



**PRODUÇÃO DE XAROPE DE LACTULOSE A  
PARTIR DO SORO DE RICOTA E SEU  
EMPREGO EM IOGURTE E QUEIJO QUARK**

**THAÍS DE MELO RAMOS**

**2010**

**THAÍS DE MELO RAMOS**

**PRODUÇÃO DE XAROPE DE LACTULOSE A PARTIR DO SORO DE  
RICOTA E SEU EMPREGO EM IOGURTE E QUEIJO QUARK**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, área de concentração em Ciência dos Alimentos, para obtenção do título de “Mestre”.

Orientadora  
Prof<sup>a</sup>. Dra. Sandra Maria Pinto

LAVRAS  
MINAS GERAIS – BRASIL  
2010

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da  
Biblioteca Central da UFLA**

Ramos, Thaís de Melo.

Produção de xarope de lactulose a partir do soro de ricota e seu  
emprego em iogurte e queijo Quark / Thaís de Melo Ramos. –  
Lavras : UFLA, 2010.

99 p. : il.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Lavras, 2010.

Orientador: Sandra Maria Pinto.

Bibliografia.

1. Teste de aceitação. 2. Prebiótico. 3. Cromatografia. I.  
Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD – 637.3

**THAÍS DE MELO RAMOS**

**PRODUÇÃO DE XAROPE DE LACTULOSE A PARTIR DO SORO DE  
RICOTA E SEU EMPREGO EM IOGURTE E QUEIJO QUARK**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, área de concentração em Ciência dos Alimentos, para obtenção do título de “Mestre”.

APROVADA em 26 de fevereiro de 2010

Prof. Dr. Luiz Ronaldo de Abreu

UFLA

Prof. Dr. Leorges Moraes da Fonseca

UFMG

Dr. Fabiano Freire Costa

EMBRAPA

Profa. Dra. Sandra Maria Pinto  
UFLA  
(Orientadora)

LAVRAS  
MINAS GERAIS – BRASIL

Ao meu pai Donizetti (*in  
memoriam*), por estar comigo  
em todos os momentos.

## **OFEREÇO**

A minha mãe Eliana, aos meus  
irmãos Fernanda e Tales e ao  
Adriano por serem a razão de  
minha vida.

## **DEDICO**

## AGRADECIMENTOS

A Deus pelo dom da vida, da sabedoria, da perseverança e do amor: sem ele nada seria possível.

À Universidade Federal de Lavras (UFLA) e ao Departamento de Ciência dos Alimentos, pela oportunidade de realizar o mestrado, que me proporcionaram uma oportunidade de crescimento profissional.

Aos meus pais, Donizetti (*in memoriam*) e Eliana, por fazerem dos meus sonhos seus objetivos, pelo exemplo de vida, por todo o apoio e incentivo em todos os momentos de minha vida.

Aos meus irmãos, Fernanda e Tales, pelo carinho, apoio e compreensão.

Ao Adriano, pelo companheirismo, amor, compreensão, apoio e incentivo em todos os momentos decisivos e importantes para a realização deste trabalho.

À minha orientadora, Dra. Sandra Maria Pinto, pelo incentivo, pela confiança em mim depositada, pela amizade, paciência, atenção, apoio, e ensinamentos.

Ao professor Dr. Luiz Ronaldo de Abreu meu co-orientador, pelo exemplo como pessoa e profissional, ensinamentos paciência e apoio.

Ao professor Dr. Luis Carlos de Oliveira Lima, pelos ensinamentos, apoio e paciência na realização das análises cromatográficas.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa de estudos e à FAPEMIG pelo financiamento do projeto.

Aos funcionários do DCA: Tina, Creuza, Sr. Miguel, Lucilene e Cidinha pela disponibilidade em auxiliar.

A Cidinha e Whasley pela amizade e apoio nas análises cromatográficas.

Aos amigos Patrícia, Fausto e Gustavo obrigada pelo carinho e apoio em todos os momentos, os levarei em meu coração por onde for!

Ao Leonardo Mesquita pela ajuda nas análises estatísticas.

Aos colegas e amigos do Laboratório de Laticínios, Larissa, Rejiane, Danielle, Ranielly pela ajuda e disponibilidade.

Aos colegas do Programa de Pós Graduação em Ciência dos Alimentos pela convivência.

A todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho.

Muito Obrigada!

## SUMÁRIO

	<b>Página</b>
RESUMO.....	i
ABSTRACT.....	ii
CAPÍTULO 1: Viabilização da produção de xarope de lactulose a partir do soro de ricota e seu emprego em produtos lácteos simbióticos.....	1
1 Introdução Geral.....	2
2 Referencial Teórico.....	5
2.1 Soro de leite.....	5
2.1.1 Soro de leite como resíduo.....	5
2.1.2 Utilização do soro de leite.....	7
2.2 Soro de ricota.....	8
2.3 Características da lactose.....	9
2.4 Lactulose.....	11
2.4.1 Histórico.....	11
2.4.2 Obtenção e importância.....	12
2.4.3 Caracterização química.....	13
2.4.4 Lactulose e seu efeito prebiótico e bifidogênico.....	16
2.4.5 Lactulose em leites submetidos a tratamentos térmicos.....	17
2.4.6 Lactulose na indústria de alimentos.....	19
2.5 Alimentos funcionais.....	20
2.5.1 Probióticos.....	22
2.5.1.1 Conceito.....	22
2.5.1.2 Características dos probióticos.....	25
2.5.2 Prebióticos.....	27
2.5.3 Simbióticos.....	29

3 Referências Bibliográficas.....	31
CAPÍTULO 2: Caracterização química do soro de ricota e sua utilização para obtenção de xarope de lactulose.....	41
1 Resumo.....	42
2 Abstract.....	43
3 Introdução.....	44
4 Material e métodos.....	46
4.1 Soro de ricota.....	46
4.1.1 Obtenção do soro de ricota.....	46
4.2 Composição centesimal do soro de ricota.....	47
4.3 Análises físico-químicas do soro de ricota.....	48
4.4 Composição mineral do soro de ricota .....	49
4.5 Reação de isomerização da lactose.....	49
4.6 Análises do xarope de lactulose.....	53
4.7 Cromatografia em coluna.....	54
4.8 Cromatografia em camada delgada.....	55
4.9 Análise por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).....	55
4.10 Análise colorimétrica.....	56
5 Resultados e discussões.....	57
6 Conclusões.....	70
7 Referências bibliográficas.....	71
CAPÍTULO 3: Avaliação sensorial de iogurte e queijo quark adicionados de lactulose e fermentados por probióticos.....	75
1 Resumo.....	77
2 Abstract.....	78
3 Introdução.....	79
4 Material e métodos.....	81
4.1 Utilização da lactulose na elaboração de iogurte.....	81

4.1.2 Processo de fabricação do iogurte.....	81
4.2 Análise sensorial.....	83
4.2.1 Teste de aceitação do iogurte.....	83
4.3 Análise estatística dos resultados.....	84
4.3.1 Teste de médias.....	84
4.4 Utilização da lactulose na elaboração do queijo quark.....	85
4.4.2 Processo de fabricação do queijo quark.....	85
4.5 Análise sensorial.....	88
4.5.1 Teste de aceitação do queijo quark.....	88
4.6 Análise estatística dos resultados.....	89
4.6.1 Teste de médias.....	89
5 Resultados e discussões.....	90
6 Conclusões.....	97
7 Referências bibliográficas.....	98

## RESUMO

RAMOS, Thais de Melo. **Produção de xarope de lactulose a partir do soro de ricota e seu emprego em iogurte e queijo quark**. 2010. 99p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Lavras\*.

Um dos maiores problemas enfrentados pelo setor de laticínios em todo o mundo é o destino dado ao soro proveniente da fabricação de queijos. O soro de leite é um subproduto da indústria de laticínios que vem despertando o interesse de inúmeros pesquisadores em todo o mundo em virtude de sua potencialidade nutricional, funcional e econômica. Por ser um resíduo que apresenta alta matéria orgânica pode contaminar corpos receptores ao criar graves problemas ambientais. Este fato justifica todos os esforços envidados para evitar que o mesmo seja dispensado nos cursos d'água, como vem acontecendo desde o início da produção queijeira no Brasil. Novas aplicações para o soro são uma real necessidade para dos laticínios, pois assim podem trabalhar dentro das exigências dos órgãos de proteção ambiental. O soro pode ser destinado à produção de uma substância com propriedade funcional a lactulose, por meio de uma reação de isomerização em que a lactose é convertida em lactulose. Atualmente a lactulose tem sido amplamente empregada na indústria de alimentos, com destaque ao setor de laticínios. Possui alegação de apresentar propriedade prebiótica, podendo estimular o crescimento de microrganismos probióticos no intestino grosso, que pode promover reações desejáveis. Este trabalho foi realizado com o objetivo de produzir um xarope de lactulose com o do soro de ricota e empregar este xarope em produtos lácteos simbióticos como o iogurte e queijo quark. A purificação do xarope de lactulose foi realizada em colunas cromatográficas de troca iônica e exclusão molecular, a purificação ocorreu para a remoção do ácido bórico (catalisador). Após a purificação do xarope de lactulose em colunas cromatográficas foi utilizada cromatografia em camada delgada (CCD) que apresentou eficiência na detecção de lactulose. Para confirmar sua síntese no xarope foi realizada a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), na qual pode-se confirmar a reação de isomerização da lactose em lactulose. Avaliou-se a porcentagem de lactulose sobre a qualidade sensorial de iogurte e queijo quark, ambos acrescentados de culturas probióticas. Os resultados indicaram que, após a purificação do xarope de lactulose em coluna de troca iônica e de exclusão molecular, foi identificada presença de lactulose ou frações de composição similares por cromatografia em camada delgada. A síntese de lactulose foi confirmada mediante a cromatografia líquida de alta eficiência e o rendimento obtido foi de aproximadamente 58%. Pela ANOVA e teste de médias, observou-se uma grande aceitabilidade do iogurte e queijo quark adicionados de lactulose. Para o iogurte, apenas para o

atributo aparência houve diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ) entre as amostras, o queijo quark não apresentou diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ) entre as amostras.

**Palavras-chave:** soro de ricota, lactulose, cromatografia.

---

Comitê Orientador: Dra. Sandra Maria Pinto – UFLA – MG (Orientadora); Dr. Luiz Ronaldo de Abreu – UFLA.

## ABSTRACT

RAMOS, Thaís de Melo. **Production of lactulose syrup from ricotta whey and its use in yogurt and Quark cheese.** 2010. 99p. Dissertation (Master's in Food Science) – Federal University of Lavras, Lavras.

One of the biggest problems faced by the dairy product sector throughout the world is the destination given to the whey originating from cheese production. The milk serum is a by-product of the dairy product industry that is awakening the interest of countless researchers all over the world due to its nutritional, functional and economic potential. For being a residue that presents high organic matter it can contaminate receiving bodies, generating serious environmental problems. This fact justifies all of the efforts undertaken to avoid it is released in water courses, as has been happening since the beginning of cheese production in Brazil. New applications for the whey are a real necessity for the dairy industry, since they can work within the demands of the environmental protection agencies. The whey can be destined for the production of a substance with functional properties; lactulose; through an isomerization reaction where the lactose is converted into lactulose. Currently, lactulose has been widely used in the food industry, with prominence in the dairy products sector. It is claimed that lactulose presents prebiotic properties, being able to stimulate the growth of probiotic microorganisms in the large intestine, which can promote desirable reactions. This work was conducted with the objective of producing a lactulose syrup starting from ricotta whey and to use this syrup in symbiotic milk products such as yogurt and quark (curd) cheese. The purification of the lactulose syrup was carried out in ion exchange and molecular exclusion chromatographic columns, this purification occurred for the removal of the boric acid (catalyst). After the purification of the lactulose syrup in the chromatographic columns, thin layer chromatography (TLC) was used, which was efficient for the lactulose detection. To confirm the lactulose synthesis in the syrup, high performance liquid chromatography (HPLC) was conducted where the lactose isomerization reaction can be confirmed in lactulose. The effect of the lactulose percentage on the sensorial quality of yogurt and quark cheese was evaluated, both added with probiotic cultures. The results indicated that, after the purification of the lactulose syrup in ion exchange and molecular exclusion columns, lactulose presence or similar compound fractions were identified by thin layer chromatography. The lactulose synthesis was confirmed through high performance liquid chromatography, the yield obtained was approximately 58%. By ANOVA and test of averages, a high acceptability of the yogurt and quark cheese with added lactulose was observed. For the yogurt, just for the attribute, appearance, there was significant difference

( $p \leq 0,05$ ) among the samples. The quark cheese did not present significant difference ( $p \leq 0,05$ ) among the samples.

**Keywords:** ricotta whey, lactulose, chromatography.

---

Guidance Committee: Dra. Sandra Maria Pinto – UFLA – MG (Adviser); Dr. Luiz Ronaldo de Abreu – UFLA.

## **CAPÍTULO 1**

### **PRODUÇÃO DE XAROPE DE LACTULOSE A PARTIR DO SORO DE RICOTA E SEU EMPREGO EM IOGURTE E QUEIJO QUARK**

## 1 INTRODUÇÃO GERAL

O soro é um subproduto da indústria laticínista, obtido pela coagulação do leite e redução do pH. Pode ser caracterizado como um líquido amarelo-esverdeado de sabor ácido ou doce, dependendo do tipo de coagulação a que o leite foi submetido. O soro de leite é constituído basicamente de água (93%) e somente 7% de matéria seca, da qual 71% são lactose, 10% proteína bruta (PB), 12% são gordura e 11% são minerais. O valor energético do soro é estimado em 80% de nutrientes digestíveis totais (NDT), na matéria seca (Lizeire & Campos, 2001).

Embora o soro contenha um alto valor nutricional, ele se torna um dos maiores problemas das indústrias de laticínios, em todo o mundo. Por ser um resíduo com alta concentração de matéria orgânica, está sujeito à rápida alteração pelos microrganismos, possuindo conseqüentemente, uma alta “Demanda Biológica de Oxigênio” (DBO5).

No Brasil, ao contrário de outros países, o soro de queijo ainda é considerado um produto de pouca importância sob o ponto de vista nutritivo. Os desperdícios causados, aliados ao valor nutritivo do soro, direcionam a atenção do meio científico ao seu estudo, para a criação de alternativas economicamente viáveis para o aproveitamento de seus componentes, que apresentam alto valor nutricional e comercial. Logo, é interessante o estudo de alternativas que venham aproveitar o soro utilizando processos que minimizem os danos a seus componentes, como processos de evaporação a vácuo (baixa pressão) e liofilização.

Alternativas para a industrialização do soro consistem na produção de ricota, bebidas lácteas, soro em pó, concentrado proteico e lactose. Em uma quantidade razoável de casos, o soro proveniente da elaboração de queijos é

utilizado para a fabricação da ricota, o que extrai a maioria das suas proteínas; entretanto deve-se ter em mente que a lactose (sólido mais abundante no soro) permanece após a remoção dessas proteínas, remanescendo, em consequência, a maior parte do poder poluente do soro. Novas escolhas para o aproveitamento do soro são uma real necessidade dos laticínios, pois, dessa forma podem trabalhar dentro das exigências dos órgãos de proteção ambiental. O soro também pode ser destinado à produção de substâncias funcionais, com destaque para a lactulose.

Desde que a produção da lactose purificada do soro foi estabelecida, muitos esforços se concentram na tentativa de agregar valor e desenvolver outros produtos derivados deste componente. Isto pode ser feito considerando-se a reação de isomerização da lactose em lactulose (Saron, 2003).

