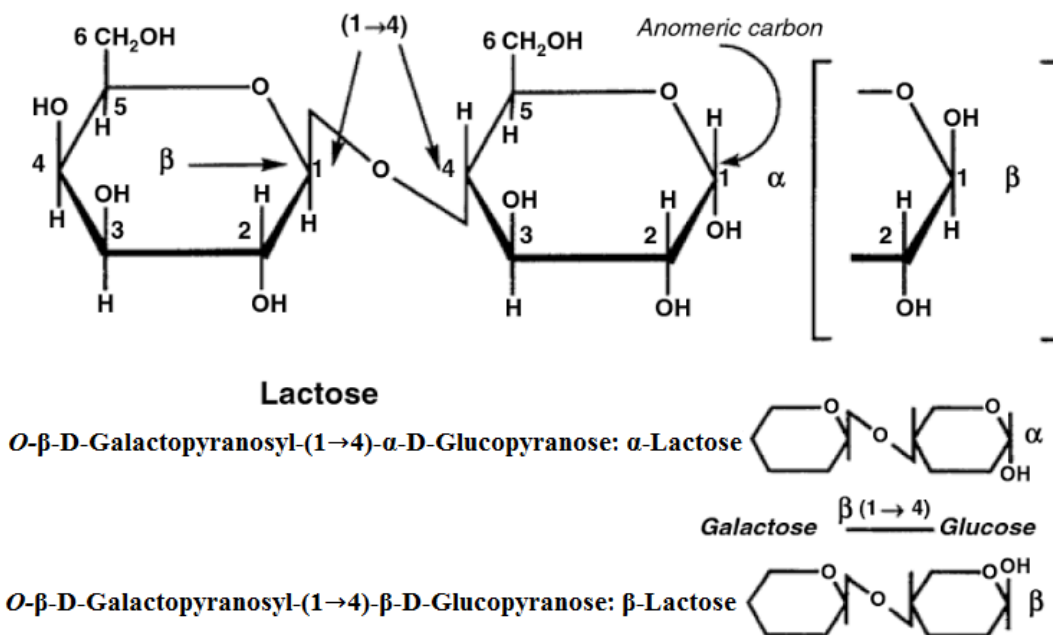
Este monossacarídeo pode ser utilizado na fabricação como um agente que irá interferir diretamente na formação dos cristais, evitando seu desenvolvimento e crescimento. A glicose ao ser adicionada, ao final da fabricação, possui a capacidade de formar um complexo de proteína - dextrose o qual é altamente hidratado. Esta elevada hidratação implica em aumento da viscosidade do produto a qual interfere negativamente na formação de cristais perceptíveis ao paladar, com o aumento da viscosidade há uma maior dificuldade de haver um encontro entre moléculas de lactose, que estão saindo da fase solúvel para realizar ligações soluto-soluto, e é esta ligação das moléculas que proporciona o crescimento dos cristais tornando-os perceptíveis. A glicose então é utilizada na fabricação de DL com o intuito de aumentar a viscosidade do meio evitando o crescimento dos cristais devido à dificuldade de movimentação das moléculas de lactose. Sua utilização justifica-se para a obtenção de um DL com mais brilho, sabor mais suave e viscosidade ligeiramente superior, estas três características são definidas como "paladar fino" (PERRONE, 2007).

Procurar compreender o processo de cristalização da lactose no DL é fundamental para a indústria, pois este é um dos principais defeitos que podem surgir no produto, assim como buscar tecnologias que minimizem ou eliminem este problema. Este processo de cristalização resultante da formação de grandes cristais de lactose figura entre as principais dificuldades técnicas que existem na fabricação do doce de leite (KLEIN *et al.*, 2010; SILVA *et al.*, 1984).

A lactose constitui o principal carboidrato do leite e sua concentração varia amplamente entre as espécies. No leite de vaca, por exemplo, representa 30% do valor calórico. O teor de lactose do leite de vaca varia com a raça do animal, fatores individuais, infecção do úbere e, especialmente, estágio de lactação. A lactose é considerada uma molécula pré-biótica, pois favorece o desenvolvimento de bactéria bífida e aumenta a absorção de cálcio e vitamina D (PERRONE *et al.*, 2011).

É um dissacarídeo formado pela ligação glicosídica $\beta(1,4)$ entre as moléculas de galactose e glicose (Figura 1). O grupo hemiacetal da molécula de glicose é potencialmente livre, isto é, a lactose é um açúcar (FOX e MCSWEENEY, 1998; PERRONE *et al.*, 2011).

Figura 1: Fórmula estrutural de α - e β -lactose



Fonte: Adaptado de FOX e MCSWEENEY, 1998

A solubilidade média da lactose, a 20 °C é de 20 g/100g H₂O, enquanto que a solubilidade da glicose é de 107 g/100g H₂O e da galactose é 50 g/100g H₂O (BOBBIO, 1992). A lactose não é tão doce quando comparada a outros açúcares como: sacarose, glicose e frutose. (PERRONE *et al.*, 2011; WALSTRA e JENNES, 1984).

No final do processamento, o DL constitui-se numa solução em que a lactose encontra-se em estado de supersaturação. A concentração para a fabricação do DL reduz, em média, 2,5 vezes o volume inicial da mistura leite e açúcar, e assim, a relação final lactose/água ultrapassa a faixa de saturação (MARTINS e LOPES, 1981; KLEIN *et al.*, 2010).

A concentração de lactose em doce de leite é, em média, 9,85 g/100g. Considerando-se a fase aquosa do produto, a concentração de lactose é de 33 g/100g de água. A solubilidade de lactose a 15 e 30 °C é de 16,9 g e 24,8 g/100g de água, respectivamente. Assim, mesmo sem interferências, lactose em doce de leite é, inicialmente, uma solução supersaturada. Isto é agravado pela presença simultânea de sacarose, o que reduz substancialmente a solubilidade de lactose (ARES e GIMÉNEZ, 2008; HOUGH *et al.*, 1990; NICKERSON e MOORE, 1972; WEBB *et al.*, 1980).

Nessas condições, portanto é inevitável que ocorra a cristalização da lactose devido à sua baixa solubilidade aliada à adição de sacarose em uma solução supersaturada de lactose, em que ocorre agitação e resfriamento (KLEIN *et al.*, 2010; SANTOS *et al.*, 1977). Este é um dos defeitos mais comuns em doces de leite causado pela cristalização da lactose, chamado de “arenosidade” (ARES e GIMÉNEZ, 2008; HOUGH *et al.*, 1990; MARTÍNEZ *et al.*, 1990). O defeito é inevitável e provoca a rejeição do produto pelo consumidor, a menos que o teor de lactose do doce seja reduzido (ARES e GIMÉNEZ, 2008; HOUGH *et al.*, 1990; GIMENEZ *et al.*, 2008).

A estrutura de muitos compostos cristalinos obtidos a partir de cristalização de suspensão mostra a presença de aglomerações cristalinas ou cristais (ARES e GIMÉNEZ, 2008; DAVID *et al.*, 2003). A aglomeração tem ligação paralela ao crescimento de cristais, importante ampliação do mecanismo de aumento da cristalização reativa ou processos de precipitação. Depois do núcleo formado, os cristais podem crescer sob duas formas: se a supersaturação é alta, ele pode crescer sozinho ou ficar junto com outra partícula e criar um aglomerado de partículas (ARES e GIMÉNEZ, 2008; HATAKKA *et al.*, 1996).

Em alguns casos, a forma das partículas sugere um processo de aglomeração de múltiplos estágios com aglomerações primárias e secundárias. Os tamanhos dos aglomerados finais (1µm a 1mm) e de suas subunidades (alguns décimos de nanômetros a alguns décimos de micrômetros) são amplamente distribuídos, dependendo simultaneamente, da natureza do composto cristalino e do processo de cristalização (ARES e GIMÉNEZ, 2008; DAVID *et al.*, 2003).

A mutarrotação das moléculas de lactose, por exemplo, bem como a formação dos cristais, pode ser prejudicada em doce de leite devido à alta viscosidade do meio. Em contraste, a concentração elevada de sacarose e glicose pode reduzir a solubilidade da lactose significativamente e aumentar a sua taxa de cristalização. Uma concentração de sacarose de 70% tem sido relatada para reduzir solubilidade de lactose a 42% da sua solubilidade em água (FOX e MCSWEENEY, 2009; NICKERSON e MOORE, 1974).

Uma das abordagens mais frequentemente utilizadas para evitar a cristalização de lactose é a hidrólise enzimática da lactose em glicose e galactose, que é realizada, antes da fabricação do DL, pela adição da enzima lactase (β -galactosidase) ao leite. A hidrólise de 30% da lactose é suficiente para evitar a cristalização durante um período de 180 dias (FOX e MCSWEENEY, 2009).

O resultado dessa hidrólise é uma molécula de glicose e outra de galactose, que são açúcares que possuem um maior poder adoçante, são diretamente fermentados e imediatamente

absorvidos no intestino do lactente (FOX e MCSWEENEY, 1998), são mais solúveis quando comparados à lactose e, por este motivo, menos propensos à cristalização. (GEKAS e LÓPEZ-LEIVA, 1985; GROSOVÁ *et al.*, 2008; KLEIN *et al.*, 2010).

No entanto, a enzima β -galactosidase é cara e seu uso é justificado somente quando um produto *premium* com um alto preço relativo é fabricado. Tem sido relatado que a cristalização de lactose pode ser retardada pelo aumento da percentagem de glicose no DL (AROBBA *et al.*, 2002; FERRAMONDO *et al.*, 1984; FOX e MCSWEENEY, 2009; NAVARRO *et al.*, 1999). A glicose aumenta a viscosidade, reduzindo assim a taxa de crescimento dos cristais de lactose. No entanto, existem poucas provas para apoiar esta estratégia e a utilização de glicose pode ser desvantajosa para a cor do produto devido ao aumento da velocidade da reação de Maillard como consequência do aumento do teor de açúcares redutores (FOX e MCSWEENEY, 2009; GAZE *et al.*, 2014).

Na composição do DL, uma extensa lista de aditivos e auxiliares de processamento são permitidos. O uso de amidos ou amidos modificados de até 0,5 g/100 mL de leite é legal e considerado como ingrediente (BRASIL, 1997). O amido é utilizado como espessante de processo e pode acarretar ganho em rendimento, diminuição do aparecimento de cristais perceptíveis ao paladar, podendo ainda ser utilizado como agente de corpo para facilitar a evaporação. Pode reduzir o tempo de fabricação bem como produzir defeitos quando empregado de forma incorreta (PERRONE, 2007).

Amidos são hidrocolóides de origem vegetal, formados por polímeros de cadeia longa, de alto peso molecular, extraídos de plantas marinhas, sementes, exsudados de árvores e de colágeno animal. Um desses polímeros é a amilose, um polímero essencialmente linear, formado por unidades de α -D-glicopiranoose ligadas em α -(1,4), com poucas ligações α -(1,6) (entre 0,1% e 2,2%). Conforme Buleón *et al.* (1998), o outro polímero é a amilopectina, componente ramificado do amido, formado por cadeias de resíduos de α -D-glicopiranoose (entre 17 e 25 unidades) unidos em α -(1,4), sendo fortemente ramificada, com 4% a 6% das ligações em α -(1,6) (LAJOLO e MENEZES, 2006).

Para atender as necessidades das indústrias alimentícias o mercado de amido vem crescendo e se aperfeiçoando nos últimos anos, levando à busca de produtos com características específicas que atendam às exigências. A produção de amidos modificados é uma alternativa que vem sendo desenvolvida há algum tempo, entretanto, sua produção é feita por processos com agentes químicos onde ocorrem modificações estruturais visando à especificidade (FONTAN, 2008).

As modificações químicas do amido, que podem ser realizadas através da esterificação e oxidação, proporcionam obtenção de géis com viscosidade de pasta estável a baixas ou altas temperaturas, boa resistência mecânica, melhor poder de espessamento em condições ácidas ou durante processos de esterilização, além de menor tendência a retrogradação (FLECHE, 1985).

As principais características deste tipo de amido são a baixa tendência ao espessamento, durante o processo térmico, e a alta capacidade de gelificação após o resfriamento. Seu desempenho é bom quando são desejadas baixa viscosidade, textura lisa e formação de gel, como no DL (SANDHU *et al.*, 2007).

Muitas modificações físico-químicas são ocasionadas pelo longo tempo de aquecimento e, conseqüente, concentração dos sólidos do leite durante o processo de fabricação do DL (Tabela 1). Essas modificações irão caracterizar o produto, bem como serão a causa de muitos defeitos. A diminuição do pH, a aproximação das micelas de caseína, a diminuição da força iônica do meio e a temperatura elevada irão desestabilizar as proteínas podendo acarretar na precipitação do produto. Para contornar este problema, empregam-se redutores de acidez e/ou estabilizantes para evitar/minimizar a ocorrência da precipitação no DL, diz-se que desta forma é possível obter um doce "liso". O redutor de acidez mais utilizado é o bicarbonato de sódio (PERRONE, 2007).

O bicarbonato de sódio é o principal coadjuvante de tecnologia e elaboração utilizado no processo de produção, sendo adicionado no início da fabricação a fim de evitar a coagulação de caseína e favorecer a reação de Maillard, responsável pela coloração castanha típica dos DL (GIMÉNEZ *et al.*, 2007, PERRONE *et al.* 2011).

Adicionado no início do processo de fabricação, o bicarbonato de sódio reage com o ácido láctico, neutralizando-o através da formação de água, gás carbônico e lactato de sódio. Participa da fabricação diminuindo a acidez inicial do leite, expressa em graus Dornic, e também neutralizando a ATD (Acidez Total Desenvolvida) pelo aquecimento. Assim, ao diminuir a acidez inicial do leite evita-se a precipitação do mesmo, já que os compostos de caráter ácido formados durante o aquecimento, mais a acidez inicial e a temperatura elevada, poderiam causar desestabilização proteica. Porém, caso a acidez inicial do leite esteja muito elevada, este efeito (evitar a precipitação) é anulado, pois as proteínas já estarão desestabilizadas, sem condições de resistir ao aquecimento (PERRONE *et al.*, 2011).

A reação de Maillard apresenta sua maior atividade em pH próximo da neutralidade. Portanto este coadjuvante atua como um catalisador desse processo, aumentando o pH do meio, favorecendo a reação de escurecimento não enzimático (DAMODARAN *et al.*, 2010).

Segundo Perrone *et al.* (2011), o aumento da acidez, durante o processo produtivo, está relacionado a quatro fatores: concentração da acidez devido à diminuição de volume, degradação de moléculas de lactose em ácidos orgânicos, precipitação de sais de cálcio e desfosforilação da caseína. De acordo com Fox e McSweeney (1998), há a diminuição do pH do leite após aquecimento a 140 °C durante 20 minutos, o pH diminuí para cerca de 5,8, devido à produção de ácido a partir da pirólise de lactose, ocorre a precipitação de fosfato de cálcio solúvel como $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ com a liberação de H^+ e desfosforilação de caseína.

Tabela 1: Modificações devido ao aquecimento e à concentração do leite e suas principais consequências

Modificações	Principais consequências
Diminuição da atividade de água (Aw)	Maior conservação do produto
Mudança no equilíbrio salino	Diminuição do pH, mudança na força iônica
Degradação da molécula de lactose formando os ácidos orgânicos	Diminuição do pH
Desnaturação de proteínas e associação entre suas frações	Aumento da estabilidade térmica e viscosidade
Saturação da lactose e da sacarose na solução	Cristalização
Reação de Maillard	Escurecimento e formação de compostos antioxidantes

Fonte: Adaptado de PERRONE, 2007

As moléculas de lactose são degradadas pela elevada temperatura em moléculas de ácido fórmico, láctico, acético, pirúvico, propiônico e butírico. Aproximadamente, 50% da ATD são causadas por essa degradação (PERRONE *et al.*, 2011).

O aquecimento também conduz à desfosforilação das caseínas, que representa 30% da ATD (PERRONE *et al.*, 2011). A desfosforilação de caseína segue uma cinética de primeira ordem. Após aquecimento a 140 °C durante 60 minutos, mais de 90% dos grupos fosfato da caseína são hidrolisados, possivelmente devido à formação de dissulfetos intermoleculares e ligações isopeptídicas intermoleculares e a clivagem de ligações peptídicas (formação de peptídeos) (FOX e MCSWEENEY, 1998). Ocorre também a hidrólise dos ésteres fosfóricos

das moléculas de caseína, os fosfolípidos também são divididos e, conseqüentemente, aumenta a quantidade de fosfato de cálcio inorgânico (WALSTRA *et al.*, 2006).

Como consequência do processamento de concentração pela ação da energia na forma de calor ocorre um deslocamento do cálcio da fase aquosa contínua para a fase coloidal, o que conduz à precipitação de fosfato de cálcio, com conseqüente diminuição do pH, reponsável por 20% da ATD (PERRONE *et al.*, 2011). Ocorre a precipitação de fosfato de cálcio solúvel como $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ com liberação de H^+ , e após aquecimento a 140 °C durante 5-10 minutos, a maioria (>90%) do fosfatos solúveis precipitam-se (FOX e MCSWEENEY, 1998). Estes fatores associados podem ser mensurados pelo abaixamento do pH de 6,6 para 6,2 em leite que foi concentrado até 26% de sólidos lácticos (fator de concentração igual à porcentagem de sólidos lácticos do produto concentrado dividido pela porcentagem de sólidos lácticos da matéria-prima). Este aumento de acidez pode implicar em desestabilização proteica devido à mudança no ponto isoelétrico das micelas de caseína com conseqüente aglomeração (PERRONE *et al.*, 2011).

O aquecimento do leite a 140 °C por um tempo prolongado, provoca várias alterações físico-químicas no leite como, por exemplo, a reação de Maillard (FOX e MCSWEENEY, 1998). A desnaturação de proteínas do soro, essas proteínas são desnaturadas muito rapidamente a 140 °C, associando-se com as micelas de caseína. As proteínas do soro (especialmente de β -lactoglobulina) ficam covalentemente ligadas a k-caseína, mas essas não se ligam à totalidade das micelas de caseína, pois não há o suficiente para se ligarem-se a toda superfície micelar. As micelas obtêm, assim, uma superfície "irregular", e o volume da proteína total do leite é aumentado, levando a um aumento da viscosidade (FOX e MCSWEENWY, 1998; WALSTRA *et al.*, 2006).

Devido a essas condições, há a associação e quebra das micelas de caseína. A microscopia eletrônica revela que as micelas agregam-se inicialmente e, em seguida, desintegram-se e, finalmente, agregam-se em uma rede tridimensional (FOX e MCSWEENEY, 1998). Segundo Walstra *et al.* (2006) essa agregação pode eventualmente levar a coagulação.

Outra alteração é na hidratação das micelas de caseína, a partir das muitas modificações discutidas acima, a hidratação destas diminui com a duração do aquecimento a 140 °C. A diminuição parece ser devido, principalmente, à queda do pH. Quando amostras são ajustadas para um pH de 6,7 após o aquecimento, existe um aumento aparente da hidratação no aquecimento (FOX e MCSWEENEY, 1998).

As modificações tecnológicas que ocorrem durante o processamento à elevada temperatura são ocasionadas pelo modo de fabricação e sua tecnologia, por esta razão torna-se

necessário conhecer o processamento a fim de evitar problemas, procurar soluções e gerar produtos com qualidade.

Os quatro principais modos de produção do DL são: fabricação artesanal, em tachos por batelada, tachos de forma contínua e evaporadores a vácuo. O tacho normalmente possui uma camisa interna em aço inoxidável e uma camisa externa para entrada de vapor e é o trocador de calor mais utilizado na fabricação deste produto (PERRONE, 2007).

Basicamente, a tecnologia de fabricação do DL consiste na evaporação contínua de água por meio da aplicação indireta de vapor através dos equipamentos citados. A mistura entre leite, sacarose, aditivos e os demais ingredientes formará uma calda que será submetida à desidratação. Os agitadores mecânicos irão fazer com que esta mistura movimente-se durante todo o processo de fabricação, evitando que o produto queime e se deposite na parede do trocador de calor (PERRONE, 2007).

A concentração por meio da troca de calor torna o produto mais interessante no aspecto visual, sensorial, logístico e comercial. A fabricação total pode variar de 30 min a 4 h, o que é dependente do tipo de equipamento utilizado, da quantidade de vapor injetado, do volume inicial de mistura e da área de transferência de calor. O tempo de processamento é fundamental para as características do produto final como viscosidade, cor e sabor (PERRONE, 2007).

O “ponto” do DL pode ser verificado quantitativamente, qualitativamente ou até mesmo de maneira subjetiva de algum parâmetro do processo como textura, viscosidade, temperatura, entre outros. Normalmente utilizam-se duas maneiras diferentes para verificá-lo, podendo ser pela determinação do teor de sólidos solúveis, expresso em graus Brix e a outra maneira corresponde à forma subjetiva, retirando-se uma pequena quantidade de DL e colocando num copo de água. Após atingir o ponto o produto deve ser embalado ainda quente em embalagens que estejam completamente cheias para evitar possíveis contaminações por micro-organismos, outra alternativa é armazená-los virados com a tampa para baixo. O produto pode ser conservado a temperatura ambiente por um período, normalmente, de até 180 dias (PERRONE *et al.*, 2011).

3.4 ELABORAÇÃO E AVALIAÇÃO DE DOCE DE LEITE PARA DIETAS RESTRITIVAS

Na produção de produtos lácteos para dietas restritivas, empregam-se diferentes ingredientes e processos para melhorar ou manter as características do produto final. Nos DL sem adição de açúcar (sacarose) e sem lactose, utiliza-se a lactase para hidrolisar a lactose presente no leite, além de espessantes e edulcorantes que têm como função substituir a sacarose.

Esses novos ingredientes devem conferir ao produto a sua funcionalidade, assim como manter suas características e aceitabilidade.

A hidrólise da lactose no leite pelo método enzimático é catalisada pela enzima lactase (β -galactosidase). A vantagem desse método reside no fato de que a reação processa-se à temperatura relativamente baixa, numa faixa que pode variar de 4 °C a 40 °C, sendo a temperatura ótima de 30 °C a 40 °C, permitindo uma maior economia energética (FAEDO *et al.*, 2013; LONGO, 2006).

Modificações físicas e químicas nos produtos são ocasionadas por esse processo de hidrólise, como aumento da solubilidade, do poder adoçante, da digestibilidade dos açúcares, da viscosidade, do corpo, melhora na textura e paladar dos produtos (ANDRADE, 2005; TREVISAN, 2008; VINHAL, 2001).

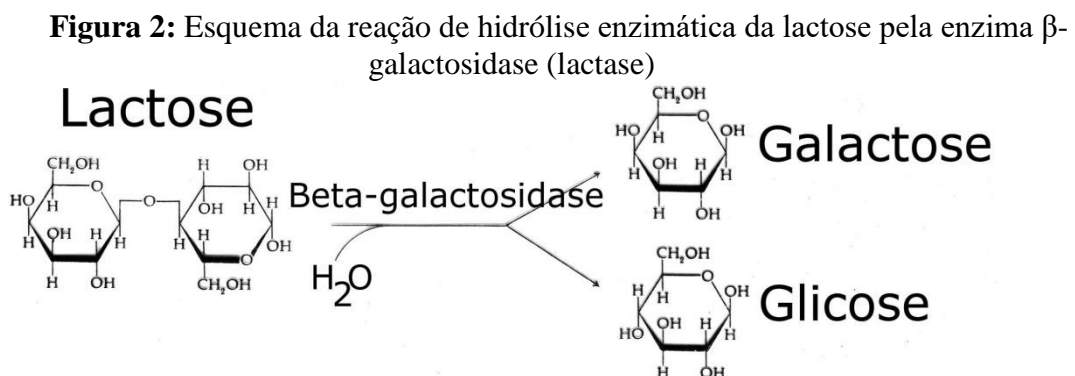
A hidrólise da lactose no leite gera alguns fatores negativos ao produto, (1) escurecimento do produto: são formados dois monossacarídeos que na reação de Maillard apresentam-se mais efetivos do que o dissacarídeo de origem (lactose). A glicose e a galactose reagem de 2,5 a 5 vezes mais que a lactose. Desta forma teremos um produto mais escuro e com sabor de caramelizado mais intenso. (2) Gosto doce mais pronunciado: a mistura de glicose e galactose é duas a três vezes mais doce que a lactose. (3) Viscosidade: ocorre o aumento da viscosidade do produto final devido à formação do complexo proteose-dextrose (decorrente da formação de glicose após a hidrólise). (4) Aumento do brilho: devido à presença de glicose no produto final (PERRONE *et al.* 2011).

No processo produtivo do DL, o leite cru passa por uma pasteurização (72 °C/15 segundos), e, após o resfriamento, a lactase é adicionada. A hidrólise dá-se dentro de tanques de armazenamento ou no próprio tacho de fabricação; assim que termina esse processo, realiza-se a fabricação do produto. Para o controle do grau de hidrólise da lactose, recomenda-se o uso da técnica de crioscopia aplicando-se a equação 1 (FAEDO *et al.*, 2013; LONGO, 2006).

$$\% GH = 350,877x (Criscopia\ final) - \frac{(Criscopia\ inicial)}{0,00285} \quad (1)$$

A lactase é responsável pela hidrólise enzimática da ligação glicosídica β -1,4, originando como produto os monossacarídeos glicose e galactose (Figura 2), esses são açúcares mais solúveis e de maior absorção, sendo transportados do intestino delgado para a corrente sanguínea (PEREIRA *et al.*, 2012; RANCIARO e TISHKOFF, 2010; SILVA e VENUDO, 1995).

Na classificação segundo o tipo de reação que as enzimas catalisam, a lactase é classificada como uma hidrolase, pois há o consumo de uma molécula de água na reação. No processo de hidrólise da lactose, alguns fatores são importantes e devem ser levados em consideração como, a influência da temperatura, do pH, do tempo de reação e da concentração da enzima, pois determinam a velocidade da reação (EVANGELISTA, 1998; GIST-BROCADES, 2004; LONGO, 2006; PROZYN, 2004).



Fonte: Adaptado de SANTOS, 2011

A faixa de pH e a temperatura ótimas para a lactase variam de 3,0 a 7,3 e de 30 a 60 °C, respectivamente, sendo que as melhores condições operacionais para a enzima recomendada pela legislação vai do pH 6,9 a 7,3 a uma temperatura de 35 °C (ANDRADE, 2005; TREVISAN, 2008).

De acordo com a Resolução nº 205, de 17/11/ 2006 complementada pela resolução RDC nº 26, de 26/05/2009, a enzima lactase utilizada pela indústria de alimentos deve ser de origem microbiana, proveniente dos fungos: *Kluyveromyces lactis*, *Aspergillus Níger*, *Aspergillus oryzae*, *Candida pseudotropicalis*, *Kluyveromyces fragilis*, *Kluyveromyces marxianus* e *Saccharomyces* sp., geralmente reconhecidos como seguros (GRAS – *Generally Recognized as Safe*). A lactase produzida por fungos filamentosos (*Aspergillus Níger* e *Aspergillus oryzae*) possui pH ótimo na faixa ácida de 2,5 a 4,5, enquanto a produzida por leveduras (*Kluyveromyces lactis*, *Candida pseudotropicalis*, *Kluyveromyces fragilis*, *Kluyveromyces marxianus* e *Saccharomyces* sp.) possui pH ótimo próximo à neutralidade (6,5 e 7,5). Essa característica é importante para os processos industriais, pois a escolha da fonte da lactase deve estar de acordo com as necessidades impostas pela natureza do substrato e do produto (MORIWAC e MATIOLI, 2000; PEREIRA *et al.*, 2012).

Algumas técnicas avaliam a hidrólise da lactose no leite, uma delas é a análise de Eletroforese de Carboidratos Assistida por Fluoróforo (FACE), primeiramente descrita em

1990. Combina a simplicidade de alta resolução e de eletroforese em gel de poliacrilamida (PAGE) com a sensibilidade e a visibilidade de fluorescência. Em princípio, os hidratos de carbono que possuem um terminal redutor reagem com um fluoróforo que possui um grupo amino primário. A base de Schiff resultante é estabilizada por aminação redutiva com cianoborohidreto de sódio para originar os derivados estáveis finais marcadas com fluorescência que são separadas por PAGE, sob condições apropriadas e seguido de detecção e quantificação da fluorescência das bandas sob iluminação UV (DA CUNHA *et al.*, 2015).

A indústria alimentícia, observando o mercado consumidor, tem desenvolvido produtos e tecnologias para a produção de alimentos com baixas calorias, mediante substituição de açúcar por edulcorantes e/ou remoção no seu teor de gordura (MILAGRES *et al.*, 2010).

A redução das calorias provenientes de carboidratos, com um mínimo de mudança na aceitação, pode ser conseguida com o uso de agentes substituintes de açúcares. Esses incluem fibras, adoçantes de baixas calorias, e adoçantes intensos. Entre os adoçantes de baixas calorias incluem-se o maltitol, o xilitol, o sorbitol, o eritritol, entre outros (BRANDÃO e FONTES, 2006).

O sorbitol é bastante distribuído nos vegetais, sendo encontrado em algas e até mesmo em plantas superiores, onde está presente, em especial, nas frutas. Porém em quantidades geralmente pequenas. O sorbitol apresenta metade do poder adoçante da sacarose, sendo vendido como xarope e em cristais, e usado como umectante geral, ou seja, uma substância que permite a manutenção/retenção de umidade nos produtos (DAMODARAN *et al.*, 2010).

O maltitol é produzido por hidrogenação de maltose, assim como o sorbitol, são polióis simples ou alcoóis poli-hídricos, que apresentam como funções específicas: controle de viscosidade e textura, adição de corpo, retenção de umidade, redução de atividade de água, controle de cristalização, melhora ou retenção de maciez e são, geralmente, menos doces que a sacarose (DAMODARAN *et al.*, 2010).

O uso de combinação de adoçantes de baixa caloria com agente de corpo e com adoçantes intensos pode repor propriedades funcionais do adoçante normal (sacarose), pode criar novos perfis de sabor, melhorar a estabilidade e reduzir custos. Entre os adoçantes intensos incluem-se o aspartame, a sucralose, o acesulfame K, e mais recentemente o neotame (BRANDÃO e FONTES, 2006).

Esses compostos são conhecidos como edulcorantes intensos, pois fornecem doçura acentuada, sendo utilizados em quantidades muito pequenas. Geralmente são não nutritivos ou pouco calóricos e não apresentam ação cariogênica. Um exemplo é a sucralose, obtida a partir do açúcar comum, cujo poder edulcorante pode variar de 400 a 800 vezes em relação à sacarose,

apresenta uma doçura com perfil de tempo-intensidade semelhante ao da sacarose, com ausência de sabor amargo ou outros sabores residuais indesejáveis, exibe um elevado grau de cristalinidade, elevada solubilidade em água e estabilidade em temperaturas elevadas. (BENASSI *et al.*, 2001; DAMODARAN *et al.*, 2010; MILAGRES *et al.*, 2010).

A molécula de sucralose possui uma estrutura ideal para resistir aos ataques digestivos e metabólicos, pelo fornecimento de propriedades moleculares que não são reconhecidas com facilidade por enzimas hidrolíticas constitutivas. Entretanto, relata-se a ocorrência de um pouco de hidrólise durante a digestão, mediada tanto por processos de catalisação por ácido como por processos de enzimas microbianas (DAMODARAN *et al.*, 2010).

Segundo Damodaram *et al.* (2010) os espessantes são substâncias que apresentam como funções específicas a melhora na textura, inibição da cristalização (açúcar), estabilização de emulsões e espumas e encapsulação de sabores. Permitindo desta forma, a obtenção de produtos diferenciados e aumentando as possibilidades de comercialização.

A polidextrose, ingrediente utilizado na produção de alimentos com calorias reduzidas, rende apenas 4,18 KJ (1 Kcal) g⁻¹, trata-se de um ingrediente de interesse especial, com o propósito de reduzir calorias tanto a partir de carboidratos como de gorduras. A polidextrose é manufaturada por polimerização aleatória de glicose (mínimo de 90%), sorbitol (máximo de 2%) e ácido cítrico. Para que se tenha a hidrossolubilidade adequada o peso molecular dos polímeros de polidextrose é controlado em menos de 22.000 g/mol (DAMODARAN *et al.*, 2010).