Se destinar parte do soro de leite, resultante da produção de queijos, para produção de lactulose, obter-se-á uma substância com propriedade funcional para ser empregado na indústria de alimentos em geral e a de laticínios em particular. Além de minimizar os impactos ambientais causados pelo descarte de soro.

O processo de obtenção da lactulose em sua forma pura, embora já esteja bem padronizado, é um tanto quanto complexo. Uma forma de “xarope” rica em lactulose, no entanto, pode ser conseguida de forma relativamente simples e mais facilmente encontrada e comercializada.

A fórmula molecular da lactulose é similar à da lactose (galactose e glicose). A diferença é que o resíduo da glicose é isomerizado à frutose na molécula de lactulose a qual pode ser usada em uma ampla variedade de produtos alimentícios, na indústria farmacêutica e em tratamentos de encefalopatia e constipação crônica (Mizota, 1996; Strohmaier, 1998).

Ultimamente o emprego de lactulose vem aumentando consideravelmente. Isso se deve, principalmente, pela crescente demanda por

produtos com propriedades funcionais específicas, dentre eles os simbióticos, que são aqueles contendo microrganismos probióticos associados a uma ou mais substância prebiótica. A lactulose pode estimular o crescimento de bactérias probióticas no intestino grosso, o qual promove uma série de reações desejáveis.

A fim de criar alternativas para minimizar as perdas e o desperdício de soro e reduzir o impacto ambiental causado pelo seu mau aproveitamento, o objetivo deste trabalho foi disponibilizar a tecnologia de obtenção do xarope de lactulose (prebiótico) com o do soro de ricota e sua utilização em produtos lácteos simbióticos.

Os objetivos específicos foram:

- Viabilizar a produção de lactulose com o do soro de ricota.
- Estudar a viabilidade tecnológica de sua utilização em alguns produtos lácteos.
- Conhecer o grau de aceitação dos produtos elaborados com lactulose.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 Soro de leite

#### 2.1.1 Soro de leite como resíduo

O soro de leite é um subproduto da indústria de laticínios que vem despertando o interesse de inúmeros pesquisadores em todo o mundo, em função de sua potencialidade nutricional, funcional e econômica. Pode e ser definido como o líquido que permanece após a coagulação ácida ou enzimática da caseína, processo que ocorre durante a fabricação do queijo (Eigel et al., 1984; Sgarbieri, 1996; Mcintosh et al., 1994; Antunes, 2004).

O soro é rico em proteínas de elevado valor biológico, lactose e sais minerais (Hosseini et al., 2003). A composição média do soro de leite é 93,0% de água e 7,0% de sólidos totais; 4,9% de lactose, 0,9% de compostos nitrogenados (0,5% de compostos proteicos coaguláveis pelo calor e 0,4% compostos nitrogenados não coaguláveis pelo calor), 0,6% de cinzas, 0,3% de gordura e 0,2% de ácido láctico (Weeb & Whittier, 1970).

Em sua composição possui pouca quantidade de gordura, composta por ácidos graxos de baixo ponto de fusão (em torno de 29°C); proteínas hidrossolúveis, dentre elas a  $\alpha$ -lactoalbumina e a  $\beta$ -lactoglobulina, lactose; minerais e vitaminas hidrossolúveis (Behmer, 1986; Sgarbieri, 1996).

Apesar das várias possibilidades de utilização do soro de leite, somente uma parte do soro produzido é utilizado, e o restante é descartado como efluente, por causa do alto custo e da dificuldade de processá-lo.

O soro pode representar um importante problema ambiental, com uma elevada demanda bioquímica de oxigênio (30.000 a 50.000 mg/L), caso seja destinado diretamente em rios ou esgotos públicos, o que atualmente não é permitido. A alta percentagem de água presente no soro inviabiliza economicamente, sua desidratação. O fato de ser precívél agrava o problema,

impossibilitando seu armazenamento prolongado. (Almeida et al., 2001; Hosseini et al., 2003).

Para cada quilograma de queijo produzido são obtidos 9 kg de soro, que produz um grande volume de resíduo industrial. A aplicação desse subproduto em outro processo possibilita uma nova fonte de renda além de eliminar parte dos efeitos poluentes desse efluente (Costa, 1995).

No Brasil, ao contrário de outros países, o soro ainda é considerado um produto de má qualidade e de pouca importância sob o ponto de vista nutritivo. Nos Estados Unidos, grande parte dos resíduos de queijarias é aproveitada e 90% são destinados à alimentação humana, o que, em 2001 representou mais de 500.000 toneladas. O Brasil entre 1998 a 2001 importou mais de 140.000 toneladas de soro em pó, em virtude da falta de capacidade interna de produção (Almeida et al., 2001; Unites States Dairy Export Council - USDEC, 2009).

Em média, cada tonelada de soro não tratado despejado por dia no sistema de tratamento de esgoto, equivale à poluição diária de 470 pessoas (Andrade & Martins, 2002). Grandes volumes, ainda, podem ser direcionados para sistemas de tratamento de efluentes com baixa eficiência, contaminando drasticamente corpos receptores (Antunes, 2003).

A produção mundial de soro de leite é de, aproximadamente, 120 milhões de toneladas anuais, que produz em torno de 720.000 toneladas de proteínas. No Brasil, a produção é de, aproximadamente, três milhões de toneladas de soro e de 240.000 toneladas de proteínas, que tem justificado o interesse crescente na utilização comercial deste produto (Giraldo-Zuñiga et al., 2004).

### **2.1.2 Utilização do soro de leite**

O soro de leite, atualmente, é utilizado em grande quantidade de produtos alimentícios, como chocolates, bombons, recheios, coberturas e sorvetes. A grande vantagem de seu emprego é a flexibilidade que oferece em relação a seus componentes, concentração de proteínas, minerais, lactose e gorduras, que podem ser alterados em função da necessidade do produto no qual ele será adicionado (Dallas, 1999).

O soro pode ser industrializado para produção de ricota, bebidas lácteas, soro em pó, concentrado proteico e lactose. Logo, é interessante o estudo de novas alternativas utilizando processos que minimizem os danos a seus componentes como processos de evaporação a vácuo (baixa pressão). O desperdício deste subproduto aliado ao valor nutritivo do soro leva a direcionar a atenção do meio científico ao seu estudo, para a criação de alternativas economicamente viáveis (Serpa, 2005). A evaporação a baixa pressão reduz os custos operacionais de processo, além de diminuir as perdas físico-químicas por ação da temperatura.

Aproximadamente 50% do soro, mundialmente produzido, encontram-se industrializados, sob a forma de bebidas fermentadas, sucos, aditivos para panificação e utilizados *in natura* para alimentação animal. Uma parcela é desidratada e comercializada como fonte energética e nutritiva, sob a forma de pó, pois, o mesmo retém, aproximadamente, 75% dos nutrientes do leite, além de ser responsável por uma parcela que varia entre 80 a 90% de sua composição; sendo 2,9% de caseínas e 0,6% de proteínas do soro (Sgarbieri, 1996).

A composição média do soro de leite é apresentada na Tabela 1.

TABELA 1 Composição dos soros de leite obtidos por ação enzimática e por acidificação do leite

Parâmetro	Soro doce	Soro ácido
pH	6,3	4,6
Proteínas (%)	0,82	0,75
Lipídios (%)	0,07	0,03
Lactose (%)	4,77	4,71
Ácido láctico (%)	0,15	0,55
Cinzas (%)	0,53	0,69

Fonte: Morr e Ha (1993), adaptado

## 2.2 Ricota e obtenção do soro

O nome ricota é derivado da palavra latina “recocta”, que significa re-cozido, ou cozido duas vezes (Kosikowski & Mistry, 1999). A ricota é um queijo suave, não maturado, que foi tradicionalmente produzido na Itália com o leite de ovelha. Na atualidade, atingiu maior popularidade e é elaborada de soro ou de uma mistura de soro e leite bovino pasteurizado integral ou desnatado. O princípio de fabricação da ricota é baseado na precipitação das proteínas do soro (albumina e lactoglobulina) por meio de calor associado à acidificação (Farkye, 2004; Alarcón, 2007; Madalozzo et al., 2008).

De acordo com o Regulamento de Inspeção Industrial e sanitária de Produtos de Origem Animal, a ricota fresca é o produto obtido da albumina de soro de leites, adicionado de leite até 20% do seu volume, tratado convenientemente (Brasil, 1952).

A ricota, também, é conhecida por queijo de albumina, por se constituir basicamente desta e de lactoglobulina, que são os principais componentes proteicos do soro, não coaguláveis pelo coalho. As proteínas do soro são facilmente desnaturadas e precipitadas pelo calor, sob a influência de acidificação, que constitui o princípio básico da fabricação da ricota.

O princípio de fabricação da ricota é baseado na precipitação das proteínas do soro, por meio de calor associado à acidificação, adicionado ou não de 10% de leite integral, após seu aquecimento a aproximadamente 92°C (Ribeiro et al., 2005).

### **2.3 Características da lactose**

A lactose é o único glicídio livre que existe em quantidades importantes em todos os leites; é também o componente mais abundante, o mais simples e o mais constante. Encontra-se em proporções compreendidas entre 45 e 50 g/litro de leite (Ordóñez, 2005).

O dissacarídeo lactose é o carboidrato predominante do leite, no qual existem, também, concentrações muito baixas de outros monossacarídeos, incluindo glicose e galactose, oligossacarídeos neutros e ácidos e carboidratos ligados a peptídeos e proteínas (Robinson, 1981).

De acordo com Fennema (1996), a concentração de lactose no leite varia, conforme a origem, entre 2,0% a 8,5%. O leite de vaca contém maior quantidade de lactose do que qualquer outro componente sólido (Walstra & Jenness, 1984).

Do ponto de vista físico-químico, a lactose é composta por D-glicose e D-galactose, estando o grupo aldeído da galactose unido ao grupo C-4 da glicose mediante uma ligação  $\beta$ -1-4-glicosídica (Walstra et al., 2001). Por possuir um grupo aldeído livre, a lactose é um açúcar redutor e pode reagir com substâncias nitrogenadas, desencadeando as reações de Maillard. Forma de compostos coloridos (melanoidinas), de odores anômalos e à redução do valor nutritivo do leite (Ordóñez, 2005).

Desde que a produção comercial da lactose purificada do soro foi estabelecida, muitos esforços se concentraram na tentativa de desenvolver outros produtos derivados da lactose. Com a lactose, pode-se derivar

galactooligosacarídeos (transgalactosilação enzimática); lactulose (isomerização); ácido lactobiônico (oxidação); lactitol (hidrogenação); galactose e glicose (hidrólise enzimática) (Yang & Silva, 1995).

A lactose pode ser convertida em lactulose por uma reação de isomerização catalisada por borato de sódio em meio alcalino, promovendo uma reação com alto rendimento e baixo custo. O rendimento da reação de isomerização de lactose em lactulose, utilizando ácido bórico e NaOH, pode chegar a 80% (Hicks et al., 1984), mas na síntese enzimática da lactulose usando a enzima  $\beta$ -galactosidase, o rendimento é inferior a 10% (O'Sullivan, 1996).

Segundo Brandão (1994), a lactose pode ser utilizada como matéria-prima para diversos produtos, incluindo:

- a) Lactosil urea, que é preparada pela condensação da lactose e ureia. Ela pode ser utilizada como alimento a ruminantes para a síntese de proteínas.
- b) Lactitol, que é um adoçante não nutritivo, semelhante ao sorbitol.
- c) Lactulose, que é um isômero da lactose obtido pelo tratamento da lactose em meio alcalino. A lactulose promove o crescimento de *Bifidubacterium bifidus* na flora intestinal, e é também recomendado no combate à constipação infantil.

A lactulose, o lactitol e o ácido lactobiônico são os compostos que podem ser sintetizados pela lactose e que, ao contrário da lactose, não são absorvidos no intestino delgado. Assim, todos estes compostos têm o potencial de funcionar como prebióticos, que promovem o crescimento benéfico de microrganismos desejáveis no cólon (Kontula, 1999).

## **2.4 Lactulose**

### **2.4.1 Histórico**

A lactulose foi sintetizada como um novo açúcar em 1930 por Montgomery & Hudson. Entretanto, apenas em 1957 o seu efeito como promotor de crescimento de bifidobactéria foi observado por Petuely (Tamura et al., 1993).

Na última década, um inédito grupo de carboidratos foi introduzido na alimentação, por causa de suas características dietéticas. A lactulose está incluída neste grupo de “oligossacarídeos não-digeríveis” ou NDO’s, os quais obedecem a uma classificação fisiológica juntamente com outros dois grupos, o dos polissacarídeos “não-amidos” e os chamados “amido-resistentes”, por não serem digeridos no intestino delgado humano. Estes NDO’s têm se mostrado como inibidores do desenvolvimento de patógenos no intestino, pela ligação das bactérias patogênicas à superfície da mucosa (Voragen, 1998).

A importância industrial da lactulose foi relatada primeiramente por Adachi & Paton (1961), ao que indicarem seu uso na formulação de produtos para crianças. Em virtude do efeito bifídico produzido no trato intestinal, e na substituição da lactose e sacarose no leite em pó, é bastante solúvel e pode melhorar as características do produto.

A produção mundial estimada em 1995 foi de 20 mil toneladas, foi considerada um produto que alcança alto preço em alguns países, principalmente no Japão e EUA (Playne & Crittenden, 1996).

O xarope de lactulose é utilizado na indústria farmacêutica em que é utilizado como laxante no tratamento de constipação crônica e no tratamento da encefalopatia, uma condição na qual o cérebro é afetado por substâncias nitrogenadas produzidas no cólon já que inibe o crescimento de microrganismos produtores de amônia no intestino (Tamura et al., 1993).

A lactulose vem sendo utilizada como um auxiliar no tratamento de constipação crônica, seus efeitos são manifestados por meio da ativação de movimentos peristálticos intestinais, acidificação intestinal e reação osmótica. Com a acidificação do conteúdo intestinal, ocorre aumento da pressão osmótica, que ocasiona refluxo de líquidos para o interior do cólon, responsável pelo amolecimento do bolo fecal e aceleração do trânsito intestinal (Mizota, 1996).

No tratamento de encefalopatia hepática a lactulose tem alcançado alta popularidade, diminuindo a concentração de amônia no sangue e prevenindo o seu desenvolvimento (Scholz-Ahrens et al., 2001). A degradação da lactulose produz acidificação do meio intestinal e queda do pH, responsáveis pelo desencadeamento de mecanismos que explicam a sua ação benéfica na constipação intestinal e na encefalopatia porto-sistêmica (Saron, 2003).

#### **2.4.2 Obtenção e importância**

A 4-*O*-β-D-galactopiranosil-D-frutose ou lactulose (C<sub>12</sub>H<sub>22</sub>O<sub>11</sub>) é um dissacarídeo constituído de galactose e frutose. A lactulose (galactose-frutose) é um dissacarídeo sintético, que não ocorre naturalmente; é sintetizada mediante a lactose (galactose-glicose) pela isomerização da glicose à frutose. (Zokae et al., 2002).

A tecnologia de produção da lactulose (4-*O*-β-D-galactopiranosil-D-frutose) é baseada, principalmente, na reação de isomerização da lactose em meio alcalino, usando catalisadores como o ácido bórico, alcançando rendimentos elevados, de 70-80% (Hicks et al., 1984). Este processo de isomerização alcalina é catalisado por grupos amino livres das caseínas e dependentes da temperatura, tempo de exposição e pH do meio (De Block et al., 1996). Entretanto, a dificuldade principal no processo de produção são a separação e a purificação da lactulose (Dendene et al., 1994).

Zorakee et al. (2002) relataram que o rendimento de produção de lactulose por ação do hidróxido de cálcio é muito baixo, além de diversos compostos intermediários formados. Esta técnica foi uma das pioneiras na obtenção que, após os resultados alcançados passaram a usar hidróxido de sódio, hidróxido de potássio, carbonato de sódio, óxido de magnésio e reagentes alcalinos orgânicos como as aminas terciárias. Posteriormente, usaram outros grupos de reagentes, como aluminatos e boratos, conseguindo maior rendimento industrial, porém a dificuldade estava na separação dos compostos boratos e aluminatos no final do processo. Esta técnica permite aumentar o rendimento na produção da lactulose comercial.

A lactulose é um pouco mais doce e mais solúvel que a lactose; considera-se que estimula o crescimento de microrganismos probióticos, benéficos para dietas infantis (Ordóñez, 2005).

Nas indústrias de alimentos, particularmente no setor de laticínios as aplicações da lactulose têm sido estudadas pelo seu potencial como alternativa para o aproveitamento de soro, oriundo de fabricações de queijos, na avaliação de tratamentos térmicos severos em leite e derivados lácteos e na formulação de produtos com propriedades funcionais, dentre eles os simbióticos, que são aqueles contendo microrganismos probióticos associados a uma ou mais substâncias prebióticas.

#### **2.4.3 Caracterização química**

A lactulose é um dissacarídeo sintético, composto de galactose e frutose, observada em leites e produtos do leite que sofrem tratamento térmico, como um produto secundário (Mizota, 1996). Pode ser caracterizada como um açúcar cristalino na forma alfa e higroscópico. Reduz a solução de Fehling sob aquecimento, não é oxidada por ação do hipiodito e produz por hidrólise com ácido sulfúrico a 1% (100°C/8h), frutose e galactose (Adachi & Paton, 1961). A

hidrólise da lactulose pode, também, ser feita por ação da enzima  $\beta$ -galactosidase a 32°C. Nestas mesmas condições, tem-se 40% de quantidade hidrolisada em relação à lactose (Andrews, 1986).

Mcintosh et al. (1996), ressaltam que a lactulose é um açúcar redutor, com características de um pó cristalino branco, sabor levemente adocicado e uma solubilidade em água de 76,4% a 30°C e tem, aproximadamente, a metade do poder adoçante da sacarose (Modler et al., 1990). A Figura 1 representa a molécula de lactulose.

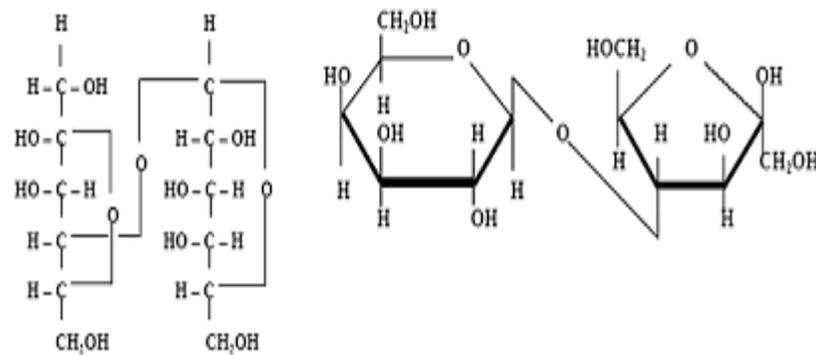


Figura 1 Representação esquemática da molécula de lactulose

A lactulose (4-o- $\beta$ -D-galactopiranosil-D-frutose) pode sofrer transgalactosilação formando trissacarídeos diferentes daqueles obtidos da lactose. A lactulose possui um poder dulçor que se assemelha ao da sacarose (Martins & Burkert, 2009).

Martínez-Villaluenga et al. (2008) obtiveram galactoolissacarídeos (GOS) considerando-se a transgalactosilação da lactulose, e as estruturas dos trissacarídeos principais são mostradas nas Figuras 2 e 3.

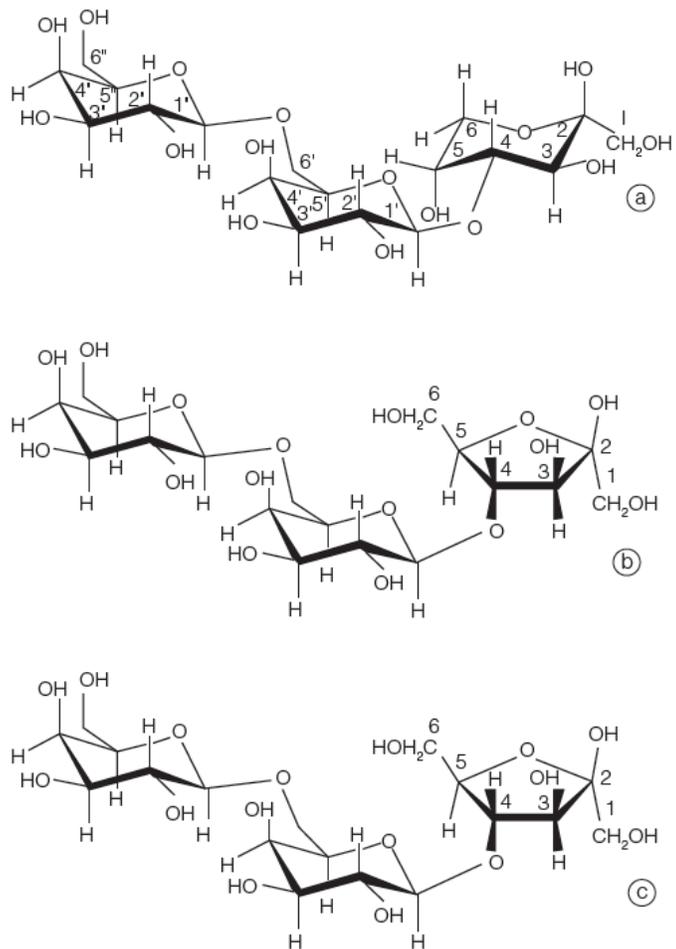


FIGURA 2 Estruturas de trissacarídeos obtidos da lactulose (Martínez-Villaluenga et al., 2008).

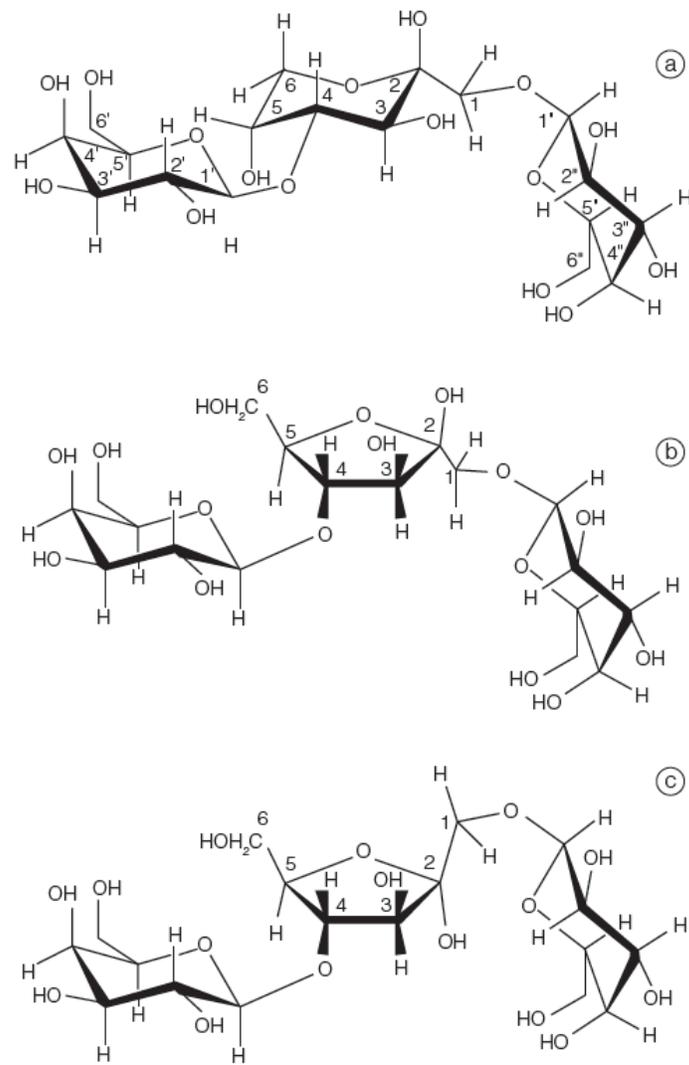


FIGURA 3 Trissacarídeos com ligações tipo  $\beta$ -1,1 obtidos da lactulose (Martínez-Villaluenga et al., 2008).

#### 2.4.4 Lactulose e seu efeito prebiótico e bifidogênico

Como a lactulose é considerada um “carboidrato não-digerível” (NDO), conseqüentemente, é classificada como prebiótico, portanto, não pode ser

hidrolisada nem absorvida na parte superior do trato intestinal. É requerida por afetar, benéficamente, o hospedeiro por sua capacidade seletiva, estimulando o crescimento e/ou a atividade de um número limitado de espécies bacterianas resistentes no cólon, seja reprimindo a colonização, crescimento ou virulência de patógenos (Voragen, 1998).

A lactulose pode ser útil como prebiótico, por não ser absorvida no intestino delgado e ser capaz de alcançar o cólon, no qual estimula o crescimento de bactérias probióticas, tais como *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* (Saron, 2003). A utilização de prebióticos, como a lactulose e os frutooligossacarídeos têm ação sinérgica, pois, estimula o crescimento das bactérias benéficas. (Schumann, 2002).

Este dissacarídeo não pode ser metabolizado por seres humanos ou por animais, em função da falta de uma enzima intestinal capaz de quebrar a ligação da galactose-frutose. É metabolizada no cólon preferivelmente por bifidobactérias e pelos lactobacilos (Schumann, 2002), que promovem efeitos desejáveis para a saúde humana como o equilíbrio da flora microbiana, reduzindo a amônia e reduzindo o risco da carcinogênese (Scholz-Ahrens et al., 2001).

A degradação da lactulose produz acidificação do meio intestinal e queda do pH, responsáveis pelo desencadeamento de mecanismos que explicam a sua ação benéfica na constipação intestinal e na encefalopatia porto-sistêmica (Saron, 2003).

#### **2.4.5 Lactulose em leites submetidos a tratamentos térmicos**

Recentemente muito dos esforços devotados ao desenvolvimento dos métodos para a determinação quantitativa da lactulose, foram dirigidos para aplicações na área de laticínios. Certamente a lactulose que é formada, durante o tratamento térmico do leite, foi proposta pela International Dairy Federation

(IDF) e pela Comissão Europeia (EC) como o índice analítico para distinguir o leite (UHT) ultra alta temperatura, do leite esterilizado. Existem diversos métodos analíticos para a detecção da lactulose baseada, principalmente na cromatografia gasosa. O método oficial do IDF é baseado na cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), também métodos espectrofotométricos e enzimáticos (Amine et al., 2000).

Quando se aquece o leite, forma-se um isômero da lactose, a lactulose, ausente no leite cru. A ocorrência da lactulose se dá de forma não natural. Segundo Modler et al. (1990), o leite cru não contém lactulose e ela está presente em pequena quantidade nos produtos lácteos que sofreram algum tratamento térmico, caso dos leites condensado e evaporado, além de produtos UHT e leite em pó.

A lactulose no leite somente pode ser detectada quando o mesmo é submetido à temperatura maior que 110 °C, a mesma não se forma em leite aquecido abaixo de 90 °C, ao contrário da reação de Maillard, que pode ser iniciada mesmo a baixas temperaturas. O pré-aquecimento sofrido pelo leite UHT é responsável por grande parte da lactulose formada, pois, trata-se de aquecimento entre 80 °C e 100 °C por vários segundos. Quanto ao tempo de estocagem do leite UHT, que varia normalmente entre 90 e 180 dias, promove intensidade da reação de Maillard à medida que se tem maior temperatura de estocagem, mesmo se o produto estiver mantido sob refrigeração (4 °C), porém, quanto à isomerização, o mesmo não se pode afirmar, uma vez que a lactulose só tem seu teor aumentado acima de 35 °C na estocagem (Birlouez-Aragon et al., 2002).

Segundo Walstra & Jennes (1984), existem algumas modificações causadas no leite, quando este é submetido a tratamentos térmicos, uma delas é a isomerização da lactose, que sofre degradação parcial, formando lactulose e ácidos orgânicos.

Comprovou-se que a concentração de lactulose aumenta de forma diretamente proporcional à intensidade do tratamento aplicado. Em virtude de numerosos estudos em colaboração entre diversos países, decidiu-se que a quantificação da lactulose por HPLC (cromatografia líquida de alta eficiência) seja utilizada como método oficial para diferenciar o leite UHT do esterilizado. A Federação Internacional de Laticínios propôs que o leite comercial com menos de 600 mg/L de lactulose seja considerado UHT e, quando o valor for maior, considera-se o leite como esterilizado hidrosticamente (Ordóñez, 2005).

#### **2.4.6 Lactulose na indústria de alimentos**

Na indústria de alimentos, a lactulose pode ser adicionada em vários tipos de produtos alimentícios. Suas propriedades nutritivas não são facilmente afetadas pelas condições de processamento dos alimentos (Strohmaier, 1997; Mcintosh et al., 1996.). O Quadro 1 mostra exemplos de alimentos em que a lactulose pode ser adicionada

#### **QUADRO 1 Lactulose como ingrediente alimentar**

---

Substituto de açúcar

Formulação de alimentos infantis

Confeitaria

Bebida suave

Produtos derivados do leite (iogurte e outros leites fermentados)

Adoçante para diabéticos

Alimento para pessoas idosas

---

Fonte: Strohmaier (1997).

Atualmente, a lactulose tem sido amplamente empregada, principalmente, em países europeus e no Japão, como aditivo alimentar para leites fermentados, pós-instantâneos, leite em pó e sorvetes (Voragen, 1998).

A lactulose é aplicada às fórmulas infantis comerciais e a vários produtos de leite, porque promove, especificamente, a proliferação intestinal de bactérias bífidas, que cria meio ácido inibindo, assim, o crescimento das bactérias indesejáveis (Kunz & Rodlof, 2006). No futuro, a lactulose, conseqüentemente será adicionada cada vez mais a alimentos como um suplemento nutritivo pelo motivo de suas ações preventivas.

## **2.5 Alimentos funcionais**

Nos últimos anos, a preocupação crescente com a saúde e com a qualidade de vida, levou as pessoas a se preocuparem em fazer exercícios físicos, ingerir alimentos saudáveis, diminuir o consumo de alimentos ricos em açúcar, sal e gordura. Além disso, houve um aumento na procura por alimentos com alguma propriedade funcional. As mudanças nos hábitos alimentares e no estilo de vida são, principalmente, em função da busca incessante por saúde, proporcionando melhor qualidade de vida e prevenindo o aparecimento de determinadas doenças (Silva et al., 2007).

Os alimentos funcionais são alimentos que, consumidos em quantidades normais, demonstraram ser benéficos, em uma ou mais funções do organismo, para além do efeito nutricional inerente. Devem contribuir de forma relevante para a melhoria do estado de saúde e de bem-estar, e/ou para a redução do risco de doença.