Todas as modificações tecnológicas ocasionadas pelo processo ou por esses novos ingredientes devem ser conhecidas, pois há fatores que precisam ser compreendidos para evitar defeitos ao produto final. Milagres *et al.* (2010) ressalta que nenhum edulcorante é adequado para todas as aplicações, contudo suas limitações podem ser minimizadas mediante combinações entre eles. Um defeito que pode ser atribuído aos edulcorantes é o gosto residual, quando não usados corretamente. Por esse motivo, utiliza-se a combinação entre eles para proporcionar melhor poder edulcorante com perfil mais próximo ao da sacarose.

A avaliação de todas as características no DL deve ser realizada por análises específicas, a fim de garantir a indústria e proporcionar aos consumidores o melhor produto. A análise sensorial em escala hedônica é um método afetivo que apresenta como principais objetivos, verificar o grau de satisfação dos consumidores com o produto e a probabilidade de adquiri-lo. Essa ferramenta auxilia no controle de qualidade da indústria de alimentos (TEIXEIRA, 2009).

O primeiro contato do consumidor com o alimento, geralmente, é com a apresentação visual, onde se destacam a cor e a aparência. O DL possui uma aparência e uma cor esperadas

que são associadas às reações pessoais de aceitação, indiferença ou rejeição. A cor possui três características distintas que são o tom, determinado pelo comprimento de onda da luz refletida; a intensidade, que depende da concentração de substâncias corantes dentro do alimento e o brilho, que é a quantidade da luz refletida pelo corpo em comparação com a quantidade de luz que incide sobre o mesmo (TEIXEIRA, 2009). A análise de cor é extremamente importante para o DL, visto que diversos fatores podem interferir nesse parâmetro.

A textura no DL pode ser percebida tanto pelo tato quanto pelo paladar. É o conjunto de todas as propriedades reológicas e estruturais (geométricas e de superfície) de um alimento, perceptíveis pelos receptores mecânicos táteis e eventualmente pelos receptores visuais e auditivos (ABNT, 1993). A textura se manifesta quando o alimento sofre uma deformação (quando é mordido, prensado, cortado, etc), e é através dessa interferência na integridade do alimento que se pode ter noção da resistência, coesividade, fibrosidade, granulabilidade, aspereza, crocância, entre outros (TEIXEIRA, 2009).

O principal fator que interfere na percepção de textura do DL é a arenosidade, provocada pela cristalização da lactose. Hunziker (1985) foi o primeiro a relacionar quantitativamente o número e o tamanho dos cristais com uma escala sensorial de grau de arenosidade. As modificações tecnológicas visando eliminar o defeito da arenosidade em DL têm sido avaliadas com o emprego de escalas sensoriais ou através da determinação microscópica do tamanho dos cristais formados (KLEIN *et al.*, 2010; MARTINEZ *et al.*, 1990).

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 LEITE CRU

Para a determinação da qualidade do leite cru usado na produção dos DL realizaram-se análises físico-químicas de composição centesimal, % gordura, % proteínas, % lactose, % extrato seco desengordurado e % extrato seco total. Estas foram executadas no laboratório de Qualidade do Leite da EMBRAPA - Gado de leite, na cidade de Juiz de Fora – MG, por Espectroscopia de Absorção no Infravermelho Próximo (NIR).

As análises de acidez titulável e crioscopia dos leites crus e pasteurizados (75 °C/15 segundos) foram obtidas no início da produção dos DL. Para determinação da acidez titulável, titulou-se 10 mL de leite com solução de NaOH 0,111 N, utilizando como indicador a fenolftaleína 1% (m/v) neutralizada. Para análise de crioscopia, transferiu-se 2,5 mL de leite para uma cubeta de vidro e inseriu-a no aparelho, o resultado foi obtido através da leitura do crioscópio microprocessado (Laktron, modelo M90).

4.2 PRODUÇÕES DOS DOCES DE LEITE

Os doces de leite foram produzidos na planta de um laticínio. Foram processados em um tacho aberto de aço inoxidável, de camisa dupla, com capacidade para 250 litros de leite, dotado de um agitador mecânico.

4.2.1 Doce de leite tradicional (TR)

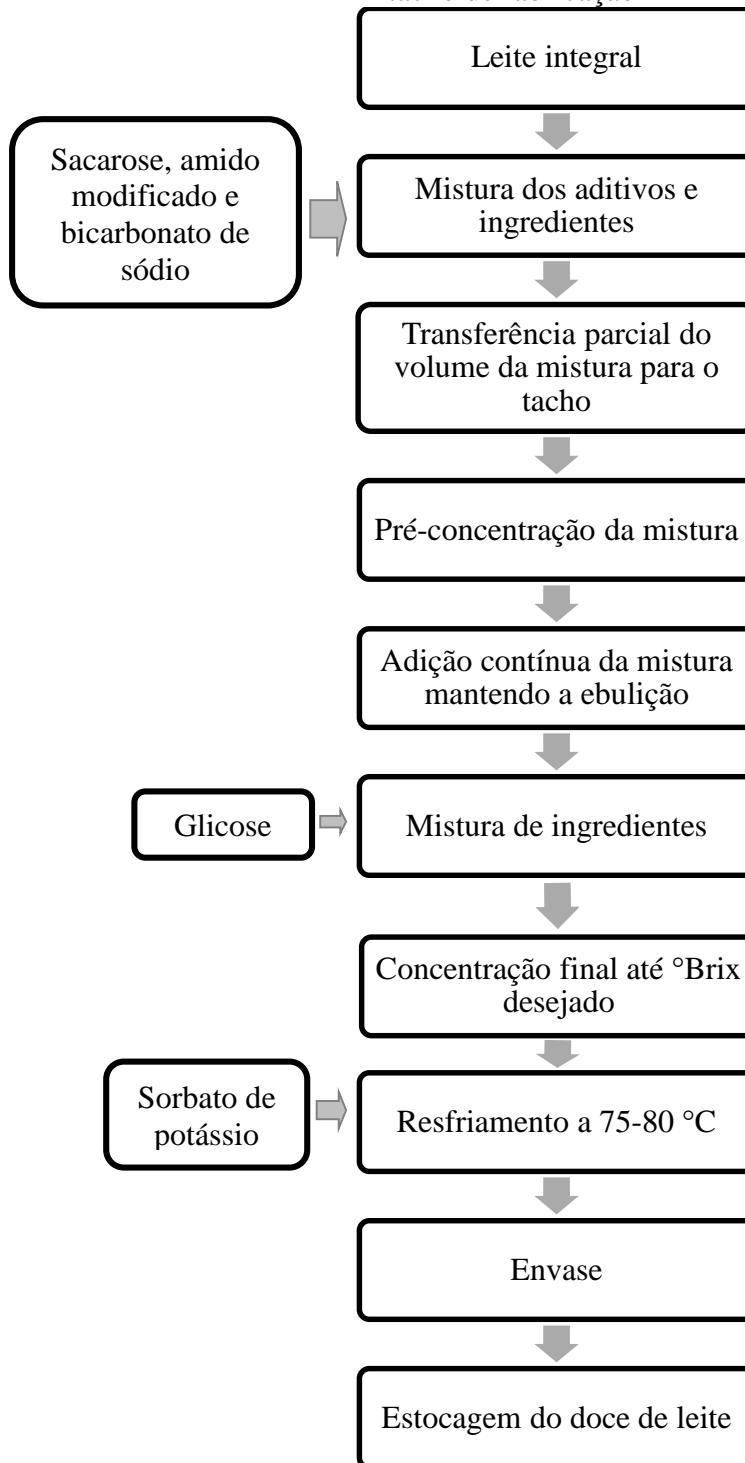
Para a produção do doce de leite tradicional, utilizou-se a formulação descrita na Tabela 2. Essa produção foi realizada com adição parcelada da mistura ao tacho aberto (Figura 3), em triplicata. A mistura leite integral, açúcar, amido modificado e bicarbonato foi adicionada ao tacho no início do processo de fabricação e o restante da mistura parcialmente no decorrer do processo juntamente com a glicose. O sorbato de potássio foi adicionado no final do processo. Este método permite processar quantidade de leite superior à capacidade do tacho e torna a produção mais rápida. O ponto foi atingido quando o teor de sólidos solúveis alcançou o valor de 67 ± 1 °Brix.

Tabela 2: Formulação das três produções de doces de leite

TR	SL	SA
Leite integral	Leite integral pasteurizado e hidrolisado	Leite integral pasteurizado
20% Açúcar (sacarose)	13,3% Mix (polidextrose, sorbitol, maltitol e sucralose)	20% Mix (polidextrose, sorbitol, maltitol e sucralose)
0,5% Amido modificado	0,5% Amido modificado	0,5% Amido modificado
0,03% Bicarbonato de sódio	0,03% Bicarbonato de sódio	0,053% Bicarbonato de sódio
0,027% Sorbato de potássio	0,027% Sorbato de potássio	0,027% Sorbato de potássio
1,4% Glicose	-	-

Fonte: ELABORADO PELO PRÓPRIO AUTOR

Figura 3: Fluxograma de produção de doce de leite com adição parcial da mistura ao tacho de fabricação



Fonte: ELABORADO PELO PRÓPRIO AUTOR

4.2.2 Doce de leite sem adição de sacarose e sem lactose (SL)

No processo de hidrólise da lactose do leite, para produção do DL SL, utilizou-se a enzima lactase (β -galactosidase) da marca comercial HA-LACTASE 5200 (Chr-Hansen[®]), produzida por fermentação de uma cepa de *Kluyveromyces lactis* com atividade enzimática de 5200 NLU/g.

4.2.2.1 Hidrólise enzimática

Ao leite integral pasteurizado (75 °C/15 segundos), no próprio tacho de fabricação a temperatura de 40 °C, adicionou-se 0,7 g/L da enzima lactase, temperatura e dose recomendadas pelo fabricante. O Grau de Hidrólise (GH%) foi calculado nos tempos 0, 20, 40, 60 e 80 minutos pelo índice crioscópico, aplicando-se a Equação 1 (LONGO, 2006; FAEDO *et al.*, 2013).

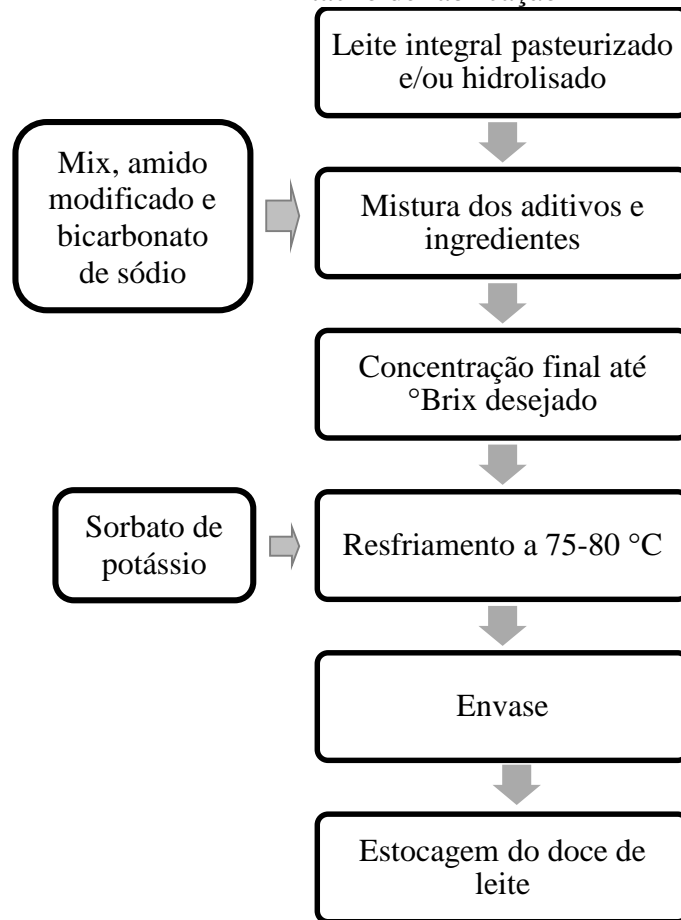
$$GH = (350,877 \times \text{Crioscopia Final}) - (\text{Crioscopia Inicial} / 0,00285) \quad (1)$$

Ao atingir 100% do grau de hidrólise, iniciou-se o processo produtivo do DL SL, utilizando-se a formulação descrita na Tabela 2. A produção com adição total da mistura ao tacho aberto foi realizada em triplicata (Figura 4). Leite integral pasteurizado hidrolisado, mix (polidextrose, sorbitol, maltitol e sucralose), amido modificado e bicarbonato foram adicionados ao tacho no início do processo de fabricação. O sorbato de potássio foi adicionado no final do processo. O ponto foi obtido quando o teor de sólidos solúveis atingiu o valor de 61 ± 1 °Brix.

4.2.3 Doce de leite sem adição de sacarose (SA)

O processamento do DL SA utilizou a formulação apresentada na Tabela 2, sua produção com adição total da mistura ao tacho aberto, foi realizada em triplicata (Figura 4), onde a mistura leite integral, mix (polidextrose, sorbitol, maltitol e sucralose), amido modificado e bicarbonato foi adicionada ao tacho no início do processo de fabricação. O sorbato de potássio foi adicionado no final do processo. O ponto foi alcançado quando teor de sólidos solúveis atingiu o valor de 68 ± 1 °Brix.

Figura 4: Fluxograma de produção de doce de leite com adição total da mistura ao tacho de fabricação



Fonte: ELABORADO PELO PRÓPRIO AUTOR

4.3 CONFIRMAÇÃO DA HIDRÓLISE DA LACTOSE E VERIFICAÇÃO DOS CARBOIDRATOS PRESENTES NO PRODUTO FINAL

Para a confirmação da hidrólise da lactose e a verificação dos carboidratos presentes nos DL, realizou-se a análise de eletroforese Eletroforese de Carboidratos Assistida por Fluoróforo (FACE), no laboratório de Análise de Glicoconjugados no Departamento de Bioquímica da Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF).

A determinação dos carboidratos presentes nas amostras dos DL foi analisada como descrito por Da Cunha *et al.* (2015) pela técnica de FACE.

4.4 CARACTERIZAÇÃO DOS DOCES DE LEITE

4.4.1 Análises físico-químicas

A análise do teor de sólidos solúveis foi realizada para auxiliar na determinação do ponto dos DL para controle da produção. Empregou-se o refratômetro (Instrutherm Instrumentos de Medição, modelo RT-280), realizando a leitura em temperatura ambiente (25 °C) e o resultado foi expresso em °Brix.

As análises de composição centesimal foram realizadas em um laboratório terceirizado credenciado no MAPA. O teor de cinzas foi determinado em mufla regulada para temperatura em torno de 550 °C. A umidade foi analisada pelo método gravimétrico, em estufa à temperatura entre 102 °C ± 1 °C. O teor de gordura foi determinado pelo método de Mojonnier e o teor de proteína total pelo método de Kjeldahl, empregando-se o fator 6,38 (BRASIL, 2006). O teor de carboidratos foi determinado pela diferença matemática dos demais constituintes físico-químicos analisados para o DL.

Os resultados da análise de composição centesimal dos diferentes DL foram analisados pela análise de variância (ANOVA). Foram avaliados os dados referentes aos parâmetros de gordura, proteína, cinzas, umidade, carboidratos e sólidos solúveis entre cada tratamento e suas médias comparadas pelo teste SNK com intervalo de confiança de 95%. Os resultados foram obtidos através do *software* estatístico Sisvar (versão 5.3).

4.4.2 Avaliação da cor

Realizou-se a análise de cor no laboratório de Tecnologia de Alimentos da Faculdade de Farmácia – UFJF. A cor das amostras de DL foi determinada por reflectância usando colorímetro (CR-400, Konica Minolta Sensing, Inc., Tóquio, Japão), devidamente calibrado com D65 iluminante. As amostras foram analisadas em temperatura ambiente (25 °C) considerando um sistema CIELab de cores. Os seguintes fatores foram avaliados: luminosidade (L^*), onde 0 = preto e 100 = branco; Chroma (C^*) e o ângulo Hue (h), obtido a partir de a^* e b^* , expressando a variação de luz em comprimentos de onda do verde ($-a^*$) para o vermelho ($+a^*$) e azul ($-b^*$) para o amarelo ($+b^*$), respectivamente.