Os alimentos funcionais fazem parte de uma nova concepção de alimentos, lançada pelo Japão na década de 80, por intermédio de um programa de governo que tinha como objetivo desenvolver alimentos saudáveis para uma população que envelhecia e apresentava uma grande expectativa de vida (Anjo,

2004). O Japão foi pioneiro na formulação do processo específico de regulamentação dos alimentos funcionais. Estes alimentos são similares na aparência aos alimentos convencionais, usados como parte de uma dieta normal e demonstraram benefícios fisiológicos e/ou reduziram o risco de doenças crônicas, além de suas funções básicas nutricionais (Stringheta et al., 2007).

Os alimentos funcionais são consumidos em dietas convencionais, mas demonstram capacidade de regular funções corporais de forma a auxiliar na proteção contra doenças como hipertensão, diabetes, câncer, osteoporose e coronariopatias. Alimentos funcionais são todos os alimentos ou bebidas que, consumidos na alimentação cotidiana, podem trazer benefícios fisiológicos específicos, graças à presença de ingredientes fisiologicamente saudáveis (Cândido & Campos, 2005).

No Brasil, em 1999, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa), aprovou a regulamentação que trata das diretrizes básicas para avaliação do risco e segurança dos alimentos – Resolução nº17/99 (Anvisa, 1999b), dos procedimentos para registro de alimentos e/ou novos ingredientes – Resolução nº16/99 (Anvisa, 1999b), das diretrizes básicas para análise e comprovação de alegação de propriedade funcional e/ou de saúde alegadas em rotulagem de alimentos – Resolução nº18/99 (Anvisa, 1999d) e, Portaria 398/99 (Anvisa, 1999a), dos procedimentos para registro de alimentos com alegação de propriedades funcionais e/ou de saúde – Resolução nº 19/99 (Anvisa, 1999d).

A legislação brasileira não define alimento funcional (Anvisa, 1999a, 1999c, 1999d). Define alegação de propriedade funcional como aquela relativa ao papel fisiológico no crescimento, desenvolvimento e funções normais do organismo; alegação de propriedade de saúde como aquela que afirma, sugere ou implica a existência de relação entre o alimento ou ingrediente com doença ou condição relacionada à saúde.

Neste contexto, a indústria de laticínios destaca-se no lançamento de produtos com alegação de propriedades funcionais, de maior valor agregado e que apresentam maior possibilidade de conquistar o consumidor, cada vez mais exigente (Stringheta et al., 2007).

Dentre estes alimentos, os prebióticos e os probióticos têm recebido grande destaque.

## **2.5.1 Probióticos**

### **2.5.1.1 Conceito**

O termo probiótico foi introduzido em 1965 para descrever “substâncias secretadas por um microrganismo, o qual estimula o crescimento do outro” (Suskovic et al., 2001). Contudo, o termo probiótico foi redefinido por Fuller (1989) como um “suplemento alimentar composto de células microbianas vivas, as quais têm efeitos benéficos para o hospedeiro, por melhorar ou manter o equilíbrio microbiano no intestino”.

Segundo o Regulamento Técnico de Substâncias Bioativas e Probióticos Isolados com Alegação de Propriedades Funcionais e/ou de Saúde, entendem-se por probióticos, os microrganismos vivos capazes de melhorar o equilíbrio microbiano intestinal produzindo efeitos benéficos à saúde do indivíduo (Anvisa, 2002).

Os probióticos influenciam positivamente o organismo e aumentam de maneira significativa o valor nutritivo e terapêutico dos alimentos, em virtude do equilíbrio microbiano intestinal e das funções fisiológicas do trato intestinal humano (Goldin, 1998; Shah, 2001).

Em diferentes regiões do trato intestinal, estão presentes grupos específicos de microrganismos, como bactérias lácticas e bífidas, que modulam a microbiota nestes espaços, principalmente, por seus produtos de metabolismo (Ferreira & Teshima, 2000). Essa microbiota desejável protege o hospedeiro

antagonizando o crescimento de microrganismos patogênicos, além de manter a sua saúde, impedindo a reabsorção de compostos aminados indesejáveis, decompondo ácidos biliares, biodisponibilizando minerais como cálcio, ferro e outros nutrientes, diminuindo a incidência de doenças coronárias, ajudando a digestão, proporcionando efeitos nutricionais, (Ouweland, 1998). Por meio de suas enzimas, favorece o metabolismo de algumas substâncias como a lactose, em indivíduos lactase não persistentes (Salminen, 1999).

Estes microrganismos possuem a capacidade de manterem-se vivos no produto fermentado e sobreviverem à passagem pelo trato gastrointestinal, fixando-se no intestino e trazendo melhorias no balanço da microbiota de indivíduos que consumam periodicamente esses produtos (Behrens et al., 2000). Um microorganismo é considerado probiótico, se o mesmo for habitante normal do trato gastrointestinal, sobreviver à passagem pelo estômago, manter a viabilidade e atividade no intestino, promovendo efeitos profiláticos e terapêuticos (Modler, 1994; O'Sullivan, 1996). Da mesma forma, alimentos probióticos são definidos como alimentos que contêm microrganismos, que possuem efeito benéfico sobre a microflora intestinal e sobre as funções fisiológicas do trato intestinal humano (Thamer & Penna, 2005).

Os microrganismos probióticos devem ser suficientemente tolerantes ao suco gástrico e à bile, e resistentes às enzimas digestivas, a fim de sobreviver à passagem pelo estômago e pelo intestino delgado superior em quantidade adequada. Uma boa taxa de sobrevivência desses microrganismos fica entre 5-50%. Os probióticos, quando instalados na mucosa intestinal, produzem substâncias que inibem o crescimento de bactérias indesejáveis, sem comprometer a microbiota intestinal benéfica presente no ecossistema do intestino e, dessa forma, auxilia no equilíbrio microbiano intestinal (Antunes et al., 2007).

A utilização de culturas bacterianas probióticas estimula a multiplicação de bactérias benéficas, em detrimento à proliferação de bactérias potencialmente prejudiciais, reforçando os mecanismos naturais de defesa do hospedeiro (Puupponen-Pimiä et al., 2002).

Os benefícios à saúde do hospedeiro, atribuídos à ingestão de culturas probióticas são: controle da microbiota intestinal, estabilização da microbiota intestinal, após o uso de antibióticos; promoção da resistência gastrintestinal à colonização por patógenos; diminuição da concentração dos ácidos acético e láctico, de bacteriocinas e outros compostos antimicrobianos; promoção da digestão da lactose em indivíduos intolerantes à lactose; estimulação do sistema imune, alívio da constipação e aumento da absorção de minerais e vitaminas” (Saad, 2006).

Dentre os diversos gêneros que integram o grupo de probióticos, destacam-se o *Bifidobacterium* e o *Lactobacillus*. A sua utilização como aditivo em diversos produtos lácteos tem sofrido enormes progressos durante a última década, na sequência de um conjunto diversificado de trabalhos científicos (Reuter, 1990).

O critério de seleção e avaliação dos microrganismos probióticos foi resultado das pesquisas institucionais e de universidades com as indústrias de alimentos. Segundo Suskovic et al. (2001), as cepas de bactérias, para se classificarem como probióticas, devem apresentar as seguintes propriedades: serem habitantes normais das espécies alvo: origem humana para probióticos humanos; não serem tóxicas e patogênicas; possuírem características de aderência e colonização; características desejáveis de viabilidade durante preparação, estocagem e consumo da cultura; viabilidade populacional elevada, apresentando em torno de  $10^6$  -  $10^8$  bactérias por grama de produto; antagonista a patógenos.

TABELA 3 Exemplos de microrganismos comumente descritos como possuidores de características probióticas.

<i>Lactobacillus</i>	<i>Bifidobacterium</i>	<i>Streptococcus</i>
<i>L. acidophilus</i>	<i>B. longum</i>	<i>S. thermophilus</i>
<i>L. casei</i>	<i>B. bifidum</i>	
<i>L. johnsonii</i>	<i>B. lactis</i>	
<i>L. fermentum</i>	<i>B. breve</i>	
<i>L. plantarum</i>	<i>B. infantis</i>	
<i>L. lactis</i>		
<i>L. rhamnosus</i>		
<i>L. gasseri</i>		
<i>L. reuteri</i>		
<i>L. salivarius</i>		

Fonte: Kopp-Hoolihan (2001).

### 2.5.1.2 Características dos probióticos

Para atingir o intestino e garantir sua funcionalidade, as bactérias probióticas devem possuir uma ou mais características, como resistência ao suco gástrico, à bile e às condições de processamento a que o alimento é submetido entre outras. Os probióticos devem sobreviver, em todas as etapas de elaboração e armazenagem do produto, por isso, a escolha do alimento no qual serão adicionados depende do teor de sal, do ph, da umidade, entre outros fatores que podem influenciar sua efetividade.

O consumo de produtos, contendo *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium bifidum*, tem a potencialidade de melhorar os movimentos peristálticos do intestino. Aumenta a absorção de nutrientes, reduz ou controlando infecções intestinais, ao bloquear os receptores dos patógenos, inativando os efeitos das enterotoxinas e favorecendo o desenvolvimento de microrganismos resistentes a patógenos, especialmente contra *Escherichia coli*

(Lee et al., 1999). Além disso, tem a capacidade de melhorar a digestão da lactose em pessoas classificadas como lactose-intolerantes, metabolizar alguns tipos de fármacos, reduzir o nível de colesterol e o risco de câncer de cólon (Gilliland, 1989).

Além dos benefícios, em termos de nutrição e de saúde que proporcionam, as culturas probióticas podem, também, contribuir para melhorar o sabor do produto final, possuindo a vantagem de promover acidificação reduzida durante a armazenagem pós-processamento (Gomes & Malcata, 1999).

Os probióticos têm efeito em casos de diarreia, conseguindo normalizar o trato gastrointestinal; além de efeito antiinflamatório; controle e normalização de constipação; e efeito contra agentes mutagênicos, auxiliando na prevenção de alguns tipos de câncer e resistência a infecções por patógenos.

A influência benéfica dos probióticos sobre a microbiota intestinal humana inclui fatores como efeitos antagônicos, competição e efeitos imunológicos, resultando em um aumento da resistência contra patógenos. Assim, a utilização de culturas bacterianas probióticas estimula a multiplicação de bactérias benéficas, em detrimento à proliferação de bactérias potencialmente prejudiciais, reforçando os mecanismos naturais de defesa do hospedeiro (Puupponen-Pimiä et al., 2002).

Um dos principais usos de probióticos pela espécie humana tem sido o de adjunto dietético, para repor e/ou prevenir o desbalanceamento da microbiota intestinal. As principais espécies que têm sido empregadas para fins probióticos são bactérias do gênero *Lactobacillus* como *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus rhamnosus*. Cepas de *Enterococcus* e *Bacillus* têm também sido utilizados na composição de alguns probióticos, além de *Bifidobacterium*. (Ferreira & Teshima, 2000).

### **2.5.2 Prebióticos**

Os prebióticos podem ser definidos como ingredientes fermentáveis, porém, não digeríveis, cujos efeitos beneficiam o hospedeiro por estimular o crescimento seletivo e ativar o metabolismo de bactérias promotoras da saúde no trato intestinal, principalmente as bifidobactérias. A principal ação dos prebióticos é estimular o crescimento e/ou ativação do metabolismo de muitos grupos de bactérias benéficas no trato intestinal, atuando na associação com probióticos (Palanca et al., 2006; Sgarbieri & Pacheco, 1999).

Para serem eficazes, os prebióticos devem escapar da digestão na parte superior do trato gastrointestinal e alcançar o cólon, para que sejam utilizados por um número limitado de microrganismos que compreendem a microflora relativa ao cólon (Aider & Halleux, 2007).

Segundo Reig & Anesto (2002), para que uma substância ou grupo de substâncias possa ser definido como prebiótica deve cumprir os seguintes requisitos: ser de origem vegetal, formar parte de um conjunto heterogêneo de moléculas complexas, não ser digerida pelas enzimas digestivas, ser parcialmente fermentada pelas bactérias do cólon e ser osmoticamente ativa.

As principais categorias de prebióticos, atualmente disponíveis ou em desenvolvimento, incluem carboidratos, os quais possuem unidades monossacarídicas de frutose, glicose e/ou xilose e estimulam principalmente o crescimento de bifidobactérias, portanto, são referidos como fatores bifidogênicos (Aider & Halleux, 2007).

Os prebióticos são substâncias não digeríveis pelo hospedeiro e têm a propriedade de ser fermentados de maneira seletiva, no cólon, favorecendo o seu bem-estar. Os probióticos e prebióticos têm, também, utilizados em outros produtos, como bebidas lácteas não fermentadas (leite sweet), leites em pó, iogurtes congelados e queijos, com alegação de propriedades funcionais (Stringheta et al., 2007).

Para que um composto tenha ação prebiótica, deve chegar ao cólon sem se modificar e deve ser utilizado como substrato alimentício que estimula a flora bacteriana saprófita existente, obtendo-se efeitos benéficos para o hospedeiro (Marquina & Santos, 2009). Os ingredientes dos alimentos com características prebióticas, geralmente, exibem algumas particularidades, tais como: limitada hidrólise e absorção no trato gastrointestinal superior, estimulação seletiva da multiplicação das bactérias benéficas no cólon, potencial para reprimir patógenos e limitar virulência por processo, como a imunoestimulação e o estímulo da microbiota benéfica, que promove a resistência à colonização por patógenos (Urgell et al., 2005).

Adicionalmente, os prebióticos podem inibir a multiplicação de patógenos, garantindo benefícios adicionais à saúde do hospedeiro. Esses componentes atuam mais frequentemente no intestino grosso, embora possam, ter também, algum impacto sobre os microrganismos do intestino delgado.

Os prebióticos possuem a função de mudar a atividade e a composição da microbiota intestinal com a perspectiva de promover a saúde do hospedeiro; estimulam o crescimento dos grupos endógenos de população microbiana, tais como as *Bifidobactérias* e os *Lactobacillos*, que são ditos como benéficos para a saúde humana (Blaut, 2002). Os prebióticos mais eficientes irão reduzir a atividade de organismos, potencialmente, patogênicos (Roberfroid, 2002).

Os prebióticos não somente proporcionam aumento potencial do número de bactérias benéficas no intestino grosso de humanos, predominantemente, os lactobacilos e as bifidobactérias, mas também aumentam sua atividade metabólica, por meio do fornecimento de substrato fermentável (Bielecka et al., 2002).

Conforme descrito por Fooks et al. (1999), o critério para classificação dos prebióticos, como ingredientes alimentares, inclui:

- ✓ Não deve ser nem hidrolisado, nem absorvido, na parte superior do trato gastrointestinal.
- ✓ Fermentação seletiva por bactérias potencialmente benéficas no cólon, quer dizer, deve promover, seletivamente o crescimento e/ou estimular a atividade metabólica de bactérias promotoras da saúde e não a de outras bactérias.
- ✓ Alteração na composição da microflora do colon a favor de uma composição mais saudável.
- ✓ Preferencialmente, induzir efeitos benéficos para a saúde do hospedeiro.

Prebióticos já são amplamente comercializados no Japão e na Europa como adoçantes funcionais e são utilizados como ingredientes na produção de bebidas lácteas, balas, doces, chocolate, biscoitos, geleias, pudins e goma de mascar (Ferreira & Teshima, 2000).

### **2.5.3 Simbióticos**

A combinação de prebióticos e probióticos pode resultar em efeitos sinérgicos. Um produto no qual se encontram prebióticos e probióticos é denominado simbiótico. A interação entre o probiótico e o prebiótico *in vivo* pode ser favorecida por uma adaptação do probiótico ao substrato prebiótico anterior ao consumo. Isto pode, em alguns casos, resultar em uma vantagem competitiva para o probiótico, se ele for consumido juntamente com o prebiótico (Mattila-Sandholm et al., 2002). Os simbióticos proporcionam a ação conjunta de prebióticos e probióticos e podem ser classificados como componentes dietéticos funcionais que aumentam a sobrevivência dos probióticos, durante a passagem pelo trato digestivo superior, pelo fato de seu substrato específico estar disponível para fermentação (Charalampopoulos et al., 2002).

No desenvolvimento de simbióticos é necessária a seleção de linhagens de microrganismos com melhor capacidade de utilização de um determinado prebiótico, para se obter um efeito sinérgico na implantação e proliferação das bactérias desejáveis (Ferreira et al., 2000).

O consumo de probióticos e de prebióticos selecionados apropriadamente, pode aumentar os efeitos benéficos de cada um deles, uma vez que o estímulo de cepas probióticas conhecidas leva à escolha dos pares simbióticos substrato-microrganismo ideais (Puupponen-Pimiä et al., 2002).

### 3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADACHI, S.; PATTON, S. Presence and significance of lactulose in milk products: a review. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 44, n. 8, p. 1375-93, Oct. 1961.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Portaria nº 398, de 30 de abril de 1999. Aprova o regulamento técnico que estabelece as diretrizes básicas para análise e comprovação de propriedades funcionais e ou de saúde alegadas em rotulagem de alimentos. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, 3 maio 1999a.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Regulamento técnico de substâncias bioativas e probióticos isolados com alegação de propriedades funcional ou de saúde. Resolução RDC nº 2, 7 de janeiro de 2002. Aprova o Regulamento Técnico de Substâncias Bioativas e Probióticos Isolados com Alegação de Propriedades Funcional e ou de Saúde. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, 9 jan. 2002.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Resolução nº 16, 3 de dezembro 1999. Aprova o Regulamento Técnico de Procedimentos para registro de Alimentos e ou Novos Ingredientes, constante do anexo desta Portaria. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, 3 dez. 1999b.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Resolução nº 18, de 30 de abril de 1999. Aprova o Regulamento Técnico que estabelece as diretrizes básicas para análise e comprovação de propriedades funcionais e ou de saúde alegadas em rotulagem de alimentos. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, Poder Executivo, 3 maio 1999c.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Resolução nº 19, de 30 de abril de 1999. Aprova o Regulamento Técnico de procedimentos para registro de alimento com alegação de propriedades funcionais e ou de saúde em sua rotulagem. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, 3 maio 1999d.

AIDER, M.; HALLEUX, D. Isomerization of lactose and lactulose production: review. **Food Science & Technology**, London, v. 18, n. 2, p. 356-364, Feb. 2007.

ALARCÓN, M. M. V.; **Efeito inibitório dos óleos essenciais no crescimento de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* em queijo ricota.** 2007. 56 p. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.

ALMEIDA, K. E.; BONASSI, I. A.; ROÇA, R. O. Características físicas e químicas de bebidas lácteas. **Ciência e tecnologia de alimentos**, Campinas, v. 21, n. 2, p. 187-192, maio/ago. 2001.

AMINE, A.; MOSCONE, D.; BERNARDO, R. A.; PALLESCHI, G. A new enzymatic spectrophotometric assay for the determination of lactulose in milk. **Analytical Letters**, New York, v. 406, n. 2, p. 217-224, Feb. 2000.

ANDRADE, R. L. P. de; MARTINS, J. F. P. Influencia da adição da fécula de batata-doce (*Ipomoea batatas* L.) sobre a viscosidade do permeado de soro de queijo. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 23, n. 3, p. 249-253, set./dez. 2002.

ANDREWS, G. R. Formation and occurrence of lactulose in heated milk. **Journal of Dairy Research**, Cambridge, v. 53, n. 4, p. 665-80, Nov. 1986.

ANTUNES, A. E. C. **Influência do concentrado protéico do soro de leite e de culturas probióticas nas propriedades de iogurtes naturais desnatados.** 2004. 240 p. Tese (Doutorado em Alimentos e Nutrição) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

ANTUNES, A. J. **Funcionalidade de proteínas do soro de leite bovino.** Barueri: Manolo, 2003. 135 p.

ANTUNES, L. A. F.; VILELA, S. C.; CAMPOS, S.; DUTRA, E. R. P. Culturas Probióticas LA-5 e BB-12 e suas propriedades. **Informativo Ha-La do Biotec**, Valinhos, v. 17, n. 99, p. 45-50, maio/jun. 2007.

ARAGON, I. B.; SABAT, P.; GOUTI, N. A new method for discriminating milk heat treatment. **International Dairy Journal**, Barking, v. 12, n. 1, p. 59-67, Jan. 2002.

ARUNACHALAM, K. D. Role of bifidobacteria in nutrition, medicine and technology. **Nutrition Research**, New York, v. 19, n. 10, p. 1559-1597, Oct. 1999.

BEHMER, M. L. A. **Tecnologia do leite.** São Paulo: Nobel, 1986. 106 p.

BEHRENS, J. H.; ROIG, S. M.; SILVA, M. A. P. Aspectos de funcionalidade, de rotulagem e de aceitação de extrato hidrossolúvel de soja fermentado e culturas lácteas probióticas. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 34, n. 2, p. 99-106, fev. 2000.

BIELECKA, M.; BIEDRZYCKA, E.; MAJKOWSKA, A. Selection of probiotics and prebiotics for synbiotics and confirmation of their in vivo effectiveness. **Food Research International**, Amsterdam, v. 35, n. 2/3, p. 125-131, Feb./Mar. 2002.

BIRLOUEZ-ARAGON, I.; SABAT, P.; GOUTI, N. A new method for discriminating milk heat treatment. **International Dairy Journal**, Barking, v. 12, n. 1, p. 59-67, Feb. 2002.

BLAUT, M. Relationship of prebiotics and food to intestinal microflora. **European Journal of Nutrition**, Amsterdam, v. 41, p. 1-16, 2002. Supplement.

BRANDÃO, C. C. C. Soro: um desafio para as fábricas de queijos. **Leites & Derivados**, São Paulo, n. 15, p. 13-19, mar./abr. 1994.

BRASIL. Decreto nº 30.691, de 29 de março de 1952. Aprova o novo Regulamento da inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal. **Diário Oficial da União, Brasília**, p. 107857 jul 1952. Seção 1. Disponível em: <<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=14974>>. Acesso em: 12 de janeiro de 2010.

CANDIDO, L. M. B.; CAMPOS, A. M. Alimentos funcionais: uma revisão. **Boletim da SBCTA**, Campinas, v. 29, n. 2, p. 193-203, 2005.

CHARALAMPOPOULOS D, WANG R, PANDIELLA SS, WEBB C. Application of cereals and cereal components in functional foods: a review **International Journal Food Microbiology**, Amsterdam, v. 79, n. 1/2, p. 131-41, Jan./Feb. 2002.

COSTA, R. C. **Obtenção de lactose a partir de permeado de soro de queijo e permeado de leite**. 1995. 75p. Dissertação (Mestrado, Faculdade de Engenharia de Alimentos) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

DALLAS, P. O uso de derivados de soro de leite em aplicações em produtos de consumo. **Indústria de Laticínio**, São Paulo, v. 8, n. 46, p. 60-61, maio/jun. 1999.

DE BLOCK, J.; MERCHIERS, M. R.; RENTERGHEM, V.; MOERMANS, RENAAT. Evaluation of two methods for the determination of lactulose in milk. **International Dairy Journal**, Barking, v. 6, p. 217-222, Dec. 1999.

DENDENE, K.; GUIHARD, L.; NICOLAS, S.; BARIOU, B. Kinetics of lactose isomerization of lactulose in an alkaline medium. **Journal Chemistry, Technology and Biotechnology**, Oxford, v. 61, n. 3, p.37-42, Mar. 1994.

EIGEL, W. N.; BUTLER, J. E.; ERNSTROM, C. A.; FARRELL, H. M. Nomenclature of proteins of cow's milk. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 67, n. 7, p.1599-1631, July 1984.

FARKYE, N. Y. Acid and Acid/Rennet curd-cheeses Part C. Acid-heat Coagulated Cheeses. In: FOX, P. F. **Cheese: chemistry, physics and microbiology**. 3. ed. London: Elsevier, 2004. v. 2, p. 343-348.

FENNEMA, O. R. **Food chemistry**. 3. ed. New York: Marcel Dekker, 1996. p. 157-223.

FERREIRA, C. L. L.; TESHIMA, E. Prebióticos, estratégia dietética para a manutenção da microbiota colônica desejável. **Biociência & Desenvolvimento**, Brasília, v. 3, n. 16, p. 22-25, set./out. 2000.

FOOKS, L.; FULLER, R.; GIBSON, G. R. Prebiotics, probiotics and human gut microbiology. **International Dairy Journal**, Barking, v. 9, n. 1, p. 53-61, Jan. 1999.

FULLER, R. Probiotics in man and animals. **Journal of Applied Bacteriology**, Oxford, v. 66, n. 3, p.365-378, Mar. 1989.

GIBSON, G. R.; FULLER, R. Aspects of in vitro and in vivo research approaches directed toward identifying probiotics and prebiotics for human use. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 130, p. 391-395, Dec. 2000. Supplement 1/2.

GILLILAND, S. E. Acidophilus milk products: a review of potential benefits to consumers. **Journal Dairy Science**, Champaign, v. 72, n. 10, p. 2483-2494, Oct. 1989.

GIRALDO-ZUÑIGA, A. D. G.; COIMBRA, J. S. R.; GOMES, J. C.; MINIM, L. A.; ROJAS, E. E. G.; GADE, A. D. Tecnologias aplicadas ao processamento do soro de queijo. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 59, n. 5, p. 53-66, set/out. 2004.

GOLDIN, B.R. Health benefits of probiotics. **Brasilian Journal Nutrition**, London, v. 80, p. 203-207, 1998. Suplemento 4.

GOMES, A. M. P.; MALCATA, F. X. *Bifidobacterium ssp. and Lactobacillus acidophilus*: biochemistry, technological and therapeutical properties relevant for use as probiotics. **Trends in Food Science & Technology**, Cambridge, v. 10, n. 4/5, p. 139-157, Apr. 1999.

HICKS, K. B.; RAUPP D. L.; SMITH, P. W. Preparation and purification of lactulose from sweet cheese whey ultrafiltrate. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 32, n. 2, p. 288-292, Mar./Apr. 1984.

HOOLIHAN, L. K. Prophylactic and therapeutic uses of probiotics: a review. **Journal of the American Dietetic Association**, Cambridge, v. 101, n. 2, p. 229-236, Feb. 2001.

HOSSEINI, M.; SHOJAOSADATI, S. A.; TOWFIGHI, J. Application of a bubble column reactor for the production of a single-cell protein from cheese whey. **Industria & Engineering Chemistry Research**, Washington, v. 42, n. 4, p. 764-766, Jan. 2003.

HUGHES, D. B.; HOOVER, D. G. Bifidobacteria: their potential for use in American dairy products. **Food Technology**, Chicago, v. 45, n. 4, p. 75-83, Apr. 1991.

IBRAHIM, S. A.; BEZKOROVAINY, A. Growth-promoting factors for *Bifidobacterium longum*. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 59, n. 1, p. 189-191, Jan. 1994.

JOHNSON, M. A.; GRINSTED, R. L.; KENWARD, R. S.; SMITHERS, G. W. Whey Proteins as Functional Food Ingredients? **International Dairy Journal**, Barking, v. 8, n. 5-6, p. 425-434, May 1998.

KONTULA, P.; SUIHKO, M. L.; VON WRIGHT, A.; SANDHOL, M. The effect of lactose derivatives on intestinal lactic acid bacteria. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 82, n. 2, p. 249-256, Feb. 1999.

- KOPP-HOOLIHAN, L. Prophylactic and therapeutic uses of probiotics: a review. **Journal of the American Dietetic Association**, Chicago, v.101, n. 1, p.229-241, Jan. 2001.
- KOSIKOWSKI, F. V.; MISTRY, V. V. Soft Italian Cheese-Mozzarella and Ricotta. In: KOSIKOWSKI, F. V. **Cheese and fermented milk foods: origins and principles**. 3. ed. Virginia: L.L.C, 1999. v. 2, cap.11, p. 174-79.
- KOZEMPEL, M. Viscosity and density of lactulose solutions. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 79, n. 12, p. 2152-2154, Dec. 1996.
- KUNZ, C.; RUDLOFF, S. Health promoting aspects of milk oligosaccharides. **International Dairy Journal**, Barking, v. 16, n. 11, p. 1341-1346, Feb. 2006.
- LEE, C. E.; M. A. BELL. Causes and consequences of recent freshwater invasions by saltwater animals. **Trends in Ecology & Evolution**, Amsterdam, v. 14, n. 7, p. 284-288, July 1999.
- LIZIEIRI, R. S.; CAMPOS, O. F. **Soro de queijo “in natura” na alimentação do gado de leite**: instrução técnica para o produtos de leite. Juiz de Fora: EMBRAPA Gado de leite, 2001. Folder.
- MADALOZZO, E. S.; ZANLORENZI, M. M.; LEAL, E. S.; NAGATA, N. Determinação de carboidratos (Lactose) em ricota via espectrofotometria UV-VIS. In: ENCONTRO DE QUÍMICA DA REGIÃO SUL, 16., 2008, Ponta Grossa. **Anais...** Ponta Grossa: SBQSUL, 2008. p. 1-2.
- MARTÍNEZ-VILLALUENGA, C.; CARDELLE-COBAS, A.; OLANO, A.; CORZO, N.; VILLAMIEL, M.; JIMENO, M. L. Enzymatic synthesis and identification of two trisaccharides produced from lactulose by transgalactosylation. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 56, n. 2, p. 557-563, Dec. 2008.
- MARTINS, A. R.; BURKERT, C. A. V. Revisão Galacto-oligosacarídeos (GOS) e seus efeitos prebióticos e bifidogênicos. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 12, n. 3, p. 230-240, jul./set. 2009.
- MARQUINA, D.; SANTOS, A. **Probióticos, prebióticos y salud**. Madrid: Universidad Complutense, Departamento de Microbiología, [200?]. Disponível em: <[http://www.semico.es/Actualidad/PDFS/SEM32\\_24.pdf](http://www.semico.es/Actualidad/PDFS/SEM32_24.pdf)>. Acesso em: 24 jan. 2010.

MATTILA-SANDHOLM, T.; MYLLÄRINEN, P.; CRITTENDEN, R.; MOGENSEN, G., FONDÉN, R.; SAARELA, M. Technological challenges for future probiotic foods. **International Dairy Journal**, Barking, v. 12, n. 2/3, p.173-182, 2002.

MCINTOSH, G. H.; REGESTER, G. O.; LEU, R. K. L.; ROYLE, P. J.; SMITHERS, G. W. Dairy proteins protect against Dimethylhydrazine: induce intestinal cancers in rats. **American Institute of Nutrition**, New York, v. 124, n. 6, p. 809-816, 1994.

MCINTOSH, G. H.; ROYLE, P. J.; LEU, R. K.; REGESTER, G. O.; MIZOTA, T. Lactulose as a growth promoting factor for Bifidobacterium and its physiological aspects. **Bulletin of the International Dairy Federation**, Brussels, n. 313, p. 43-48, Jan./Dec.1996.

MIZOTA, T. Lactulose as a growth promoting factor for Bifidobacterium and its physiological aspects. **Bulletin of the International Dairy Federation**, Brussels, v. 313, p. 43-48, May 1996.