Os resultados da análise de cor foram analisados pela ANOVA. Foram avaliados os dados referentes aos parâmetros L , a^* , b^* , C e h^* entre cada tratamento e suas médias

comparadas pelo teste SNK com intervalo de confiança de 95%. Os resultados foram obtidos através do *software* estatístico Sisvar (versão 5.3).

4.4.3 Avaliação da cristalização

No laboratório Microestrutural e Microanálise (Micro) do Núcleo de Espectroscopia e Estrutura Molecular (NEEM) no Departamento de Química da UFJF, realizou-se esta análise. O tamanho e número dos cristais de lactose assim como dos aglomerados de cristais, foram avaliados conforme Hough *et al.* (1990), Ares e Giménez (2008) e Silva *et al.* (2014). Após a homogeneização das amostras, pesou-se sobre a lâmina de microscópio cerca de 0,002 g de DL. Cobriu-se as amostras com a lamínula e uma leve pressão foi exercida. As amostras resultantes nas lâminas foram aparentemente circulares e observadas utilizando um microscópio óptico (Medilux, modelo L2000C) com uma lente ocular com ampliação de 10x e uma lente de objetiva com ampliação de 25x. Foram escolhidos aleatoriamente dez campos microscópicos de cada amostra, contou-se o número de cristais e verificou-se o tamanho desses cristais. Em seguida, foi utilizada a equação (2) para calcular a média do número de cristais por grama de DL, como segue:

$$N = \frac{nf \cdot \pi \cdot R^2}{(F \cdot W)} \quad (2)$$

Onde, N = número de cristais por grama de DL; nf = número médio de cristais observados em F; R = raio da amostra (mm); F = área de campo do microscópio (mm) e W = peso da amostra de DL.

A distribuição e tamanho dos cristais e seus aglomerados foram analisadas através das fotomicrografias das amostras de DL, utilizando a câmera (Mshot, modelo MC30, China) acoplada ao microscópio. Em cada figura, o comprimento dos cristais presentes no campo selecionado aleatoriamente, foi determinado utilizando o software Mshot Image Analysis System 1.0.

4.4.4 Análises microbiológicas

Nos DL foram realizadas as análises de fungos filamentosos e leveduras, Estafilococos coagulase positiva, Coliformes a 35 °C e a 45 °C e presença de *Salmonella* sp., segundo metodologia preconizada por Silva *et al.* (2007). Estas análises foram executadas no Laboratório de Análises de Alimentos e Águas (LAAA) da Faculdade de Farmácia da UFJF.

4.4.5 Análise da aceitação sensorial

As amostras de DL foram avaliadas por 162 provadores não treinados. O teste de aceitação foi realizado no Laboratório de Tecnologia de Alimentos da Faculdade de Farmácia da UFJF.

Os provadores foram instruídos em como preencher a ficha de avaliação sensorial (Apêndice 1) para cada atributo a ser avaliado, assim como a intenção de compra. Cada provador, alfabetizado e capaz de manifestar o consentimento para a participação desta análise, recebeu três amostras de DL de forma monádica, em espaços individuais, a temperatura ambiente, em copos de 50 mL, com pás, codificadas com três dígitos, apresentadas de forma casualizada e para limpeza do palato foi oferecido água mineral.

Então, foi empregada aos provadores uma escala hedônica de nove pontos, cujos extremos correspondem a desgostei extremamente (1) e gostei extremamente (9). Os doces de leite foram analisados quanto aos atributos doçura, cor, consistência, sabor, textura e impressão global, de acordo com a escala recomendada. As intenções de compra também foram avaliadas através de uma escala de 5 pontos, variando de certamente não compraria até certamente compraria.

Através da ANOVA no delineamento em blocos casualizados, os dados referentes a cada atributo (doçura, cor, consistência, sabor, textura e impressão global) foram avaliados juntamente com a intenção de compra. As médias foram comparadas pelo teste de t de *Student* com intervalo de confiança de 95%. Os resultados foram obtidos através do *software* estatístico Sisvar (versão 5.3).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 LEITE

Os resultados médios das análises físico-químicas dos leites utilizados nas diferentes fabricações são apresentados na Tabela 3.

Conforme a Instrução Normativa 62 (BRASIL, 2011), que retrata o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Leite Cru Refrigerado, defini-se que o leite cru refrigerado deverá atender os requisitos físico químicos de gordura (mínimo de 3 g/100g), acidez titulável (0,14 a 0,18 g de ácido láctico/100 mL), extrato seco desengordurado (ESD) (mínimo de 8,4 g/100g), índice crioscópico (-0,530 a -0,550 °H) e proteína (mínimo de 2,9 g/100g). Observou-se que os leites utilizados nas diferentes produções estavam em acordo com os parâmetros estabelecidos pela legislação, tornando-os aptos ao processamento pela indústria.

Tabela 3 - Análises físico-químicas dos leites utilizados na fabricação dos doces de leite (n = 9)

	Gordura (%)	Proteína (%)	Lactose (%)	ESD (%)	EST* (%)	Crioscopia(°H)	Acidez (g de ácido láctico/100 mL)
Médias	3,53	3,22	4,41	8,51	12,04	-0,538	0,15
Desvios padrão	0,14	0,04	0,01	0,10	0,05	0,03	0,01
Coefficientes de Variação (%)	3,97	1,24	0,23	0,59	0,83	5,58	6,67

*% EST= Extrato Seco Total, é a soma de % ESD + % G

Fonte: ELABORADO PELO PRÓPRIO AUTOR

Apesar da facilidade na alteração dos padrões de produção e das características físico-químicas do leite ocasionadas por diferentes fatores, como: desenvolvimento de micro-organismos; fatores nutricionais, fraudes do produto e também por fatores ambientais, onde se destacam, principalmente, intervalo entre as ordenhas, fase de lactação (BEHMER, 1999), fatores genéticos e, principalmente, alimentação (OLIVEIRA *et al.*, 2010), foi observado que os coeficientes de variação e os desvios padrão foram baixos, indicando pouca variação. Isso é

importante, pois sugere que as produções foram preparadas com leites semelhantes, minimizando as interferências deste no resultado final do experimento.

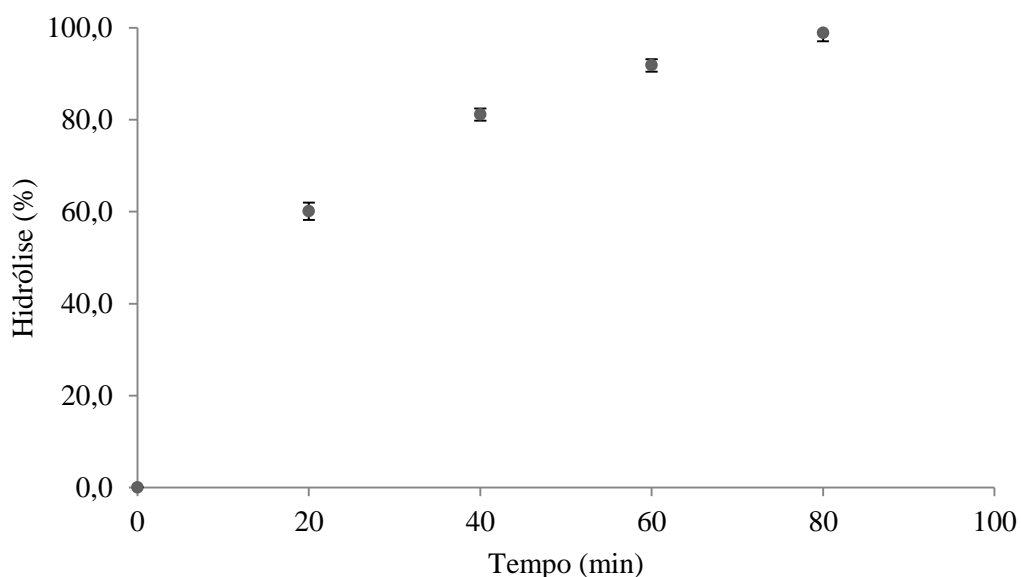
5.2 HIDRÓLISE DA LACTOSE NO LEITE PELA ENZIMA LACTASE

A faixa de pH e a temperatura ótimas para a lactase variam de 3,0 a 7,3 e de 30 a 60 °C, respectivamente, sendo que as melhores condições operacionais vão do pH 6,9 ao 7,3 a uma temperatura de 35 °C (ANDRADE, 2005).

A hidrólise da lactose no leite ocorreu à temperatura de 40 °C utilizando uma dosagem de 0,7 g/L da enzima lactase, dosagem e temperatura recomendadas pelo fabricante, no pH de $6,6 \pm 0,1$.

A partir da análise de crioscopia, construiu-se uma curva da porcentagem de hidrólise da lactose no leite em função do tempo, representada pela Figura 5. Observou-se que o tempo necessário para atingir 100% do grau de hidrólise foi, em média, de 80 minutos.

Figura 5 – Porcentagem de hidrólise da lactose no leite em função do tempo (n=3)



Fonte: ELABORADO PELO PRÓPRIO AUTOR

Moreira *et al.* (2009) verificaram que o grau de hidrólise total da lactose presente no leite foi atingido em 6 horas a 7 °C, utilizando a lactase na concentração de 0,8 g/L. Já Longo (2006) obteve no trabalho com influência da adição de lactase na produção de iogurte, utilizando a concentração de 0,8 g/L de enzima adicionada ao leite a 40 °C por um período de 4 horas, 88,07% de hidrólise. Klein *et al.* (2010), utilizando 0,4 g/L de lactase adicionada

diretamente ao leite a 40 °C por um período de 5 horas, conseguiram 41,4% de hidrólise. O grau de hidrólise no leite depende da dosagem de lactase no leite, da temperatura, do pH, da atividade enzimática e das condições de processamento (VINHAL, 2001). Os resultados deste experimento demonstram uma maior eficácia no tempo de hidrólise da lactose causada, provavelmente, pela maior atividade enzimática da enzima utilizada em comparação aos demais estudos. Para a indústria, quanto à velocidade de processo, é um resultado favorável, pois a diminuição do tempo de hidrólise favorece o processo produtivo.

5.3 CONFIRMAÇÃO DA HIDRÓLISE DA LACTOSE E VERIFICAÇÃO DOS CARBOIDRATOS PRESENTES NO PRODUTO FINAL

A Figura 6 apresenta a análise de FACE dos DL TR (TR1, TR2 e TR3), pode-se visualizar através das bandas eletroforéticas que a banda 1 representa a banda de lactose, 2 a banda de lactose hidrolisada; 3 a banda de glicose; 4 a banda de galactose; 5 a banda da amostra TR1, 6 a banda da amostra TR2 e 7 a banda da amostra TR3. Percebe-se claramente que a lactose está presente nas três repetições dos DL TR.



FACE. 1-lactose; 2-lactose hidrolisada; 3-glicose; 4-galactose; 5-amostra TR1; 6-amostra TR2; 7-amostra TR3. O: origem.

Fonte: ELABORADO PELO PRÓPRIO AUTOR

A Figura 7 representa a análise de FACE dos DL SL (SL1, SL2 e SL3), a banda eletroforética número 1 representa a banda de lactose, 2 a banda de lactose hidrolisada; 3 a banda de glicose; 4 a banda de galactose; 5 a banda da amostra SL1, 6 a banda da amostra SL2 e 7 a banda da amostra SL3. Observa-se que a lactose não está presente nessas três repetições, a banda dessas amostras assemelha-se as bandas de número 2, 3 e 4 de lactose hidrolisada, glicose e galactose, respectivamente, confirmando a ação da enzima lactase e a hidrólise da lactose no leite, já que não foi encontrada no produto final.

Figura 7 – Análise de FACE dos doces de leite sem adição de sacarose e sem lactose

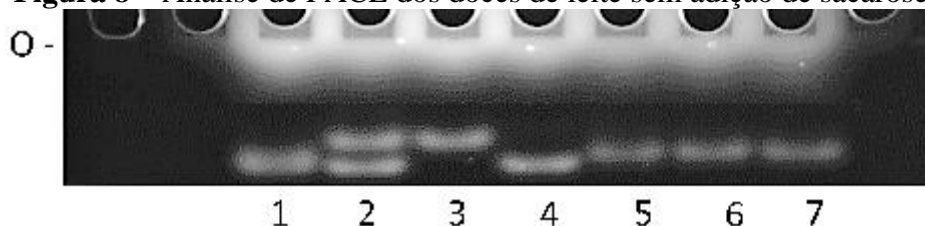


FACE. 1-lactose; 2-lactose hidrolisada; 3-glicose; 4-galactose; 5-amostra SL1; 6-amostra SL2; 7-amostra SL3. O: origem.

Fonte: ELABORADO PELO PRÓPRIO AUTOR

Na Figura 8 temos a análise de FACE dos DL SA (SA1, SA2 e SA3), a banda eletroforética número 1 representa a banda de lactose, 2 a banda de lactose hidrolisada; 3 a banda de glicose; 4 a banda de galactose; 5 a banda da amostra SA1, 6 a banda da amostra SA2 e 7 a banda da amostra SA3. Verifica-se que a lactose está presente nessas três repetições e que a banda dessas formulações assemelha-se a banda número 1 de lactose, confirmando a presença desse dissacarídeo no DL SA, assim como no DL TR.

Figura 8 – Análise de FACE dos doces de leite sem adição de sacarose



FACE. 1-lactose; 2-lactose hidrolisada; 3-glicose; 4-galactose; 5-amostra SA1; 6- amostra SA2; 7-amostra SA3. O: origem.

Fonte: ELABORADO PELO PRÓPRIO AUTOR

A realização desta análise foi de grande importância, pois comprovou a eficácia do processo de hidrólise da lactose em um curto tempo e garante à indústria o fornecimento ao consumidor de um produto compatível com os benefícios alegados.

5.4 ANÁLISE DE COMPOSIÇÃO CENTESIMAL DOS DOCES DE LEITE

A Tabela 4 apresenta as análises de composição centesimal das diferentes formulações de DL (TR, SL e SA), assim como o teste de comparação de médias segundo SNK, ao nível de 95% de confiança, entre os tratamentos.

O teor de gordura para o tratamento TR variou de 8,39% a 7,21%, o SL de 8,48% a 8,98% e o SA entre 7,85% e 8,69%.

Tabela 4 – Composição centesimal dos doces de leite (n=9)

	TR	SL	SA
Gordura (%)	7.60 ± 0,79 b	8.73 ± 0,25a	8.27 ± 0,42ab
Proteína (%)	6,43 ± 0,99a	7,00 ± 0,98a	6,37 ± 0,03a
Cinzas (%)	1,63 ± 0,06 b	1,93 ± 0,06a	1,73 ± 0,06 b
Umidade (%)	16,07 ± 3,23 b	25,23 ± 1,97a	19,77 ± 1,47 b
Carboidratos (%)	68,27 ± 2,87a	57,10 ± 3,13 c	63,87 ± 1,07 b
Sólidos solúveis (°Brix)	67,00 ± 0,10a	61,30 ± 0,58 b	68,30 ± 1,15a

*Médias com letras diferentes na mesma linha, são significativamente diferentes ($p < 0,05$) usando teste SNK

Fonte: ELABORADO PELO PRÓPRIO AUTOR

Todos valores se encontram dentro dos parâmetros do Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade de Doce de Leite do MAPA (BRASIL, 1997), que estabelece os valores composicionais que devem ser atendidos para DL (Tabela 5). Moreira *et al.* (2009) encontraram resultados entre 7,4% e 6,3%, também dentro da legislação, no estudo de produção de DL com teor reduzido de lactose. Por outro lado, Milagres *et al.* (2010) encontraram resultados superiores (9,5%) para DL fabricados com edulcorante sucralose e com uma combinação de ciclamato, sacarina e sorbitol e 6,5% para DL fabricado com adição de sacarose. O teor de gordura foi semelhante, nos DL do presente estudo, entre os tratamentos TR e SA, assim como entre SL e SA. Milagres *et al.* (2010) encontrou diferença ($p < 0,05$) entre o DL TR em comparação àqueles que utilizaram adoçantes.