MODLER, H. W.; MULLER, P. G.; ELLIOT, J. T.; EMMONS, D. B. Economic and technical aspects of feeding whey to livestock. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 63, n. 5, p. 838-855, May 1980.

O'SULLIVAN, M. G. Metabolism of bifidogenic factors by gut flora- an overview. **Bulletin of the International Dairy Federation**, Brussels, v. 313, p. 23-30, Jan./Dec.1996.

ORDÓÑEZ, J. A. **Tecnología de alimentos: alimentos de origen animal**. Porto Alegre: Artmed, 2005. v. 2.

OUWEHAND, A.; SALMINEN, J. The health effects of cultured milk products with viable and non viable bacteria. **International Dairy Journal**, Barking, v. 8, n. 9, p. 749-758, Sept. 1998.

PALANCA, V.; RODRÍGUEZ, E, SEÑORÁNS J, REGLERO G. Bases científicas para el desarrollo de productos cárnicos funcionales con actividad biológica combinada. **Nutricion Hospitalaria**, Madrid, v. 21, n. 2, p. 199-202, Mar./Apr. 2006.

PIMIÄ, R. P.; AURA, A. M.; OKSMANCALEDENY, K. M.; MYLLÄRINEN, P.; SAARELA, M.; SANHOLM, T. M.; POUTANEN, K. Development of functional ingredients for gut health. **Trends in Food Science & Technology**, Cambridge, v. 13, n. 1, p. 3-11, Jan. 2002.

PLAYNE, M. J.; CRITTENDEN, R. Commercially available oligosaccharides. **Bulletin of the International Dairy Federation**, Brussels, v. 313, p. 10-22, 1996.

PUUPPONEN-PIMIÄ, R.; AURA, A.M.; OKSMANCALEDENY, K.M.; MYLLÄRINEN, P.; SAARELA, M.; MATTILA-SANHOLM, T.; POUTANEN, K. Development of functional ingredients for gut health. **Trends Food Science Technology**, Amsterdam, v.13, n.1, p.3-11, Feb. 2002.

REIG, A.; ANESTO, J. B. Prebióticos y probióticos, una relación beneficiosa. **Revista Cubana Alimentación y Nutrición**, La Habana, v. 16, n. 1, p. 63-68, Jun. 2002.

REUTER, G. Bifidobacteria cultures as components of yoghurt-like products **Bifidobacteria and Microflora**, Tokyo, v. 9, n. 2, 107-118, Feb. 1990.

RIBEIRO, A. C.; MARQUES, S. C.; SODRÉ, A. F.; ABREU, L. R.; PICCOLI, R. H. Controle microbiológico da vida de prateleira de ricota cremosa. **Ciência & Agrotecnologia**, Lavras, v. 29, n. 1, p. 113-117, jan./fev. 2005.

ROBERFROID, M. Functional food concept and its application to prebiotics. **Digestive and Liver Disease**, Rome, v. 34, p. 105-10, 2002. Supplement 2.

ROBINSON, R. K. **Dairy microbiology: the microbiology of milk**. London: Applied Science, 1981. 258p.

SAAD, S. M. I. Probióticos e prebióticos: o estado da arte. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, v. 42, n. 1, p. 1-16, mar. 2006.

SALMINEN, S.; OUWEHAND, A.; BENNO, Y.; LEE, Y. K. Probiotics: how should they be defined. **Trends in Food Science & Technology**, Cambridge, v. 10, n. 3, p. 107-110, Mar. 1999.

SANDHOLM, T. M.; MYLLÄRINEN, P.; CRITTENDEN, R.; MOGENSEN, G.; FONDÉN, R.; SAARELA, M. Technological challenges for future probiotic foods. **International Dairy Journal**, Barking, v. 12, n. 2/3, p. 173-182, Fev./Mar. 2002.

SANTA CATARINA. Decreto Lei 3.748 de 12 de junho de 1993. Aprova o Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal. **Diário Oficial**, Santa Catarina, 28 jul.1993.

SARON, M. L. G. **Aproveitamento do permeado de soro de leite bovino através da transformação da lactose em lactulose e como ingrediente para meios de culturas de bactérias probióticas.** 2003. 107 p. Dissertação (Mestrado em Alimentos e Nutrição) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

SCHOLZ-AHRENS, K.; SHAAFSMA, G.; HEUVEL, E. van der; SCHREZENMEIR, J. Effects of prebiotics on mineral metabolism. **American Journal of Clinical Nutrition**, New York, v. 73, p. 459-464, Feb. 2001. Supplement 2.

SCHUMANN, C. Medical, nutritional and technological properties of lactulose: an update. **European Journal of Nutrition**, Hannover v.41, n.1, p.17-25, Oct. 2002.

SERPA, L. **Concentração de proteínas do soro de queijo por evaporação a vácuo e ultrafiltração.** 2005. 116 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai a das Missões, Erechim.

SGARBIERI, V. C. **Proteínas em alimentos protéicos:** propriedades, degradações, modificações. São Paulo: Varela, 1996. 517 p.

SGARBIERI, V. C.; PACHECO, M. T. B. Revisão: alimentos funcionais fisiológicos. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 2, n. 1, p. 7-19, Jan. 1999.

SHAH, N. P. Functional foods from probiotics and prebiotics. **Food Technology**, Chicago, v. 55, n. 11, p. 46-52, Nov. 2001.

SILVA, A. S. S.; HAAS, P.; SARTORI, N. T.; ANTON, A. A.; FRANCISCO, A. Frutooligosacarídeos: fibras alimentares ativas. **Boletim do CEPPA**, Curitiba, v. 25, n. 2, p. 295-304, 2007.

STRINGHETA, P. C.; VILELA, M. A. P.; OLIVEIRA, T. T. Legislação brasileira de produtos lácteos com alegação de propriedades funcionais. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 28, n. 238, p. 22-28, maio/jun. 2007.

STROHMAIER, W. Lactulose: Status of health-related applications. **Bulletin of the International Dairy Federation**, Brussels, n. 9804, p. 262-271, 1998.

SUSKOVIC, J.; KOS, B.; GORETA, J.; MATOSIC, S. Role of lactic acid bacteria and bifidobacteria in symbiotic effect. **Food Technology and Biotechnology**, London, v. 39, n. 3, p. 227-235, Mar. 2001.

TAMURA, Y.; MIZOTA, T.; SHIMAMURA, S.; TOMITA, M. Lactulose and its application to the food and pharmaceutical industries. **Bulletin of the International Dairy Federation**, Brussels, v. 289, p. 43-53, 1993.

THAMER, K. G.; PENNA, A. L. B. Caracterização de bebidas lácteas probióticas e acrescidas de prebiótico. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA USP, 12., 2004, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: ESALQ, 2005. CD-ROM.

UES, I.; PIZATTO, E.; BEUX, S.; ALFARO, A. T. Otimização do processo de fabricação da ricota. **Synergismus scyentifica UTFPR**, Pato Branco, v. 1, n. 1/4, p. 382-392, 2006.

UNITES STATES DAIRY EXPORT COUNCIL. Disponível em:  
<<http://www.usdec.org/home.cfm?navItemNumber=82205>>. Acesso em: 23 nov. 2009.

URGELL, M. R.; ORLEANS, A. S.; SEUMA, M. R. P. La importancia de los ingredientes funcionales en las leches y cereales infantiles. **Nutricion Hospitalaria**, Madrid, v. 20, n. 2, p. 135-46, mar./apr. 2005.

VORAGEM, A. G. J. Technological aspects of functional food-related carbohydrates. **Trends in Food Science & Technology**, Cambridge, v. 9, n. 8/9, p. 328-325, Aug. 1998.

WALSTRA, P.; GEURTS, T. J.; NOOMEN, A.; JELLEMA, A.; BOEKEL, M. A. J. S. **Ciencia de la leche y tecnología de los productos lácteos**. Zaragoza: Acribia, 2001. 729 p.

WALSTRA, P.; JENNESS, R.; BADINGS, H. T. **Química y física lactológica**. Zaragoza: Acribia, 1984. 423 p.

WEBB, B. H.; WHITTIER, E. O. The utilization of whey: a review. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 31, n. 2, p. 139-164, Feb. 1948.

YANG, S. T.; SILVA, E. M. Novel products and new technologies for use of a familiar carbohydrate, milk lactose. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 78, n. 11, p. 2541-2562, Nov. 1995.

ZOKAEE, F.; KAGHAZCHI, T.; ZARE, A.; SOLEMANI, M. Isomerization of lactose to lactulose: study and comparison of there catalytic systems. **Process Biochemistry**, London, v. 37, n. 6, p. 629-635, June 2002.

## **CAPÍTULO 2**

### **CARACTERIZAÇÃO DO SORO DE RICOTA E SUA UTILIZAÇÃO PARA OBTENÇÃO DE XAROPE DE LACTULOSE**

## 1 RESUMO

O soro de leite é o subproduto principal da indústria de laticínios. Em função de seu elevado poder poluente e da dificuldade de sua eliminação, pesquisas têm sido desenvolvidas, buscando alternativas para o aproveitamento dos componentes do soro, principalmente, a lactose. Presente no soro pode sofrer uma reação de isomerização em meio alcalino sendo convertida em lactulose, utilizando o ácido bórico como catalisador da reação. A lactulose é um dissacarídeo constituído de galactose e frutose, é um açúcar sintético obtido da lactose. A lactulose é considerada um prebiótico, capaz de ser metabolizada no intestino grosso por bactérias probióticas, como *Lactobacillus* ssp e *Bifidobacterium* ssp. Este trabalho foi realizado com os objetivos de caracterizar tanto o soro de ricota como o xarope de lactulose; obtido a partir deste soro; descrever a reação de isomerização da lactose em lactulose; purificação e identificação da lactulose por cromatografia em camada delgada (CCD) e por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). Com os resultados foi verificado que, a concentração de lactose é um dos fatores que influenciam no rendimento do xarope de lactulose. Após a purificação do xarope de lactulose, em colunas cromatográficas, foi identificada com eficácia a presença de lactulose por cromatografia em camada delgada. Pela cromatografia líquida de alta eficiência pode-se confirmar a síntese de lactulose e obter um rendimento da reação, que foi de aproximadamente 58%.

Palavras-chave: soro de ricota, lactulose, cromatografia.

## 2 ABSTRACT

Whey is the main by-product of the dairy product industry. Due to its high pollutant capacity and elimination difficulty, research has been developed seeking alternatives for the use of the whey components, mainly the lactose. The lactose present in the whey can undergo an isomerization reaction in alkaline medium, being converted into lactulose, using boric acid as a reaction catalyst. The lactulose is a disaccharide made up of galactose and fructose, it is a synthetic sugar obtained starting from lactose. The lactulose is considered a prebiotic, capable of being metabolized in the large intestine by probiotic bacteria, such as *Lactobacillus* ssp and *Bifidobacterium* ssp. This work was conducted with the objective of characterizing the ricotta whey as well as the lactulose syrup obtained from this whey; to describe the isomerization reaction of the lactose into lactulose; purification and identification of the lactulose by thin layer chromatography (TLC) and high performance liquid chromatography (HPLC). The results indicated that the lactose concentration is one of the factors that influence in the lactulose syrup yield. After the purification of the lactulose syrup in chromatographic columns, the lactulose presence was identified with efficiency by thin layer chromatography. The high performance liquid chromatography confirmed the lactulose synthesis, and obtained a reaction yield, which was approximately 58%.

Keywords: ricotta whey, lactulose, chromatography.

### 3 INTRODUÇÃO

Com a expansão do consumo mundial de leite, queijos e derivados nos últimos anos, a produção de soro, um dos principais subprodutos da indústria de laticínios, aumentou consideravelmente. Em função de seu elevado valor nutritivo da sua importância comercial, diversos estudos têm sido realizados para a separação e recuperação de proteínas, lactose, vitaminas e sais minerais presentes no soro (Carminatti, 2001).

O soro pode ter três destinos principais. O primeiro é o processamento até produtos diversos, incluindo sorvetes, bebidas lácteas e alimentos infantis; o segundo é a utilização diretamente na alimentação animal, e o terceiro destino é o seu tratamento para posterior despejo no esgoto, por causa de seu elevado poder poluente (Brandão, 1994).

O soro do leite é rico em lactose, composta por glicose e galactose, estando o grupo aldeído da galactose unido ao grupo C-4 da glicose mediante uma ligação  $\beta$ -1-4- glicosídica (Walstra et al., 2001). Apesar de ser o sólido mais abundante no soro, a lactose é pouco utilizada na indústria alimentícia em virtude de seu baixo poder adoçante e de sua baixa solubilidade. A lactose pode ser isomerizada à lactulose, em meio alcalino, com auxílio de um catalisador.

A lactulose (galactose e frutose) é um açúcar sintético que não ocorre naturalmente e é sintetizada, por meio da lactose por isomerização da glicose à frutose. Atualmente é utilizada em produtos farmacêuticos, nutracêuticos e na indústria de alimentos pelos benefícios oferecidos à saúde humana (Aider & Halleux, 2007).

Diversos catalisadores foram utilizados, para a isomerização da lactose à lactulose, como hidróxido de cálcio, óxido de magnésio, hidróxido de sódio, hidróxido de potássio, carbonato de sódio e reagentes alcalinos orgânicos tais como aminas terciárias. Estes reagentes promovem um baixo rendimento da

reação (Lodigin, 1999). A lactose pode ser eficientemente convertida em lactulose por tratamento com ácido bórico na presença de amins terciárias ou hidróxido de sódio alcançando altos rendimentos (Hicks, 1984).

Recentemente muitas pesquisas têm sido desenvolvidas com o intuito de desenvolver métodos quantitativos para a determinação da lactulose, principalmente, na área de laticínios (Amine et al., 2000). A lactulose tem sido proposta pela “International Dairy Federation” (IDF) e pela “European Commission”, como o índice analítico, para distinguir o leite UAT ultra alta temperatura, do leite esterilizado (Amine et al., 2000; Marconi et al., 2004).

Este capítulo foi elaborado com os objetivos de caracterizar o soro de ricota e o xarope de lactulose, a obtenção e a caracterização do xarope de lactulose por meio da composição centesimal, análises físico-químicas, purificação e análises cromatográficas, visando ao seu aproveitamento na fabricação de produtos lácteos simbióticos.

## **4 MATERIAL E MÉTODOS**

### **4.1 Soro de ricota**

O soro de ricota foi obtido com o soro resultante do processamento do queijo minas frescal. A fabricação da ricota foi efetuada na planta piloto do laticínios localizada no Departamento de Ciência dos Alimentos da Universidade Federal de Lavras-MG.

#### **4.1.1 Obtenção do soro de ricota**

O soro, proveniente da fabricação de queijo Minas Frescal, foi obtido do Laticínios Verde Campo, localizado na cidade de Lavras, MG. Após a precipitação do soro doce, proveniente da elaboração de queijo Minas Frescal, foi obtido o soro de ricota, conforme a tecnologia de fabricação especificada por Furtado & Lourenço Neto (1994).

Após a coleta o soro, foi colocado em um tanque com aquecimento indireto, onde, então, ocorreu a redução da acidez original (situada entre 11 g de ácido láctico e 14 g de ácido láctico) para 8 g de ácido láctico, utilizando-se NaOH. Logo após, iniciou-se o aquecimento com temperatura aproximada de 85 °C, para o início da acidificação, seguindo-se a adição de 80 mL de ácido láctico (85%) para cada 100 l de soro. O aquecimento foi interrompido a, aproximadamente, 92 °C, esperando o tempo necessário para que a massa aflorasse à superfície do soro e procedeu-se à coleta utilizando dessoradores, já que, com o uso desta técnica, os flocos são mais finos. Com o soro obtido da fabricação da ricota foram retiradas três amostras de cada um dos cinco lotes de fabricação para caracterização química e para posterior obtenção do xarope de lactulose. As amostras foram armazenadas em frascos de polietileno em temperaturas de congelamento. O soro de ricota foi liofilizado para redução do volume de água presente e consequente concentração do volume de sólidos

totais até atingir entre 20 e 30% (°Brix). As análises foram realizadas totalizando cinco lotes diferentes.

## **4.2 Composição centesimal do soro de ricota**

Para a composição centesimal, as amostras de soro de ricota foram avaliadas quanto ao extrato seco total, umidade, cinzas e proteína total. Todas as análises foram conduzidas em triplicata.

### **4.2.1 Extrato seco total**

Foi determinado pelo método de secagem em estufa a 105 °C (Association of Official Analytical Chemists - AOAC, 2005).

### **4.2.2 Umidade**

Foi determinada pelo método gravimétrico, com emprego de calor, baseando-se na perda de peso do material, submetido ao aquecimento de 105 °C, até peso constante (AOAC, 2005).

### **4.2.3 Cinzas**

Para determinação das cinzas, seguiu-se o método da AOAC (2005), com carbonização das amostras em chama direta e posterior calcinação em mufla a 550 °C por 4 a 6 horas.

### **4.2.4 Proteína Total**

Determinada pelo método Kjeldahl semi-micro, fundamenta-se na digestão ácida da amostra em presença de catalisadores, formação de amônia, destilação em meio básico e titulação com solução padrão de ácido clorídrico. (AOAC, 2005). O fator utilizado foi de 6,38.

#### **4.2.5 Teor de lactose**

A lactose foi dosada pelo método de Antrona que é um método específico para hexoses e consiste na hidrólise pelo ácido sulfúrico concentrado que, quando aquecido com hexoses, sofre uma reação de condensação, formando um produto de coloração verde e lida no espectrofotômetro a 620 nm (Dische, 1962).

#### **4.3 Análises físico-químicas do soro de ricota**

As amostras do soro de ricota foram analisadas quanto à gordura, densidade, acidez titulável, pH e minerais. Todas as análises foram conduzidas em triplicata.

##### **4.3.1 Teor de gordura**

O teor de gordura foi determinado pelo método butirométrico de Gerber, baseado na separação e quantificação da gordura por meio do tratamento da amostra com ácido sulfúrico e álcool isoamílico (AOAC, 2005).

##### **4.3.2 Densidade a 15°C**

Foi realizada em termolactodensímetro de Quevene, segundo os Métodos Analíticos Oficiais para Controle de Produtos de Origem Animal e seus Ingredientes (AOAC, 2005).

##### **4.3.3 Acidez titulável e ácido láctico**

A acidez titulável foi determinada por titulometria com solução de NaOH 0,1N, utilizando como indicador a fenolftaleína e o resultado expresso em gramas de ácido láctico ou porcentagem de compostos com caráter ácido, como ácido láctico (AOAC, 2005).

#### **4.3.4 Valor de pH**

Foram efetuadas medidas de pH em potenciômetro devidamente calibrado. O pH foi determinado, utilizando-se o potenciômetro digital Micronal, modelo 320, com eletrodo de vidro combinado (Instituto Adolfo Lutz, 1985).

#### **4.4 Composição mineral do soro de ricota**

Os minerais (sódio, cálcio e fósforo) foram determinados por espectrofotometria de absorção atômica com chama em um espectrofotômetro Varian Thetron AA5, com exceção do fósforo que foi determinado em espectrofotômetro UVVisível Varian Modelo DMS-100. O material (0,5g) foi previamente digerido com 6 mL de solução nitroperclórica por cerca de 2 horas, a 140 °C, os resultados foram expressos em porcentagens. Os procedimentos para o preparo das amostras e quantificação dos minerais foram realizados segundo Malavolta et al. (1997).

#### **4.5 Reação de isomerização da lactose**

A lactose, presente no soro de ricota concentrado foi isomerizada a lactulose por meio de uma reação catalisada por borato de sódio, razão molar de 1:1 (lactose/borato) em pH 11. O borato de sódio facilita a reação com o mínimo de reações secundárias, resultando em um alto rendimento de lactulose, por deslocar a reação no sentido do produto mediante a formação de um complexo com a lactulose (Dendene et al., 1994; Zokaee et al., 2002; Saron, 2003).

Nesta reação, o pH foi elevado para 11, para que ocorresse a formação do borato de sódio. O sistema foi deixado sob agitação durante 3 horas, à temperatura de 70 °C em banho-maria (Hicks et al., 1984). Segundo (Kozempel et al., 1997; Zokaee et al., 2002), após o resfriamento, o pH foi corrigido para 2, para evitar reações indesejáveis que ocorrem em pH elevado e para favorecer a

desestabilização do complexo lactulose-borato, facilitando o processo de separação posterior destes compostos.

As operações que foram realizadas, para a isomerização da lactose (soro de ricota) para xarope de lactulose, foram baseadas no trabalho de Hicks et al. (1984); Saron (2003) e adaptadas em função do soro de ricota.

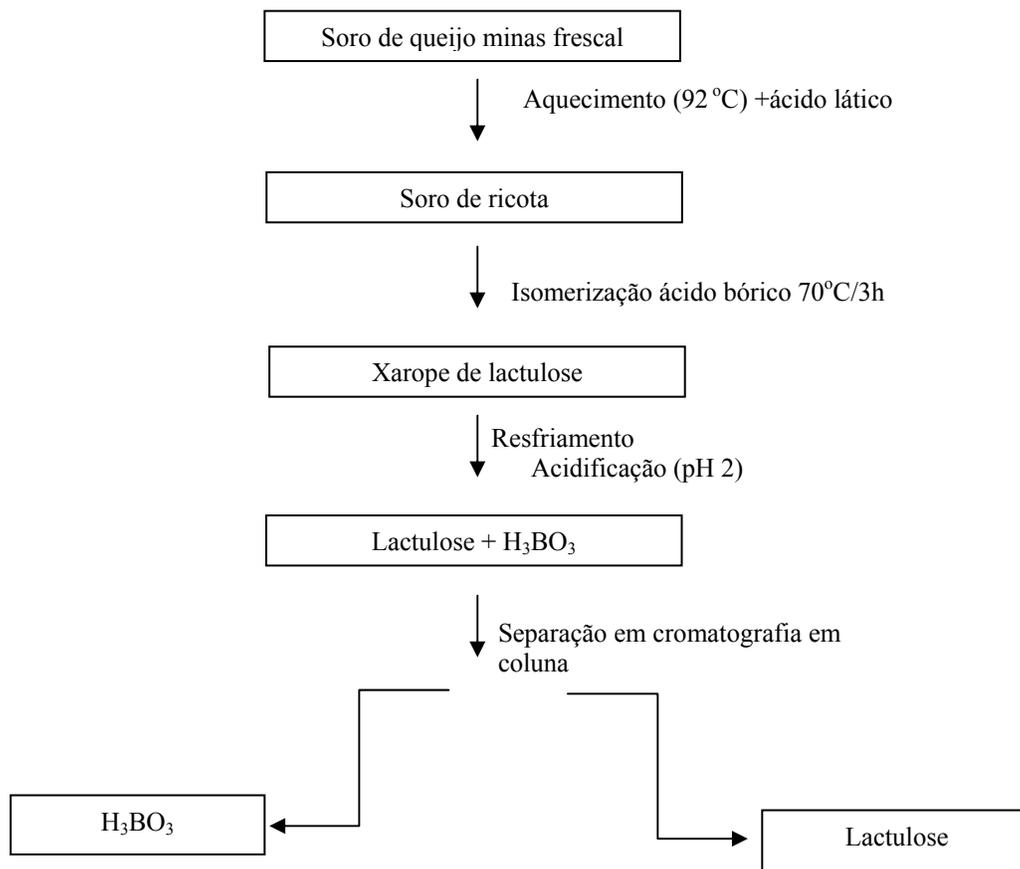


FIGURA 1 Seqüência de operações para a conversão da lactose (soro de ricota) em xarope de lactulose



FIGURA 2 Soro de ricota antes da reação de isomerização



FIGURA 3 Xarope de lactulose

#### **4.6 Análises do xarope de lactulose**

As análises do xarope de lactulose foram realizadas no laboratório de laticínios, do Departamento de Ciência dos Alimentos da Universidade Federal de Lavras, e as análises referentes à cromatografia líquida de alta eficiência foram realizadas no laboratório de Fisiologia de Microrganismos do Departamento de Biologia.

##### **4.6.1 Determinação de viscosidade**

As medidas de viscosidade aparente foram feitas utilizando unidade de medida de torque por intermédio de viscosímetro Brookfield marca RVT (Brookfield Engineering Laboratories, Inc. USA) à temperatura de 21°C. Foi utilizada velocidade de 100 rpm, em razão de um volume de 500 mL de amostra em um béquer de 600 mL. Para o xarope de lactulose foram realizadas três repetições usando o *spindle* RV1.

##### **4.6.2 Valor de pH**

Foram efetuadas medidas de pH em potenciômetro devidamente calibrado. O pH foi determinado, utilizando-se o potenciômetro digital Micronal, modelo 320, com eletrodo de vidro combinado (Instituto Adolfo Lutz, 1985).

##### **4.6.3 Proteína**

Determinada pelo método Kjeldahl semi-micro, fundamenta-se na digestão ácida da amostra em presença de catalisadores, formação de amônia, destilação em meio básico e titulação com solução padrão de ácido clorídrico. (AOAC, 2005). O fator utilizado foi de 6,38.

#### **4.6.4 Extrato seco total**

Foi determinado pelo método de secagem em estufa a 105°C (AOAC, 2005).

#### **4.6.5 Composição mineral**

Os minerais (Cálcio, Fósforo, Magnésio, Sódio, Potássio e Ferro) foram determinados por espectrofotometria de absorção atômica com chama em um espectrofotômetro Varian Thectron AA5, com exceção do fósforo que foi determinado em espectrofotômetro UVVisível Varian Modelo DMS-100. O material (0,5g) foi previamente digerido com 6 mL de solução nitroperclórica por cerca de 2 horas, a 140 °C, os resultados foram expressos em porcentagens. Os procedimentos para o preparo das amostras e quantificação dos minerais foram realizados segundo Malavolta et al. (1997).

#### **4.7 Cromatografia em coluna**

Com base no trabalho de Kozempel et al. (1997), para a remoção do ácido bórico (catalisador) do produto da reação foi utilizado um sistema com duas colunas cromatográficas dispostas em série. A primeira coluna foi empacotada com uma resina de troca iônica (Dowex/1X8/Sigma), com diâmetro de 3 cm e altura de 30 cm. Na cromatografia de troca iônica ânions ou cátions ficam ligados covalentemente à fase estacionária sólida, geralmente uma resina, neste tipo de cromatografia. A retenção está baseada na atração entre os íons do soluto e os sítios carregados ligados à fase estacionária. Geralmente a fase estacionária é uma resina, os íons do soluto são atraídos para a fase estacionária pela força eletrostática.

A segunda foi empacotada com uma resina de exclusão molecular (Toyopearl/TSK HW-40/Supelco), com diâmetro de 2 cm e altura de 20 cm. Esta técnica separa as moléculas pelo tamanho, com os maiores solutos passando

pela fase estacionária com maior velocidade. Não há interações atrativas entre a fase estacionária e o soluto, e a fase móvel líquida passa pelo gel poroso.

#### **4.8 Cromatografia em camada delgada**

A técnica consiste em aplicar uma camada fina do adsorvente finamente pulverizado (geralmente sílica ou óxido de alumínio, às vezes adicionados de material fluorescente à luz ultravioleta) sobre uma placa lisa e plana (vidro ou alumínio). Alguns microlitros de solução da amostra a ser examinada são aplicados próximos a uma das bordas da placa, e a mesma imersa alguns milímetros em um eluente mantido em recipiente fechado. O eluente, por força da capilaridade, percorre a fase fixa em movimento ascendente, carregando consigo os componentes da amostra. Os compostos ascendem a diferentes alturas dependendo de suas estruturas moleculares.

Andrews (1996) cita a cromatografia de camada delgada, como alternativa para a detecção de lactulose. A caracterização das frações obtidas, por meio da separação em coluna foi feita com base na cromatografia de camada delgada (CCD). Nesta técnica, utilizou-se sílica gel 60 F<sub>254</sub>25 (Merck) como fase estacionária, suportada em alumínio e fase móvel constituída de água destilada (45 mL), acetato de etila (10 mL) e isopropanol (55 mL).

Foram utilizados como reveladores difenilamina (0,5 g), anilina (1 mL), ácido ortofosfórico (5 mL) que foram diluídos em 50 mL de acetona (Walkley & Tilman, 1977). As placas de CCD foram reveladas em estufa entre 100 – 105 °C, até o aparecimento de manchas características, que foram melhor visualizadas em câmara com luz ultravioleta, com base no trabalho de Saron (2003).

#### **4.9 Análise por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)**

Segundo Saron (2003) as amostras de xarope de lactulose foram analisadas por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) em um

cromatógrafo Shimadzu, modelo LC-10Ai (Shimadzu Corp. Japão) com detector de índice de refração (RID – 10ª SPD-10Ai), usando uma coluna Spherisorb Waters (NH<sub>2</sub> 5 µm, 150 mm de comprimento x 4,6 mm de diâmetro) e pré-coluna Spherisorb Waters (NH<sub>2</sub> 5 µm 10 mm de comprimento x 4,6mm de diâmetro). As condições de operação foram: temperatura ambiente (26 – 28°C), utilizado um volume de injeção de 20 µm. A fase móvel consistiu de uma mistura de água e acetonitrila na proporção de 20/80 (v/v), e eluída em um fluxo de 0,5 mL/min. As amostras foram avaliadas em triplicata.

#### 4.10 Análise colorimétrica

Foram realizadas análises de cor para as amostras de soro de ricota e para o xarope de lactulose. As leituras foram efetuadas em triplicata, utilizando 25 mL de amostra em placas de petri a 0,4 cm de distância entre a base do colorímetro e a superfície da amostra. Os valores L\*, a\* e b\* foram determinados, em colorímetro Minolta CR 400, trabalhando com D<sub>65</sub> (luz do dia) e utilizando-se os padrões CIElab, em que

L\* = mede a luminosidade e varia de 100 (cem) para superfícies perfeitamente brancas até 0 (zero) para o preto;

a\* = mede a intensidade de vermelho (+), e verde (-);

b\* = mede a intensidade de amarelo (+), e azul (-);

Os dados foram avaliados por análise de variância (ANOVA), seguida de teste de Tukey, a 5% de significância, para identificar as diferenças em casos significativos. As análises de variância e o teste de médias foram realizados no *software* Sisvar (Ferreira, 2003).

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 5.1 Composição centesimal e análises físico-químicas do soro de ricota

A Tabela 1 apresenta os resultados das médias e os desvios padrões das determinações analíticas para a composição centesimal efetuadas no soro de ricota.