Tabela 5 – Requisitos físico-químicos obrigatórios para doce de leite, de acordo com Brasil, 1997.

Requisito	Doce de leite
Umidade g/100g	Máx. 30%
Matéria gorda g/100g	6,0 e 9,0
Cinzas g/100g	Máx. 2,0%
Proteína g/100g	Mín. 5,0%

Fonte: Adaptado de BRASIL, 1997

Outro fator importante é o alto teor proteico dos DL. Neste estudo, todos apresentaram valor acima do mínimo de 5 g/100g referido na legislação (BRASIL, 1997) e os diferentes tratamentos foram iguais ($p > 0,05$) estatisticamente. Silva *et al.* (2014) avaliaram diferentes

concentrações de amido na produção de DL e não observaram variação ($p>0,05$) no teor proteico. Silva *et al.* (2009) apresentando valores médios de 8,69% e 8,97%, para DL *light* com hidrólise e sem hidrólise da lactose, respectivamente, também não encontrando diferença estatística. Moreira *et al.* (2009) apresentaram resultados de 8% e 9,3% para DL com teor reduzido de lactose produzidos a partir de duas diferentes marcas de lactase. Outro estudo de caracterização de DL demonstrou variação entre 3,51% a 7,12% no teor proteico referente a sete diferentes amostras comerciais (GAZE *et al.*, 2014), demonstrando valores diferentes ($p<0,05$) e até abaixo do permitido pela legislação vigente.

O teor de cinza obteve o menor desvio padrão entre os atributos físico-químicos e todos os tratamentos apresentaram-se dentro do parâmetro estabelecido pela legislação de no máximo 2,0 g/100g (BRASIL, 1997). Os tratamentos TR e SA foram iguais ($p>0,05$), com médias de 1,63 e 1,73, respectivamente, e diferindo-se do SL, com valor médio de 1,93. Na fabricação do DL SA utilizou-se maior quantidade de bicarbonato de sódio, mas esse coadjuvante de tecnologia não aumentou o teor de cinzas desse produto em relação aos demais. O estudo de Gaze *et al.* (2014), apresentou variações no teor de cinzas entre 1,31% a 2,05%, demonstrando valores maiores que os permitidos pela legislação. No trabalho de Moreira *et al.* (2009), foram encontrados valores de 1,7% e 1,8%, dentro da legislação, assim como Silva *et al.* (2009) encontraram valores médios de 1,57% e 1,66% e Silva *et al.* (2014) apresentaram valores médios que variaram de 1,74% a 1,80%, todos dois últimos trabalhos não encontraram diferença ($p<0,05$) entre os teores de cinzas dos DL produzidos.

Considerando o teor de umidade, os tratamentos encontram-se dentro da legislação, que considera valor máximo de 30% (BRASIL, 1997). O valor para o tratamento SL foi maior e diferente dos demais ($p<0,05$), com valor médio de 25,23%, os DL TR e SA apresentaram valores médios de 16,07% e 19,77%, respectivamente. Percebemos no presente estudo que a hidrólise da lactose afetou o teor de umidade. Possivelmente, pela maior concentração de glicose no meio, ocasionada pela hidrólise da lactose. Conforme Perrone *et al.* (2011), a glicose apresenta elevada solubilidade e alta capacidade de hidratação, aumentando a viscosidade do meio fazendo com que o “ponto” na fabricação do DL seja atingido com maior teor umidade.

O teor de umidade está ligado ao teor de sólidos solúveis, o tratamento SL foi o que obteve maior teor de umidade e menor teor de sólidos solúveis e assim para os tratamentos TR e SA que obtiveram menores teores de umidade e maiores teores de sólidos solúveis, não havendo diferença ($p<0,05$) entre cada atributo.

Garcia *et al.* (2008) avaliaram os efeitos dos substitutos de açúcar como a polidextrose, frutose e sorbitol nas propriedades físico-químicas do DL e não verificaram diferença ($p<0,05$)

entre o atributo umidade nas produções tradicionais e substituindo 50% do açúcar por esse mix de polidextrose, frutose e sorbitol. No presente trabalho, na produção do DL SA, substituiu-se toda sacarose do DL TR pelo mix (polidextrose, sorbitol, maltitol e sucralose) e o resultado mostrou-se conforme com os resultados de Garcia *et al.* (2008), não encontrando diferença ($p>0,05$) entre os teores de umidade dos DL TR e SA. Silva *et al.* (2009) encontraram valores médios de 29,09% e 25,75%, também iguais ($p>0,05$) para DL *light* com hidrólise e sem hidrólise da lactose. Os teores de umidade encontrados por Moreira *et al.* (2009) foram de 27,8% e 26%, no estudo de produção de DL com teor reduzido de lactose.

Não há parâmetro na legislação para o teor de carboidratos, os valores médios dos tratamentos foram diferentes ($p<0,05$), o menor valor médio foi de 57,10% do SL seguido de 63,87% do SA e 68,27% do TR. Como os teores dos outros atributos variaram para os diferentes tratamentos, o teor de carboidratos também foi diferente ($p<0,05$) entre os DL. Foram encontrados valores de 55,1% e 56,6% no trabalho de Moreira *et al.* (2009), que avaliaram DL com teor reduzido de lactose e Silva *et al.* (2009) encontrou valores médios de 57,80% e 60,72%, não encontrando diferença ($p>0,05$) em seu trabalho com DL *light* com e sem hidrólise da lactose.

O teor de sólidos solúveis, medidos pelos °Brix, é uma medida auxiliar na medição do ponto na fabricação de DL e como dito anteriormente, está relacionado ao teor de umidade. Os valores médios encontrados para os DL TR e SA neste estudo, foram iguais ($p>0,05$) 67 °Brix e 68,30 °Brix, respectivamente, o valor médio encontrado para o DL SL, 61,30 °Brix, foi diferente ($p<0,05$) dos demais. Silva *et al.* (2009) encontraram em seu trabalho valores médios de 71,90 °Brix e 74,03 °Brix, iguais estatisticamente ($p>0,05$). Garcia *et al.* (2008), não verificaram diferença ($p>0,05$) em relação aos sólidos solúveis nas produções tradicionais e substituindo 50% do açúcar por polidextrose, sorbitol e frutose. Outro estudo que não observou diferenças ($p>0,05$) entre as médias de sólidos solúveis foi de Silva *et al.* (2014), os valores médios variaram de 66,7 °Brix a 69,5 °Brix.

5.5 ANÁLISE DE COR

Geralmente, as medições de cores proporcionam uma adequada diferenciação entre as amostras, e constituem uma maneira interessante de avaliar esse parâmetro de qualidade das amostras de doce de leite (GAZE *et al.*, 2014).

Pela análise estatística (Tabela 6), percebe-se diferença significativa ($p < 0,05$) entre os tratamentos no que diz respeito às medições de cor. No presente estudo, os tratamentos TR e SL apresentaram a menor luminosidade (L) (42,11 e 42,60, respectivamente), e ângulo hue (h^*) (69,53 e 67,14), enquanto o tratamento SA obteve os maiores valores para estes parâmetros (44,09 e 72,53).

Tabela 6 – Análise de cor dos doces de leite (n=9)

	TR	SL	SA
L	42,41 ± 0,43 b	42,60 ± 0,54 b	44,09 ± 0,73a
a*	5,67 ± 0,31a	6,15 ± 0,56a	4,17 ± 0,37 b
b*	15,21 ± 0,43a	14,61 ± 0,46ab	13,28 ± 0,67 b
C*	16,23 ± 0,49a	15,86 ± 0,29a	13,92 ± 0,60 b
h*	69,53 ± 0,66ab	67,14 ± 2,38ab	72,53 ± 1,98a

*Médias com letras diferentes na mesma linha, são significativamente diferentes ($p < 0,05$) usando teste SNK.

Fonte: ELABORADO PELO PRÓPRIO AUTOR

O tratamento SL apresentou valores iguais ($p > 0,05$) ao TR, apesar do leite utilizado na produção do DL SL ter sido hidrolisado, pois como dito, a lactase é responsável pela hidrólise enzimática da lactose na ligação glicosídica β -1,4, originando como produto os monossacarídeos glicose e galactose, isso gera um de aumento da velocidade da reação de Maillard como consequência do aumento do teor de açúcares redutores, favorecendo a formação da coloração escura no produto (FOX e MCSWEENEY, 2009; GAZE *et al.*, 2014).

A coloração no DL também pode ser controlada por fatores como tempo de fabricação, pH da mistura leite e açúcar e temperatura de concentração (PERRONE *et al.*, 2011). Este último fator foi controlado no presente estudo, através da regulagem da entrada de vapor no tacho, com uma menor quantidade de vapor, menor a temperatura e menor intensidade da reação de Maillard, evitando o escurecimento excessivo do DL SL. Além disso, a quantidade de bicarbonato de sódio utilizada na fabricação foi reduzida em relação aos demais tratamentos.

Os valores médios de luminosidade encontrados foram abaixo dos encontrados por Silva *et al.* (2014) que apresentaram valores que variaram de 51,22 a 55,67. Ferreira *et al.* (1989) demonstraram valor médio de 47,04 e Machado (2005) encontrou valores variando de 47,71 a 54,49. Já nos estudos de Pauletti *et al.* (1992), os valores para luminosidade variaram de 31,09 a 42,03.

O RITQ define o requisito sensorial de cor para DL como: castanho amarelado proveniente da reação de Maillard (BRASIL, 1997). A cor do doce de leite é um padrão regional, possivelmente por este motivo encontraram-se diferenças entre os resultados dos trabalhos. Segundo Perrone *et al.* (2011), a cor do produto será considerada um problema de acordo com o padrão de cor aceito na região.

Os valores positivos encontrados para a cor nas coordenadas a^* e b^* , indicam que o DL é um produto com uma tendência de vermelho e amarelo, com predominância do segundo, devido ao maior valor de b^* encontrados em todos os tratamentos. Neste estudo, os valores médios variaram de 4,17 a 6,15 para o parâmetro a^* e de 13,28 a 15,21 para o b^* . Estes valores são menores dos que os encontrados por Silva *et al.* (2014) que observaram valores médios de a^* entre 9,06 e 9,51 e valores médios de b^* entre 20,78 e 22,89. Gaze *et al.* (2014) também encontraram valores inferiores (13.60 e 15.17; 17.89 e 27.70, respectivamente) para estes parâmetros.

Como os processos da reação de Maillard e caramelização estão associados ao escurecimento do DL, pode-se concluir que estas reações definem o padrão de cor do produto (PATHARE *et al.*, 2013). Portanto, a cor menos intensa do tratamento SA em comparação aos demais, pode ser associada a menor intensidade dessas reações.

Na produção do DL SA utilizou-se maior quantidade de bicarbonato de sódio em relação aos demais tratamentos. De acordo com Perrone *et al.* (2011), este coadjuvante de tecnologia favorece a reação de escurecimento não enzimático, devido ao aumento do pH do meio, conferindo maior intensidade na formação da cor no produto.

Apesar desta diferença entre as formulações, essa pode ser compensada através do controle dos parâmetros que interferem na cor, citados anteriormente.

Pelos valores h^* encontrados, variando de 67,14 a 72,53 representando a variação, em graus, de vermelho para amarelo. Valores maiores que 45, ilustram a tendência de DL para ser amarelada (SILVA *et al.*, 2014). O parâmetro Chroma (C^*), que expressa a saturação ou intensidade da cor, foi menos intenso, 13,92 no DL SA e mais intenso no DL TR e SL 16,23 e 15,86, respectivamente.

Conforme mencionaram Oliveira *et al.* (2009), as diferenças entre as amostras com relação ao parâmetro de cor são, provavelmente, devido às diferenças na composição de açúcar, bem como as alterações do tempo, temperatura e pressão, de acordo com cada produção.

5.6 ANÁLISE DOS CRISTAIS DE LACTOSE

A cristalização da lactose apresenta grande importância, pois deve representar um ponto de controle para não desenvolver um defeito no produto, com a percepção dos cristais de lactose (WALSTRA e JENNESS, 1984).

Segundo Holsinger (1997), para os cristais serem percebidos sensorialmente, estes devem exceder ao tamanho de 16 μm . Entretanto, Hough *et al.* (1990) afirmaram que cristais de tamanho menor que 6 μm de diâmetro não são percebidos sensorialmente mesmo que toda a lactose presente no DL esteja cristalizada. Já cristais maiores que 6 μm contribuem com a percepção sensorial da textura arenosa dependendo do número em que estão presentes no produto. Fox e McSweeney (2009) inferiram que cristais de lactose de tamanho superiores a 10 μm são percebidos na boca, dando ao produto uma textura com defeito chamado de arenosidade.

De acordo com os resultados descritos na Tabela 7, para o DL TR verificou-se uma média de $2,63 \times 10^4$ número de cristais/g de doce de leite e tamanho médio dos cristais de lactose de 29,78 μm . No DL SL não se percebeu a presença de cristais de lactose, o que indica que a hidrólise influenciou na cristalização, conforme o esperado. Para o DL SA, observou-se valor médio de $4,36 \times 10^6$ para número de cristais/g de doce de leite e 24,83 μm para o tamanho dos cristais.

Tabela 7 – Análise de cristalização dos doces de leite (n=9)

Tratamentos	Número de cristais/g de doce de leite	Tamanho dos cristais (μm)
TR	$2,63 \times 10^4 \pm 19,00$	$29,78 \pm 27,84$
SL	-	-
SA	$4,36 \times 10^6 \pm 298,22$	$24,83 \pm 1,04$

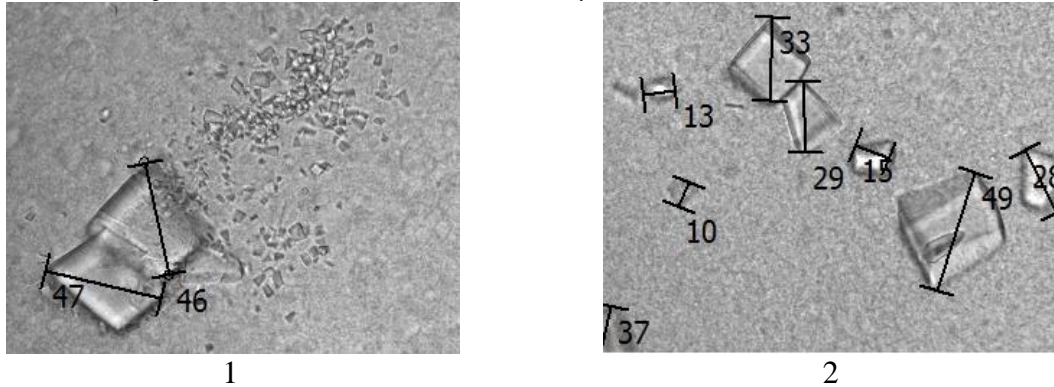
Fonte: ELABORADO PELO PRÓPRIO AUTOR

A solubilidade da lactose em presença de sacarose pode ser utilizada para apoiar o resultado médio do número de cristais por grama de DL ter sido menor no DL TR em relação ao SA (Figura 9). A solubilidade média da lactose, a 20 °C é de 20 g/100g H₂O (BOBBIO, 1992). Essa solubilidade é agravada pela presença simultânea de sacarose em solução (146 g/100g de água), que reduz substancialmente a solubilidade de lactose (ARES e GIMÉNEZ, 2008).

Nessas condições, portanto, é inevitável que ocorra a cristalização da lactose devido à sua baixa solubilidade aliada à adição de sacarose em uma solução supersaturada de lactose,

em que ocorrem agitação e resfriamento, tornando-se inevitável a cristalização e provocando a rejeição do consumidor (KLEIN *et al.*, 2010).

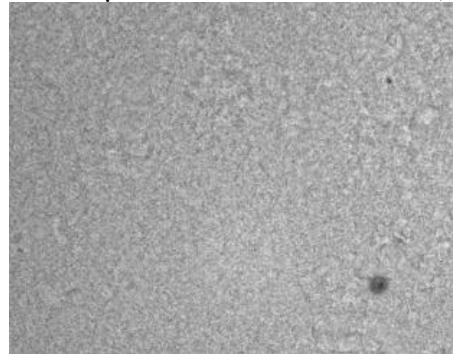
Figura 9 – Cristais de lactose no doce de leite tradicional (1) e no doce de leite sem adição de sacarose (2) (tamanho em μm com aumento de 250x)



Fonte: ELABORADO PELO PRÓPRIO AUTOR

A ausência de cristais de lactose no DL SL (Figura 10) era esperada, pois os cristais são formados pela saturação e supersaturação da lactose em solução, como não há presença de lactose no meio devido à hidrólise, não foram encontrados cristais.

Figura 10 – Cristais de lactose no doce de leite sem adição de sacarose e sem lactose (tamanho em μm com aumento de 250x)



Fonte: ELABORADO PELO PRÓPRIO AUTOR

Percebe-se que a percepção sensorial dos cristais de lactose no DL depende do número de cristais e de seu tamanho. Para DL é melhor apresentar um elevado número de cristais por grama de produto, mas com menor tamanho, a fim de não serem percebidos sensorialmente pelos consumidores.

As alternativas para controle da cristalização são adição de amido e hidrólise da lactose (FOX e MCSWEENEY, 2008). Cabe ressaltar, que o RTIQ permite apenas a adição de 0,5% de amido sobre o volume de leite a ser utilizado como ingrediente na produção de DL. Na

utilização de quantidades superiores de amido, o produto precisa apresentar outra denominação de venda. (BRASIL, 1997).

Silva *et al.* (2014) no trabalho avaliando a adição de amido no processamento de DL entre 10% e 20% do total da mistura, não encontraram cristais nos doces adicionados de amido durante a fabricação. Klein *et al.* (2010) verificaram que 23,16% de hidrólise da lactose foi suficiente para que a arenosidade não fosse percebida sensorialmente pelos provadores durante 180 dias de estocagem.

Todas as produções do presente experimento foram adicionadas de amido, 0,5% sobre o volume de leite, no entanto a quantidade adicionada não foi suficiente para evitar o aparecimento de cristais perceptíveis ao paladar.

5.7 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS

Contaminações alimentares por micro-organismos patogênicos são um perigo em potencial para a saúde das pessoas. Alimentos podem ser contaminados por práticas inadequadas na fazenda, durante o processamento, nos centro de distribuição, nas prateleiras dos mercados ou na casa dos consumidores. A possibilidade do DL apresentar bactérias patogênicas não pode ser excluída, apesar da sua baixa atividade de água devido à alta concentração de carboidratos (HENTGES *et al.*, 2010).

As análises microbiológicas realizadas neste experimento contemplaram o RTIQ para DL (BRASIL, 1997) e a Resolução – RDC n°12 de 2 de Janeiro de 2001 da ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) (BRASIL, 2001). Os resultados são apresentados na Tabela 8.

Tabela 8 – Análises microbiológicas realizadas nos doces de leite (n=9)

	Fungos filamentosos e leveduras (UFC/g)	Coliformes a 35 °C e 45 °C (NMP/g)	Estafilococos coagulase positiva (UFC/g)	<i>Salmonella</i> sp (Ausência em 25g)
TR1	20	<3	<10	Ausência
TR2	<10	<3	<10	Ausência
TR3	<10	<3	<10	Ausência
SL1	10	<3	<10	Ausência
SL2	<10	<3	<10	Ausência
SL3	<10	<3	<10	Ausência
SA1	<10	<3	<10	Ausência
SA2	10	<3	<10	Ausência
SA3	30	<3	<10	Ausência

Fonte: ELABORADO PELO PRÓPRIO AUTOR

Todas as amostras apresentaram resultados microbiológicos dentro dos padrões estabelecidos pela legislação brasileira (BRASIL, 1997; 2001) tornando-as aptas para o consumo. Os padrões das legislações estão na Tabela 9.

Tabela 9 – Critérios de aceitação para análises microbiológicas de doce de leite referentes às legislações (BRASIL, 1997; 2001)

	Critérios de aceitação	
	BRASIL, 1997	BRASIL, 2001
Fungos filamentosos e leveduras (UFC/g)	n=5 c=2 m=50 M=100	-
<i>Staphylococcus</i> coagulase positiva (NMP/mL)	n=5 c=2 m=10 M=100	n=5 c=2 m=10 M=100
Coliformes a 45 °C (UFC/g)	-	n=5 c=2 m=10 M=50
<i>Salmonella</i> sp. (Ausência em 25g)	-	n=5 c=0 m=Aus. M=Aus.

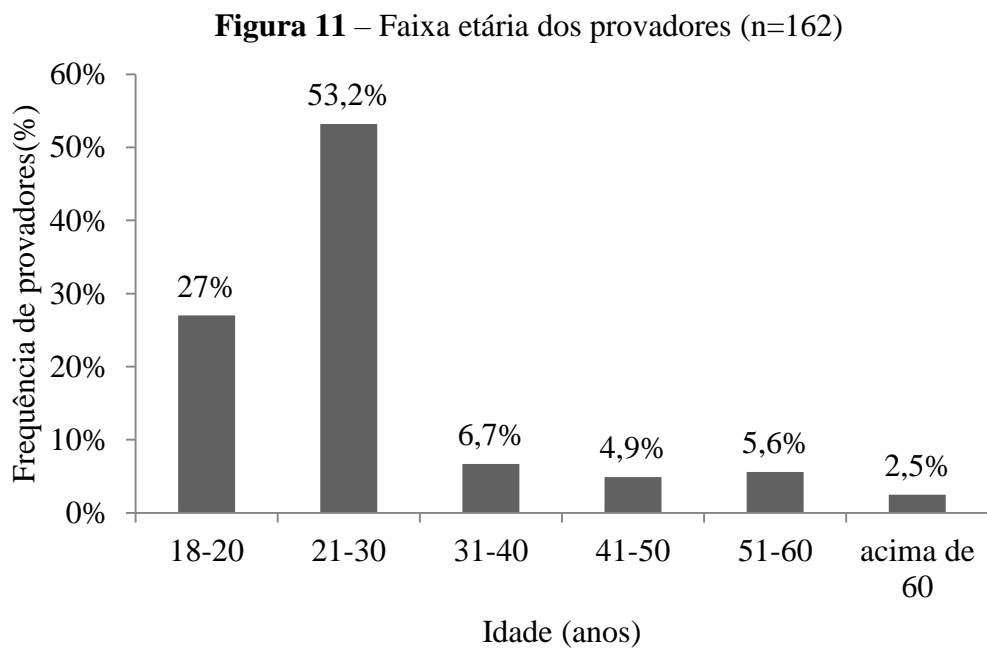
Fonte: Adaptado de BRASIL, 1997; 2001

5.8 ANÁLISE DA ACEITAÇÃO SENSORIAL

Na análise sensorial, utilizou-se um teste afetivo qualitativo de aceitação com a escala hedônica, medindo quanto uma população gostou do produto através do somatório de todas as percepções sensoriais, expressando o julgamento por parte do consumidor sobre a qualidade do produto. A aceitação do consumidor é o critério último na ciência e tecnologia de alimentos (DUTCOSKY, 2013).

Nos questionários aplicados aos provadores (Apêndice 1), realizaram-se alguns questionamentos e avaliaram-se a frequência de alguns fatores, como: faixa etária, consumo de DL, frequência de consumo e o principal critério para compra.

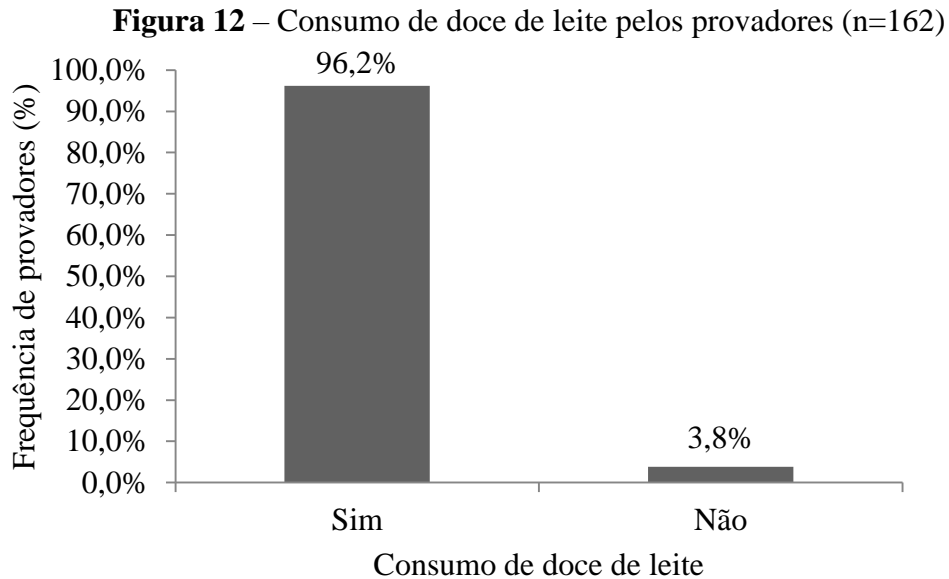
Siqueira (2015), em seu artigo sobre o mercado consumidor de lácteos no Brasil, relatou que vários fatores mudaram o perfil de consumo mundial e brasileiro, como o crescimento populacional, aumento de renda da população, aceleração da urbanização e às mudanças de hábitos dos consumidores. Na Figura 11, observa-se a frequência de provadores de acordo com a faixa etária.



Fonte: ELABORADO PELO PRÓPRIO AUTOR

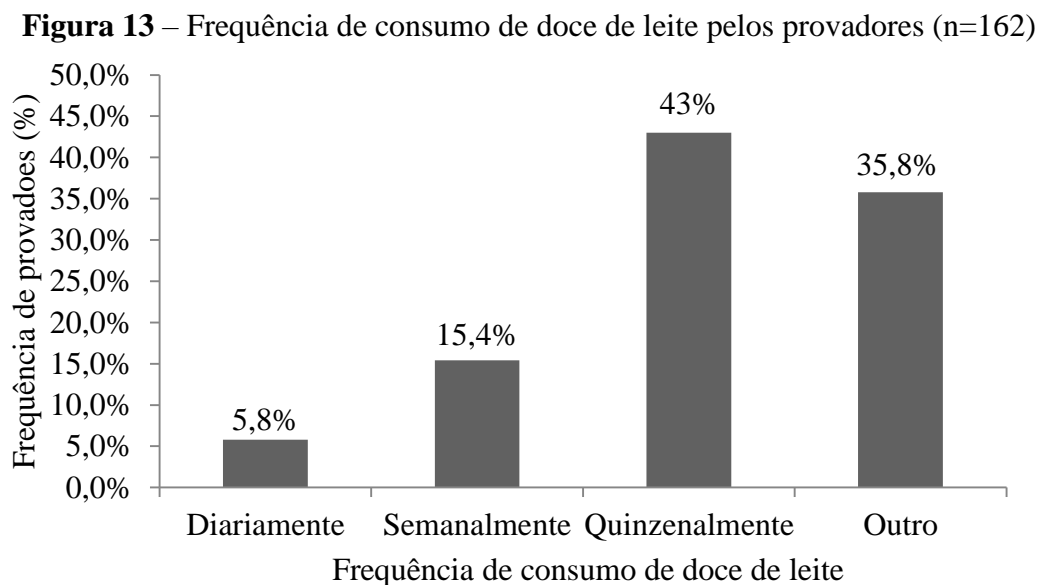
Este derivado lácteo com sabor único agrada aos paladares sul-americanos e mundiais, pois devido à adição de sacarose e à elevada concentração de sólidos lácteos, modificam-se os aspectos reológicos do produto. Ressaltando sua importância nutricional e econômica, pois se associa o sabor aos benefícios nutricionais do leite e a um maior *shelf-life*, conferindo ainda a

logística a não necessidade de refrigeração (PERRONE *et al.*, 2011). Conforme os dados apresentados na Figura 12 verificou-se que 96,2% dos provadores consomem este produto, afirmando que o DL é uma ótima oportunidade de crescimento para laticínios de todo país. O mercado de DL se renova a cada dia e existe um grande espaço para novos sabores, inclusive para as novas tendências da alimentação (BRANDÃO e FONTES, 2006).



Fonte: ELABORADO PELO PRÓPRIO AUTOR

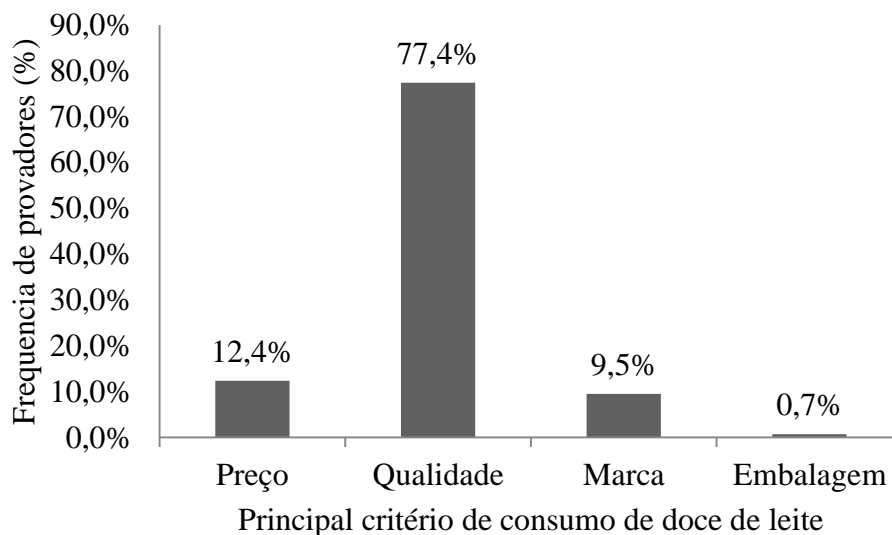
A Figura 13 apresenta a frequência de consumo de DL. Percebe-se que a maior frequência de consumo foi quinzenalmente, representada por 43% do número de provadores.



Fonte: ELABORADO PELO PRÓPRIO AUTOR

A Figura 14 demonstra que 77,4% dos provadores têm como qualidade o principal critério na compra do DL.

Figura 14 – Principal critério de consumo de doce de leite pelos provadores (n=162)



Fonte: ELABORADO PELO PRÓPRIO AUTOR

O teste de aceitação em escala hedônica é um método afetivo que avalia de forma subjetiva o quanto o provador gostou ou desgostou do produto (DUTCOSKY, 2013). Realizou-se a ANOVA e o teste de comparação de médias segundo t de *Student*, ao nível de 95% de confiança, para avaliar os atributos sensoriais entre os tratamentos (Tabela 10).

Tabela 10- Análise sensorial dos doces de leite (n=162)

	TR	SL	SA
Doçura	7,48 ± 1,58a	7,09 ± 1,66 b	7,22 ± 1,59ab
Cor	7,86 ± 1,26a	7,86 ± 1,22a	7,14 ± 1,61 b
Consistência	7,14 ± 2,01 b	7,52 ± 1,38a	7,70 ± 1,52a
Sabor	7,43 ± 1,81a	6,63 ± 2,03 b	6,97 ± 1,74 b
Textura	7,61 ± 1,62a	7,62 ± 1,38a	6,59 ± 2,17 b
Impressão global	7,46 ± 1,53a	7,04 ± 1,73 b	6,87 ± 1,72 b

*Médias com letras diferentes na mesma linha, são significativamente diferentes ($p < 0,05$) usando teste t de *Student*.

Fonte: ELABORADO PELO PRÓPRIO AUTOR

As médias das notas de doçura para os DL TR e SA foram iguais ($p > 0,05$), assim como para os tratamentos SL e SA. Na produção do DL SL, apesar da menor concentração do mix (polidextrose, sorbitol, maltitol e sucralose) e, conseqüentemente, menor quantidade de

edulcorantes, essa diferença não foi percebida pelos julgadores em relação ao tratamento SA. A hidrólise da lactose no leite, para a produção do DL SL, possivelmente, causou maior dulçor nesse produto em relação ao DL TR, provocando menor nota para o tratamento SL quando comparando ao TR. O atributo cor mostrou variação média de 7,14 a 7,86 entre os DL. Os provadores não perceberam diferença ($p > 0,05$) entre os tratamentos TR e SL, e entre SL e SA. De acordo com a análise instrumental de cor, os DL TR e SL foram iguais, ao nível de 5% de significância pelo teste de comparação de médias SNK em relação à luminosidade, mas apresentaram-se mais escuros que o SA, e através da análise sensorial pode-se observar que os consumidores preferiram os DL com coloração mais escura. No trabalho de Garcia *et al.* (2008), os julgadores perceberam diferença ($p < 0,05$) para o atributo cor, em DL preparado com diferentes concentrações de polidextrose, frutose e sorbitol. Silva *et al.* (2014) verificaram diferença ($p < 0,05$) com relação a cor do produto, no DL sem adição de amido comparado aos outros com diferentes concentrações de amido.

A cor do DL está relacionada ao tempo de fabricação, quanto maior este tempo, mais o produto tende a escurecer; a temperatura de concentração e ao pH da mistura, pois a temperatura e o pH são catalisadores da reação de escurecimento não enzimático (PERRONE *et al.*, 2011).

Em relação à consistência e o sabor as notas médias dos tratamentos variaram de 7,14 a 7,70 e 6,63 a 7,43, respectivamente. As produções SL e SA obtiveram maiores notas e iguais ($p > 0,05$) para consistência, quando comparadas ao TR. Para o atributo sabor, o DL TR foi diferente ($p < 0,05$) dos demais tratamentos, obtendo as maiores notas. No trabalho de Silva *et al.* (2014), os sabores das diferentes produções de DL com diferentes concentrações de amido foram iguais ($p > 0,05$). Já Garcia *et al.* (2008) perceberam diferenças ($p < 0,05$) no sabor, em DL preparado com diferentes concentrações de polidextrose, frutose e sorbitol. Milagres *et al.* (2010) perceberam maior aceitação no quesito sabor para o DL com adição de açúcar e menor para os produtos adicionado de sucralose e adicionado de ciclamato, sacarina e sorbitol. Outro estudo realizado por Moreira *et al.* (2009) verificaram que os provadores não perceberam diferença entre DL TR e DL SL, este último fabricado com duas amostras de lactase de diferentes marcas.

Sabe-se que o sabor e consistência do DL TR são únicos (PERRONE *et al.*, 2011) e que adoçantes podem deixar gosto residual nos produtos (MILAGRES *et al.* 2010). Segundo Perrone *et al.* (2011) o tempo de fabricação é determinante nas características do produto final, pois a cor, sabor e, principalmente, a viscosidade do doce de leite estão diretamente ligados ao tempo de processamento. Doces produzidos em um tempo muito curtos apresentam coloração clara, sabor menos acentuado e baixa viscosidade.

Em relação ao sabor, apesar do menor tempo de fabricação para o DL TR, este apresentou maiores notas nesse atributo. O que pode ter interferido no julgamento dos provadores em relação aos DL SL e SA foi o gosto residual deixado pelos adoçantes nessas formulações e a hidrólise da lactose que provocou o aumento do dulçor.

Para textura, os DL TR e SL obtiveram as maiores médias 7,61 e 7,62 respectivamente ($p > 0,05$). O DL SA, com nota média de 6,59, apresentou a menor nota. Sabe-se pela análise de cristais de lactose, que a textura do DL SA foi desfavorecida pela presença de grande número de cristais por grama de DL ($4,36 \times 10^6 \pm 298,22$ cristais/g de doce de leite). Além disso, verificou-se também que a quantidade de cristais presentes no DL TR ($2,63 \times 10^4 \pm 19,00$ cristais/g de doce de leite) não impediu que os provadores o avaliassem bem, ficando comparado ao DL SL, onde não foram percebidos cristais de lactose.

No aspecto impressão global o DL TR apresentou a maior nota média ($p < 0,05$), em relação aos demais. Os DL SL e SA obtiveram notas iguais ($p > 0,05$), 7,04 e 6,87 respectivamente. A preferência quanto ao produto TR foi maior, mas os DL SL e o SA mostraram-se bem aceitos pelos provadores e até igual ao DL TR em alguns atributos.

Realizou-se a ANOVA e teste de comparação de médias, ao nível de 95% de confiança usando o teste t de *Student* (Tabela 11), para a avaliação da intenção de compra. Percebeu-se que o DL TR foi o que apresentou maior nota ($p < 0,05$), apresentando valor médio de 4,05. Os DL SL e SA apresentaram a mesma intenção de compra ($p > 0,05$), com valores médios de 3,65 e 3,57 respectivamente.

Tabela 11 – Análise da intenção de compra dos doces de leite (n=162)

TR	4,05 ± 1,07a
SL	3,65 ± 1,16 b
SA	3,57 ± 1,20 b

*Médias com letras diferentes na mesma coluna, são significativamente diferentes ($p < 0,05$) usando teste t de *Student*.

Fonte: ELABORADO PELO PRÓPRIO AUTOR

6. CONCLUSÃO

- Foi possível produzir três tipos de DL (TR, SL e SA) a partir das formulações e condições propostas;
- A hidrólise da lactose no leite utilizado na produção de DL SL ocorreu em um curto espaço de tempo, sendo viável para um processo industrial. Além disso, ela foi confirmada no produto final por meio de FACE;
- Os DL apresentaram composição centesimal diferentes entre si, mas em acordo com o padrão do RTIQ para DL;
- Os tratamentos TR e SL apresentaram cor mais escura que o SA e semelhantes entre si;
- Os DL TR e SA apresentaram cristais em números diferentes, mas com tamanhos iguais, enquanto que o DL SL não apresentou cristalização;
- Os três tipos de DL apresentaram-se dentro dos padrões microbiológicos legais;
- O produto TR apresentou as maiores notas no teste de aceitação sensorial na maioria dos atributos e também no teste de intenção de compra. Entretanto, o DL SL apresentou notas iguais ao TR em relação à cor, consistência e textura. Já o DL SA foi o menos aceito pelos provadores em relação aos atributos avaliados.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDRADE, Ailton Cesar. **Estudo da fermentação simultânea à hidrólise de soro de queijo, utilizando lactase e *Saccharomyces cerevisiae***. 2005. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Programa de Pós-graduação em Engenharia Química, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2005.

ARAÚJO, J. M. A. **Química de alimentos: teoria e prática**. 3. Ed. Viçosa: UFV, 480p. 2004.

ARES, G. GIMÉNEZ, A. Influence of temperature on accelerated lactose crystallization in dulce de leche. **International Journal of Dairy Technology**, v.61, n.3, 2008.

AROBBA, M. P.; RUMBADO, F. M.; INTORNO, G. Guia de Aplicacion de Buenas Practicas de Manufactura en Dulce de Leche. **Authors publication**. Buenos Aires. ISBN N8 987-43-4347-8, 2002.

BRASIL. Regulamento de inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal (RIISPOA). Título VIII - Inspeção Industrial e Sanitária do Leite e Derivados. Capítulo I, Leite em natureza. Decreto nº 30.691 de 29 de março de 1952, alterado pelo Decreto nº 1.255 de 25 de junho de 1962. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, 29 de Mar. 1952.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria n. 354, de 04 de setembro de 1997. Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade de Doce de Leite. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, 08 set. 1997.

BRASIL. Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Portaria n. 29, 13 de Janeiro de 1998. Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade de Alimentos para Fins Especiais. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, 30 mar. 1998.

BRASIL. Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 12, de 2 de Janeiro de 2001. Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, 20 dez. 2000.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria da Defesa Agropecuária. Laboratório Nacional de Referência Animal. Instrução Normativa 68 de 12/12/2006. Métodos analíticos oficiais físico-químicos, para controle de leite e produtos lácteos. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, 14 dez. 2006.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria da Defesa Agropecuária. Laboratório Nacional de Referência Animal. Instrução Normativa 62 de 29/12/2011. Aprovar o Regulamento Técnico de Produção, Identidade e Qualidade do Leite tipo A, o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite Cru Refrigerado, o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite Pasteurizado e o Regulamento Técnico da Coleta de Leite Cru Refrigerado e seu Transporte a Granel. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, 30 dez. 2011.

BEHMER, M. L. A. **Tecnologia do leite**: queijo, manteiga, caseína, iogurte, sorvetes e instalações: produção, industrialização, análise. 13. ed. São Paulo: Nobel, 1999.

BENASSI, V. T.; WATANABE, E.; LOBO, A. R. Produtos de panificação com conteúdo calórico reduzido. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v.19, p.225-242, 2001.

BOBBIO, F. O.; BOBBIO, P. A. **Introdução à Química de Alimentos**. 2.Ed. São Paulo: Livraria Varela, 1992.

BOEKEL, M. A. J. S. Effect of heating on Maillard reactions in Milk. **Food Chemistry**. Elsevier Science Ltd. v.62, n.4, p.403-414, 1998.

BULÉON, A.; COLONNA, P.; PLANCHOT, V.; BALL, S. Starch granules: structure and biosynthesis. **International Journal of Biological Macromolecules**. v.23, p.85-112, 1998.

BRANDÃO, S. C. C.; FONTES, A. C. L. Tendências na fabricação de lácteos light e diet. Capítulo 5. **Tendências e avanços do agronegócio do leite nas Américas**: mais leite = mais saúde. Porto Alegre: Associação Gaúcha de Laticinistas, 2006.

BROWN-ESTERS, O.; MCNAMARA, P.; SAVIANO, D. Dietary and biological factors influencing lactose intolerance. **International Dairy Journal**. v.22, p.98-103, 2012.

COLOMBO, M.; PERRONE, I. T.; STEPHANI, R.; SILVA, P. H. F. Avaliação da viscosidade durante a fabricação do doce de leite tradicional adicionado de amido de milho nativo. **Revista Instituto de Laticínio “Cândido Tostes”**, v.64, n.370, p.14-17, 2009.

COSTA, A. C. P. B., MACÊDO, F. S.; HONCZAR, G. Brasil Food Trends 2020 – Capítulo 2 – Fatores que influenciam o consumo de alimentos. **FIESP (Federação das Indústrias do Estado de São Paulo e ITAL (Instituto de Tecnologia de Alimentos)**. Gráfica Ideal. São Paulo. p.176, 2010.

CARVALHO, A. F. TAL 422 - Processamento de leite de consumo. Aula 1. Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos (DTA) - **Universidade Federal de Viçosa**, 2007.

DA CUNHA, A. L.; DE OLIVEIRA, L.G; MAIA, L. F.; DE OLIVEIRA, L. F. C.; MICHELACCI, Y. M.; DE AGUIAR, J. A. K. Pharmaceutical grade chondroitin sulfate: Structural analysis and identification of contaminants in different commercial preparations. **Carbohydrate polymers**. v.134. p. 300-308, 2015.

DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L.; FENNEMA, O. R. **Química de Alimentos de Fennema**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2010.

DAVID, R.; ESPITALIEN, F.; CAMEIRÃO, A.; ROULEAU, L. Developments in the understanding and modeling of the agglomeration of suspended crystals in crystallization from solutions. **KONA**, v.21, p.40–53, 2003.

DEMIATE, I. M.; KONKEL, F. E.; PEDROSO, R. A. Enzymatic determination of starch in *doce de leite* using dialysis. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.21, n.3, p.339-342, 2001.

DUTCOSKY, S. D. **Análise sensorial de alimentos**. 4 ed. Curitiba: Champagnat, 531p. 2013.

EVANGELISTA, J. **Tecnologia de alimentos**, 2 ed. São Paulo: Atheneu, 250p. 1998.

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

FAO. **Food and Agriculture Organization of the United Nations**. Faostat, Country Profile, Brazil, 2015. Disponível em : <<http://faostat3.fao.org/>>. Acesso em: 24 de Fevereiro de 2016.

FERRAMONDO, A.; CHIRIFE, J.; PARADA, J. L.; VIDO, S. Chemical and microbiological studies on Dulce de Leche: a typical Argentine confectionery product. **Journal of Food Science**. v.49, p.821–823, 1984.

FERREIRA, C. L. L. F. Valor nutritivo e bioterapêutico de leites fermentados. In: LERAYER, A. L. S.; SALVA, T. J. G. **Leites fermentados e bebidas lácteas: tecnologia e mercado**. Campinas: ITAL, cap.1, p.1-7, 1997.

FERREIRA, V. L. P.; HOUGH, G.; YOTSUYANAGI, K. Cor de doce de leite pastoso; Colour of pasty milk. **Coletânea do Instituto de Tecnologia de Alimentos**, v.19, n.2, p.134-143, 1989.

FONTAN, G. C. R. **Influência do uso de espessantes nas características sensoriais e físico-químicas de bebida láctea com polpa de umbu**. Dissertação mestrado, Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Itapetinga, 2008.

FOX, P. F.; MCSWEENEY, P. L. H. **Dairy Chemistry and Biochemistry**, Blackie Academic & Professional, London, 1998.

FOX, P. F.; MCSWEENEY, P. L. H. **Advanced Dairy Chemistry**. Lactose, Water, Salts and Minor Constituents, Third Edition, Springer. v.3, p.793, 2009.

FLECHE, G. **Chemical modification and degradation of starch**. In: VAN BEYNUM, G. M. A.; ROELS, J. A. Starch conversion technology. New York: M. Dekker, cap.4, p.73-99, 1985.

GARITTA, L.; HOUGH, G.; SÂNCHEZ, R. Sensory shelf life of dulce de leche. **Journal of Dairy Science**. v.87, p.1601-1607, 2004.

GARCIA, F. E. V.; CARDONA, L. J. M.; HERRERA, N. R. Evaluación de los efectos en las propiedades físicoquímicas, sensoriales y texturales de polidextrose, fructosa y sorbitol como sustitutos de azúcar en La elaboración de arequipe. **Revista Lasallista de Investigación**. v.5, n.2, 2008.

GASPARIN, F. S. R.; TELES, J. M.; ARAÚJO, S. C. Alergia à proteína do leite de vaca versus intolerância à lactose: as diferenças e semelhanças. **Revista Saúde e Pesquisa**, Maringá, v.3, n.1, p.107-114, 2010.

GAZE, L. V.; COSTA, M. P.; MONTEIRO, M. L. G.; LAVORATO, J. A. A.; CONTE JÚNIOR, C. A.; RAICES, R. S. L.; CRUZ, A. G.; FREITAS, M. Q. Dulce de leche, a typical product of Latin America: Characterisation by physicochemical, optical and instrumental methods. **Food Chemistry**, n.169, p.471-477, 2014.

GEKAS, V.; LÓPEZ-LEIVA, M. Hydrolysis of lactose: a literature review. **Process Biochemistry**, New York, v.20, p.2-12, Feb. 1985.

GIMÉNEZ, A.; VARELA, P.; SALVADOR, A.; ARES, G.; FISZMAN, S.; GARITTA, L. Shelf life estimation of brown bread: a consumer approach. **Food Quality and Preference**, v.18, p.196–204, 2007.

GIMENEZ, A.; ARES, G.; GÁMBARO, A. Consumers' perception of sandiness in dulce de leche. **Journal of Sensory Studies**, v.23, p.171–185, 2008.

GIST-BROCADES, **Dairy Ingredients Group**. Maxilact: the dairy yeast lactase. In: Biotechnology contributing to food, health and the environment. The Netherlands: Gist-Brocades BSD B.V. p.12, 2004.

GOURSAUD, J. O leite de vaca: composição e propriedades físico-químicas. In: LUQUET, F. M. O leite: do úbere à fábrica de laticínios. Portugal: **Publicações Europa-America Ltda.** v.1, p.31-56, 1985.

GRIGOL, N. S.; NEGRI, A. P. Mercado internacional: Importações de lácteos aumentam 51% em 2015; exportações têm leve queda. **Boletim do leite**. Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada – CEPEA-ESALQ-USP, ano 22, n° 248, Janeiro 2016. Piracicaba-SP, 2016.

GROSOVÁ, Z.; ROSENBERG, M.; REBROŠ, M. Perspectives and applications of immobilised galactosidase in food industry: a review. **Czech Journal of Food Sciences**, v.26, n.1, p.1-14, 2008.

HATAKKA, H.; OINAS, P.; REUNANEN, J.; PALOSAARI, S. The effect of supersaturation on agglomeration. **Chemical Engineering Communications**, v.146, p.76–78, 1996.

HENTGES, D.; SILVA, D. T.; DIAS, P. A.; CONCEIÇÃO, R. C. S.; ZONTA, M. N.; TIMM, C. D. Pathogenic microorganism survival in *dulce de leche*. **Food Control**. v.21, p.1291-1293, 2010.

HOLSINGER, V. H. **Physical and chemical properties of lactose**. In Advanced Dairy Chemistry, 2 ed. Chapman & Hall, London, v.3, p.1-31, 1997.

HOUGH, G.; GARITTA, L. Methodology for sensory shelf-life estimation: a review. **Journal of Sensory Studies**, v.27, p.137-147, 2012.

HOUGH, G.; MARTINEZ, E.; CONTARINI, A. Sensory and objective measurement of sandiness in dulce de leche, a typical Argentine dairy product. **Journal of Dairy Science**, v.73, n.3, p.604–611, 1990.

HUNZIKER, O. F. **Condensed milk and milk powder**. Publ. by author, La Grange, IL, p.164-165, 1985.

INDI. **Dados estatísticos sobre a produção de doce de leite no estado de Minas Gerais**. Belo Horizonte, 2009. Disponível em: <<http://www.indi.mg.gov.br/>>. Acesso em: 24 de Fevereiro de 2016.

IBGE. **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**, 2015. Disponível em:<<http://www.ibge.gov.br/>>. Acesso em: 24 de Fevereiro de 2016.

KATZ, E. "Les confitures de lait : produits de terroir des moyennes montagnes d'Amérique Latine", L'Alimentation en montagne, G. Boëtsch, A. Hubert (ed.), **Gap, Editions des Hautes Alpes**, pp.211-220. 2007. Disponível em:<<http://www.slowfoodbrasil.com/textos/alimentacao-e-cultura/154-os-doces-de-leite-na-america-latina>>. Acesso em: 24 de Fevereiro de 2016.

KOCIÁN, J. Lactose intolerance – minireview. **International Journal Biochemistry**, v.20, n.1, p.1-5, 1988.

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

LAJOLO, F. M.; MENEZES, E. W. Carbohidratos em alimentos regionales Iberoamericanos. São Paulo: **USP**, 2006.

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

MACHADO, Luiza Maria Pierini. **Uso do soro de queijo e amido de milho modificado na qualidade do doce de leite pastoso**. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) – Programa de Pós-graduação em Tecnologia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2005.

MARTINEZ, E., HOUGH, G.; CONTARINI, A. Sandiness prevention in dulce de leche by seeding with lactose microcrystals. **Journal of Dairy Science**, n.73, p.612–616, 1990.

MARTINS, J. F. P.; LOPES, C. N. Doce de leite: aspectos da tecnologia de fabricação. **Instituto de Tecnologia de Alimentos**, Campinas, n.18, p.1-37, 1981.

MATTAR, R.; MAZO, D. F. C. Intolerância à Lactose: mudança de paradigmas com a biologia molecular. **Revista da Associação Médica Brasileira**, São Paulo, v.56, n.2, p.230-236, 2010.

MILAGRES, M. P.; DIAS, G.; MAGALHÃES, M. A.; SILVA, M. O.; RAMOS, A. M. Análise físico-química e sensorial de doce de leite produzido sem adição de sacarose. **Revista Ceres**, Viçosa, v.57, n.4, p.439-445, 2010.

MINISTÉRIO DO DESENVOLVIMENTO, INDÚSTRIA E COMÉRCIO EXTERIOR. Secretaria de Comércio Exterior - MDIC/SECEX. **Sistema de análise das informações de comércio exterior (ALICE)**. Brasília: MDIC/SECEX. Disponível em: <<https://alicesweb.mdci.gov.br>>. Acesso em: 24 de Fevereiro de 2016.

MOREIRA, K. M. M.; COELHO, L. H.; PERINI, C. C.; RAPACCI, M.; KARAM, L. B. Produção de doce de leite com teor reduzido de lactose por β -galactosidase. **Revista Acadêmica: Ciência Animal**. v.7, n.4, p.375-382, 2009.

MORIWAC, C.; MATIOLI, G. Influência da β -galactosidase na tecnologia do leite e na má digestão da lactose. **Arquivo de Ciências da Saúde Unipar**, Umuarama, v.4, n.3, p.283-290, 2000.

MORO, O.; HOUGH, G. Total solids and density measurements of dulce de leche, a typical Argentine dairy product. **Journal of Dairy Science**. v.68, p.521-525, 1985.

NATIONAL DAIRY COUNCIL. Lactose Intolerance Revisited. **Dairy Council Digest**, Rosemont, v.79, n.5, p.25-30, 2008.

NATIONAL DAIRY COUNCIL. Lactose Intolerance: new understandings. **Dairy Council Digest**, Rosemont, v.81, n.4, p.19-24, 2010.

NAVARRO, A. S.; FERRERO, C.; ZARITZKY, N. Rheological characterization of Dulce de Leche by dynamic and steady shear measurements. **Journal Texture Studies**. v.30, p.43–58, 1999.

NICKERSON, T. A.; MOORE, E. E. Solubility interactions of lactose and sucrose. **Journal of Food Science**. v.37, p.60–61, 1972.

NICKERSON, T., MOORE, E. Alpha lactose crystallisation rate. **Journal of Dairy Science**. v.57, p.160–164, 1974.

OLIVEIRA, E. N. A.; SANTOS, D. C.; OLIVEIRA, A. S.; SOUSA, F. C. Composição físico-química de leites em diferentes fases de lactação. **Revista Acadêmica: Ciência Animal**, Curitiba, v.8, n.4, p.409-415, 2010.

OLIVEIRA, M. N.; PENNA, A. L. B.; NEVAREZ, H. G. Production of evaporated milk, sweetened condensed milk and ‘Dulce de Leche’. In A. Y. Tamime (Ed.), **Dairy powders and concentrated products**. Oxford: Blackwell Publishing. p.149-180, 2009.

ORDÓÑEZ, J. A. **Tecnología de Alimentos**. São Paulo: Artmed. 279p., 2005.

PATHARE, P. B.; OPARA, U. L.; AL-SAID, F. A. Colour measurement and analysis in fresh and processed foods: A review. **Food Bioprocess Technology**. v.6, p.36–60, 2013.

PAULETTI, M.; CALVO, I. L.; COSTELL, E. Color y textura del dulce de leche. Selección de métodos instrumentales para el control de calidad industrial. **Revista española de ciencia y tecnología de alimentos**. n.32, v3, p.291-305, 1992.

PEREIRA, M. C. S.; BRUMANO, L. P.; KAMIYAMA, C. M.; PEREIRA, J. P. F.; RODARTE, M. P.; PINTO, M. A. O. Lácteos com baixo teor de lactose: uma necessidade para portadores de má digestão da lactose e um nicho de mercado. **Revista Instituto de Laticínio Cândido Tostes**, Juiz de Fora, n.389, v.67, p.57-65, 2012.

PERRONE, I. T. Tecnologia para a fabricação de doce de leite. **Revista Instituto de Laticínio Cândido Tostes**, v.62, n.354, p.43-49, 2007.

PERRONE, I. T.; STEPHANI, R.; NEVES, B. S. **Doce de leite: Aspectos Tecnológicos**. Juiz de Fora: Do autor. 2011.

PERRONE, I. T.; STEPHANI, R.; NEVES, B. S.; SÁ, J. F. O.; CARVALHO, A. F. Atributos tecnológicos de controle para produção do doce de leite. **Revista Instituto de Laticínio Cândido Tostes**, v.67, n.385, p.42-51, 2012.

PITHAN E SILVA, R. O. Mercado de lácteos em 2014 e perspectivas para 2015. **Instituto de Economia Agrícola**. Análises e Indicadores do Agronegócio v.10, n.3, março, 2015. Disponível em: <http://www.iea.sp.gov.br>. Acesso em: 24 de Fevereiro de 2016.

PROZYN. Prozyn Lactase. **Informação técnica**. São Paulo. 2004.

RANALLI, N.; ANDRÉS, S. C.; CALIFANO, A. N. Physicochemical and rheological characterization of “Dulce de Leche”. **Journal of Texture Studies**, v.43, p.115–123, 2012.

RANCIARO, A.; TISHKOFF, S. A. Population Genetics: Evolutionary History of Lactose Tolerance in África. In: NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH. **Lactose Intolerance and Health**. Kensington: National Institutes of Health, 2010b. p. 43-47. Disponível em: <http://consensus.nih.gov/2010/images/lactose/lactose_abstracts.pdf#page=83>. Acesso em: 29/03/2016.

ROCHA, A. M. Consumo de lácteos perde o fôlego no país. **Valor Econômico**. São Paulo, 8 de Dezembro de 2015.

RODRIGUEZ, V. A.; CRAVERO, B. F.; ALONSO, A. Proceso de elaboración de yogur deslactosado de leche de cabra. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.28, p.109-115, 2008. Disponível em: <[http:// dx.doi.org/10.1590/S0101-20612008000500018](http://dx.doi.org/10.1590/S0101-20612008000500018)> Acesso em: 29/03/2016.

SANDHU, K. S.; SING, H. N.; LIM, S. T. A comparison of native and acid thinned normal and waxy corn starches: Physicochemical, thermal, morphological and pasting properties. **Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie**, v.40, p.1527-1536, 2007.

SANTOS, D. **Operon**. 2011. Disponível em:<<https://djalmasantos.wordpress.com/2011/03/12/operon/>>. Acesso em: 29/03/2016.

SANTOS, D. M.; MARTINS, J. F. P.; SANTOS, N. C. Arenosidade e outros problemas do doce de leite. **Boletim do Instituto de Tecnologia de Alimentos**, Campinas, n.52, p.61-80, jul./ago, 1977.

SAVAIANO, D. A.; LEVITT, M. D. Milk Intolerance and Microbe-Containing Dairy Foods. **Journal of Dairy Science**. v.70, p.397-406, 1987.

SILVA, F. P.; FERREIRA, H. A. L.; SOUZA, A. B.; ALMEIDA, D. F.; STEPHANI, R.; PIROZI, M. R.; CARVALHO, A. F.; PERRONE, I. T. Production of dulce de leche: The effect of starch addition. **LWT-Food Science and Technology**, v.62, p.417-423, 2014.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A.; TANIWAKI, M. H.; SANTOS, R. F. S.; GOMES, R. A. R. **Manual de Métodos de Análises Microbiológicas de Alimentos**. São Paulo: Livraria Varela. 3ª ed. 536p. 2007.

SILVA, P. H. F. Leite – Aspectos de Composição e Propriedades. **Química Nova na Escola**. Leite. n.6, 1997.

SILVA, P. H. F.; VENUTO, P. R. M. Intolerância à Lactose. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, n.296, v.50, p.27-32, 1995.

SILVA, T. A. R.; GALLINA, M. M.; CARDOZO, G. M. B.; TRENTA, F. K. H. S.; VENDRAMEL, G. Desenvolvimento de doce de leite pastoso light com e sem hidrólise da lactose. **Tecnolab – Centro de Tecnologia de Laticínios**. ITAL – Instituto de Tecnologia de Alimentos. 2009.

SILVA T. J. P.; PINHEIRO, A. J. R.; COELHO, D. T.; PEREIRA, A. S.; CHAVES, J. B. P. Utilização da beta-Dgalactosidase no processo contínuo de fabricação de doce de leite homogeneizado. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v.39, n.232, p.19- 30, 1984.

SCRIMSHAW, N.; MURRAY, E. Lactose tolerance and milk consumption. **Archivos Latinoamericanos de Nutricion**. v.38, p.543-567, 1988.

SIQUEIRA, K. B. O mercado consumidor de lácteos no Brasil. **Revista Leite & Derivados: Sem açúcar, com afeto**. n.154, Maio/Junho, 2015.

SMID, B. J. Perspectivas do setor lácteo no mercado internacional. **Leite e Derivados: Balança, mas não cai**. Informa exhibitions. São Paulo. n.158, ano XXII, Novembro/Dezembro 2015.

SRINIVASAN, R.; MINOCHA, A. When to suspect lactose intolerance. Symptomatic, ethnic, and laboratory clues. **Postgraduate Medicine**, v.104, p.109-111, p.115-116, p.122-123, 1998.

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

TEIXEIRA, L. V. Análise sensorial na Indústria de Alimentos. **Revista do Instituto de Laticínio “Cândido Tostes”**, Juiz de Fora, n.366, v.64, p.12-21, 2009.

TÉO, C. R. P. A. Intolerância à lactose: uma breve revisão para o cuidado nutricional. **Arquivos de Ciências da Saúde Unipar**, v.6, n.3, p.135-140, 2002.

TREVISAN, Ana Paula. **Influência de diferentes concentrações de enzima lactase e temperaturas sobre a hidrólise da lactose em leite pasteurizado**. 2008. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia dos Alimentos) - Programa de pós-graduação em Ciência e Tecnologia dos alimentos, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 59p., 2008.

VELASCO, V.; QUEZADA, J.; PARRA, C.; CAMPOS, J.; VILLALOBOS, R.; WELLS, G. Effect of different l-carrageenan and sucrose concentrations on some physical and sensory characteristics of solid-caramel-milk. **Revista Chilena de Ciencias Agropecuarias**. v.26, p.25–35, 2010.

VINHAL, E. F. **Hidrólise da lactose no leite por β -galactosidase de *Kluyveromyces fragilis***. 2001. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Programa de Pós-graduação em Engenharia Química, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 100p., 2001.

VUORISALO, T. et al. High lactose tolerance in north europeans: a result of migration, not in situ milk consumption. **Perspectives in Biology and Medicine**, Baltimore, v.55, n.2, p.163-174, 2012.

WALSTRA, P.; JENNESS, R. **Dairy Chemistry and Physics**, Wiley, New York. 467p. 1984.

WALSTRA, P.; WOUTERS, J. T. M.; GUERTS, T.J. **Dairy Science and Technology**, 2 ed. CRC Taylor & Francis, New York. 762p. 2006.

WEBB, B.; A. JOHNSON.; J. ALFORD. **Ch. 6 in Fundamentals of dairy chemistry**. AVI Publ. Co., Westport, CT. 1980

WILT, T. J.; et al. Evidence-based practice center presentation i: methods of systematic review and the prevalence of lactose intolerance and differences by race, ethnicity, and age. In: NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH. **Lactose Intolerance And Health**. Kensington: National Institutes of Health. p. 59-64, 2010.

WOOTEN, W. J., Lactose Intolerance and Ethnic Prevalence. In: NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH. **Lactose Intolerance and Health**. Kensington: National Institutes of Health. p. 49- 52, 2010.

APÊNDICES

APÊNDICE 1 – Ficha análise sensorial de doce de leite

ANÁLISE SENSORIAL DE DOCE DE LEITE

1- Faixa etária do provador (anos)

15-20 21-30 31-40 41-50 51-60 acima de 60

2- Você consome doce de leite? Sim Não

3- Em caso afirmativo, qual a frequência de consumo?

Diariamente Semanalmente Quinzenalmente Outro: _____

4- Qual o seu principal critério para compra de doce de leite?

preço qualidade marca embalagem Outro: _____

Você receberá 03 amostras de doce de leite, indique para cada atributo (Doçura, Cor, Consistência, Sabor, Textura e Impressão global) o quanto você gostou ou desgostou do produto, de acordo com a Escala Hedônica. A seguir, avalie a intenção de compra do produto.

Escala hedônica	Atributos	Código da Amostra		
(9) Gostei extremamente (8) Gostei muito (7) Gostei moderadamente (6) Gostei ligeiramente (5) Nem gostei nem desgostei (4) Desgostei ligeiramente (3) Desgostei moderadamente (2) Desgostei muito (1) Desgostei extremamente	Doçura			
	Cor			
	Consistência			
	Sabor			
	Textura			
	Impressão global			
	Observações:			

Intenção de Compra: (5) Certamente compraria (4) Possivelmente compraria (3) Tenho dúvidas se compraria (2) Possivelmente não compraria (1) Certamente não compraria	Código da Amostra		