TABELA 1 Composição centesimal das amostras de soro de ricota utilizadas em cada ensaio do planejamento do experimento

<b>Composição centesimal do soro de ricota</b>		
	<b>Médias das repetições</b>	<b>Desvio Padrão</b>
<b>Umidade (%)</b>	93,38	±0,11
<b>Cinzas (%)</b>	0,67	±0,04
<b>Proteína (%)</b>	0,67	±0,02
<b>Extrato Seco (%)</b>	6,67	±0,05

O soro de leite pode ser utilizado para fabricação de bebidas, sobremesas, bem como ricota, porém, ainda, resta seu subproduto, soro com alta concentração de lactose. Um dos fatores que influenciam para que um xarope de lactulose alcance maiores rendimentos são a maior incidência e o maior teor de lactose encontrado no soro, já que esta influencia diretamente no produto final. É esperado que um soro de ricota com maior teor de lactose resulte em um xarope com maior rendimento de lactulose.

Perrone (2006), trabalhando com soro de leite, oriundo da fabricação de queijos estudou a sua composição físico-química e observou valores na ordem de 6,61%; 0,73% de extrato seco e de proteína, respectivamente. De acordo com Serpa (2005), os valores para umidade e extrato seco são de 93,70% e 6,30%,

respectivamente. Linden & Lorient (1996) e Farro & Viotto (2003), em seus estudos com soro de leite proveniente da fabricação de queijo prato e minas frescal, apresentaram uma composição de 93 a 94,1% de umidade; 5,9 a 7,0% de extrato seco, 0,86 a 0,99% de proteínas.

Harper & Seiberling (1976) apresentaram valores para soro ácido entre 94 - 95% de umidade; 5 - 6 de extrato seco total e proteína de 0,6 - 1 %. Maus et al. (2007) estudaram a composição físico-química do soro de leite e encontraram valores de 5,76% para extrato seco; 0,78% para proteínas e 0,61% para cinzas. Os resultados destes estudos apresentaram similaridade, ressaltando poucas diferenças nas variações dos resultados para a composição centesimal do soro de leite.

No presente estudo, os valores de umidade determinados nos cinco ensaios experimentais variaram entre 93,25 a 93,56%, extrato seco entre 6,62 a 6,75%, proteínas entre 0,65 a 0,70% e cinzas 0,62 a 0,71%, estando estes valores próximos aos citados na literatura.

Na Tabela 2 é possível verificar os valores de gordura, pH, densidade, lactose e acidez titulável (gramas de ácido láctico) para o soro de ricota.

TABELA 2 Avaliação físico-química das amostras de soro de ricota utilizadas em cada ensaio do planejamento do experimento

<b>Análises físico-químicas do soro de ricota</b>		
	<b>Médias das repetições</b>	<b>Desvio Padrão</b>
<b>Gordura (%)</b>	0,5	±0
<b>pH</b>	6,67	±0,15
<b>Densidade</b>	1,027	±0,003
<b>Lactose (%)</b>	4,83	±0,03
<b>Acidez (g de ácido láctico)</b>	0,08	±0

Maus et al. (2007) observaram valores de 6,17 para pH, 0,09% de ácido láctico e 4,75% de lactose, em suas pesquisas com soro de leite do processamento do queijo prato. Teixeira & Fonseca (2008), estudando o perfil físico-químico de soro de queijo minas padrão, apresentaram resultados de 6,3; 12,49; 4,12; 0,68 para pH, acidez, lactose e gordura, respectivamente. Perrone (2006) encontrou valores para lactose de 5,11% e 0,6% de gordura. Serpa (2005) observou resultados de lactose e densidade de 4,99 e 1,027, respectivamente. Harper & Seiberling (1976), apresentaram valores para acidez de 0,7 a 0,8 para soro ácido. De acordo com Carvalho et al. (2007), no Brasil, a produção de soro é constituída quase que exclusivamente de soro doce, provindo da fabricação de queijos por coagulação enzimática (mussarela, prato, minas frescal, meia-cura e outros), que são os mais comercializados no país. Já o soro ácido é originário da manufatura de queijos de coagulação ácida, de consumo mais reduzido (ricota e requeijão), ressaltando, assim, variações físico-químicas encontradas no soro de queijo.

Os resultados obtidos no presente trabalho para soro de ricota foram de 0,5 % para gordura, 6,67 para pH, 4,83% de lactose, 0,08 de ácido láctico, e

densidade de 1,027, ressaltando que o soro de ricota é um soro ácido, apresentando valores de ácido láctico similares ao apresentado por estes autores.

## 5.2 Determinação de minerais do soro de ricota e do xarope de lactulose

A Tabela 3 apresenta os resultados das análises de minerais e respectivos desvios padrões encontrados no soro de ricota deste estudo.

TABELA 3 Composição média e desvio padrão de minerais do soro de ricota.

<b>Minerais</b>	<b>(mg/100g)</b>
Fósforo	36,3±0,2
Cálcio	25±0,1
Sódio	38±0,1

Saron (2003) encontrou valores para fósforo, cálcio e sódio de 38,2; 28,3 e 41,0, respectivamente, em seus estudos com permeado de soro de leite. Os resultados são similares aos encontrados no presente trabalho.

Na Tabela 4 apresentam-se os resultados para os seguintes minerais: potássio, fósforo, cálcio, ferro e sódio e seus respectivos desvios padrões.

<b>Minerais</b>	<b>(mg/100g)</b>
Potássio	31±0,04
Fósforo	55±0,2
Cálcio	93±0,09
Ferro	0,15±0,04
Sódio	92±0,2

Os resultados para composição mineral do xarope de lactulose encontrados no presente trabalho foram 31mg de potássio, 55mg de fósforo, 93mg cálcio, 0,15mg de ferro e 92mg de sódio.

### 5.3 Análises físicas e químicas do xarope de lactulose

Os resultados de umidade, pH, cinzas, proteínas, extrato seco e densidade se encontram na Tabela 5.

TABELA 5 Avaliação física e química das amostras de xarope de lactulose utilizadas em cada ensaio do planejamento do experimento

<b>Análises do Xarope de Lactulose</b>		
	<b>Desvio Padrão</b>	<b>Média</b>
<b>Umidade (%)</b>	±0,4	71,82
<b>pH</b>	±0,2	10,31
<b>Cinzas (%)</b>	±0,06	3,17
<b>Proteína (%)</b>	±0,05	1,28
<b>Extrato Seco (%)</b>	±0,4	28,18
<b>Densidade</b>	±0	1,096

As média apresentadas para as análises do xarope de lactulose foram de 71,82% de umidade; pH 10,31; cinzas 3,17%; proteína 1,28%; extrato seco 28,18% e densidade 1,096.

### 5.4 Determinação da viscosidade do xarope de lactulose

A viscosidade de um produto é definida como a resistência que o líquido oferece a certa força aplicada e dependente de vários aspectos do processo, tipo de substrato e tratamento térmico a ele aplicado (Hashimoto & Antunes, 1995).

A viscosidade aparente encontrada e o desvio padrão para o xarope de lactulose foi de  $24 \pm 0,4$  centipoise (mPa.s).

Kozempel (1996), avaliando a viscosidade de diferentes soluções de lactulose observou que à medida que se aumentava a concentração destas soluções aumentava a viscosidade.

No trabalho de Kozempel (1996), a viscosidade mais elevada pode ser explicada pela maior presença de lactulose, o que contribui para o aumento de sólidos totais no produto.

### **5.5 Separação em coluna cromatográfica e identificação por cromatografia em camada delgada**

Segundo Saron (2003), para a separação do complexo em coluna cromatográfica, foi necessária a liofilização do material da reação de isomerização.

Entre os métodos de análises as técnicas cromatográficas ocupam um lugar de destaque na química e bioquímica em razão da eficiência e facilidade na separação, identificação e quantificação das espécies químicas presentes em uma amostra, mesmo que constituída de misturas complexas.

Na cromatografia de troca iônica ânions ou cátions ficam ligados covalentemente à fase estacionária sólida, geralmente uma resina, neste tipo de cromatografia. Os íons de carga oposta do soluto são atraídos para a fase estacionária pela força eletrostática. A fase móvel é um líquido (Harris, 2001).

Na separação cromatográfica em série, a resina Dowex interage, preferencialmente, com o borato, desfazendo o complexo com a lactulose e permitindo uma separação prévia dos dois componentes.

Na segunda coluna Toyopearl, as moléculas mais volumosas como a lactulose eluem preferencialmente, garantindo a separação dos compostos. Também chamada de cromatografia de filtração de gel ou de permeação de gel,

esta técnica separa as moléculas pelo tamanho, com os maiores solutos passando por ela com maior velocidade. Ao contrário de outros tipos de cromatografia, não há interações atrativas entre a “fase estacionária” e o soluto no caso real da exclusão molecular. Mais exatamente, a fase móvel líquida ou gasosa passa pelo gel poroso (Harris, 2001).

As amostras obtidas, por meio da separação em coluna cromatográfica, foram identificadas quanto à presença ou ausência de lactulose em placas de cromatografia em camada delgada. Por causa de conveniência e rapidez, usou-se a técnica de CCD para: estabelecer se dois compostos são idênticos, verificar a pureza de um composto, determinar o número de componentes em uma mistura, determinar o solvente apropriado para separação em uma coluna cromatográfica, monitorar a separação de uma mistura em uma coluna cromatográfica ou acompanhar o progresso de uma reação.

Observa-se na Figura 4 uma placa de CCD em que foram aplicadas diferentes concentrações de padrão de lactulose (grau cromatográfico) e também, amostras obtidas da eluição da coluna cromatográfica.

Saron (2003) identificou frações de lactulose, obtidas da separação em coluna cromatográfica em placas de CCD e encontrou presença de lactulose nas frações.

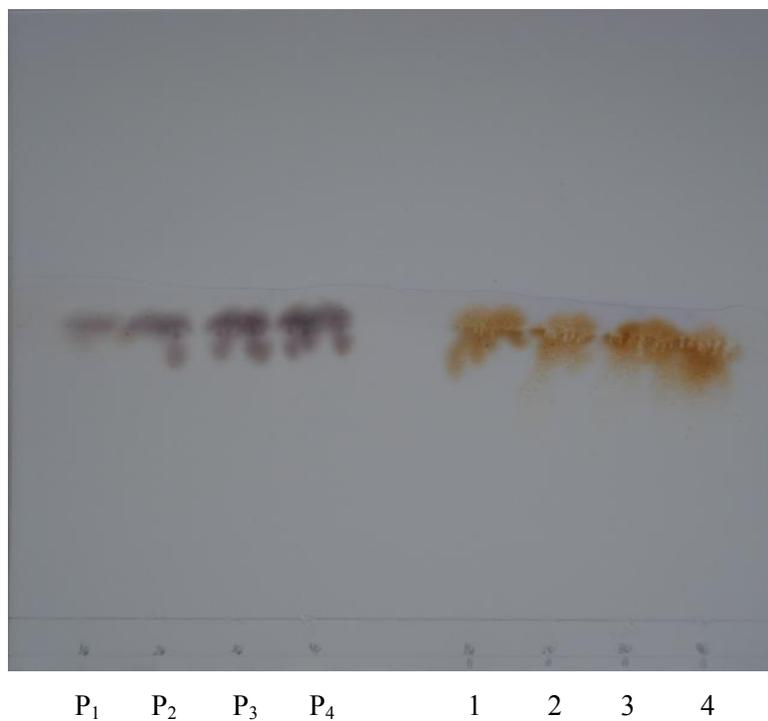


FIGURA 4 Identificação das frações de lactulose em placas de CCD. P<sub>1</sub>; P<sub>2</sub>; P<sub>3</sub>; P<sub>4</sub> – padrão de lactulose; 1, 2, 3, 4 – presença de lactulose nas frações.

### 5.6 Análise por cromatografia líquida de alta eficiência

A cromatografia líquida é importante, porque a maioria dos compostos não é suficientemente volátil para a cromatografia gasosa. Os compostos da amostra são arrastados por meio de uma fase móvel líquida que elui em uma fase estacionária sólida. O sistema utiliza uma pressão alta para forçar a passagem do solvente pelas colunas contendo partículas muito finas que proporcionam separações muito eficientes (Harris, 2001).

As amostras do xarope de lactulose foram analisadas por cromatografia líquida de alta eficiência, com o objetivo de confirmar a síntese de lactulose por

meio da reação de isomerização de lactose em lactulose e calcular o rendimento da reação de isomerização.

A síntese da lactulose foi confirmada, comparando-se o cromatograma da mistura de padrões de lactose e lactulose, com o cromatograma da amostra. As Figuras 5 e 6 representam o cromatograma do padrão de lactulose e da mistura dos padrões de lactose e lactulose.

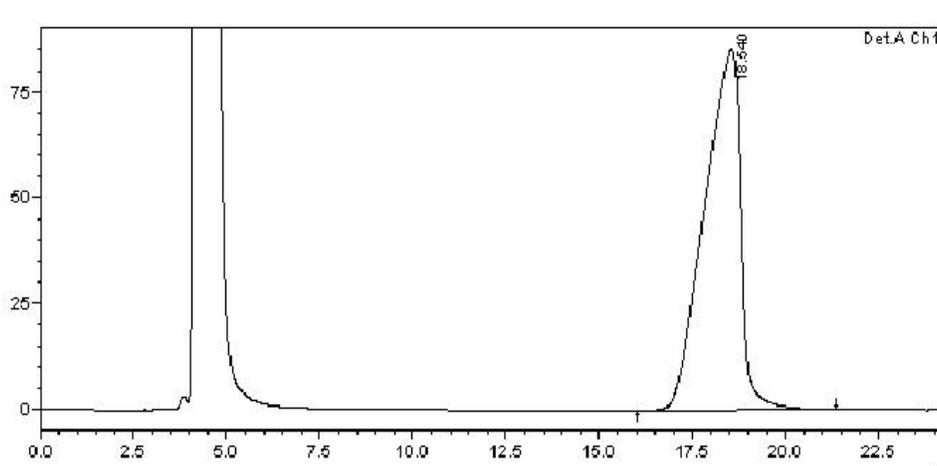


FIGURA 5 Cromatograma do padrão de lactulose

A lactulose é caracterizada por apresentar um tempo de retenção de aproximadamente 18 minutos. Saron (2003) trabalhando com aproveitamento do permeado de soro por meio da transformação da lactulose, encontrou valores similares ao presente trabalho, 18 minutos de tempo de retenção do padrão de lactulose.

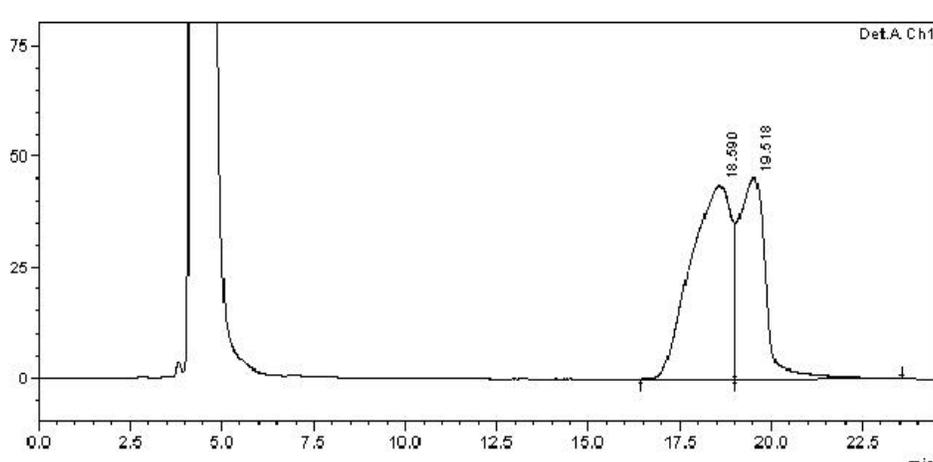


FIGURA 6 Cromatograma da mistura dos padrões de lactulose e lactose

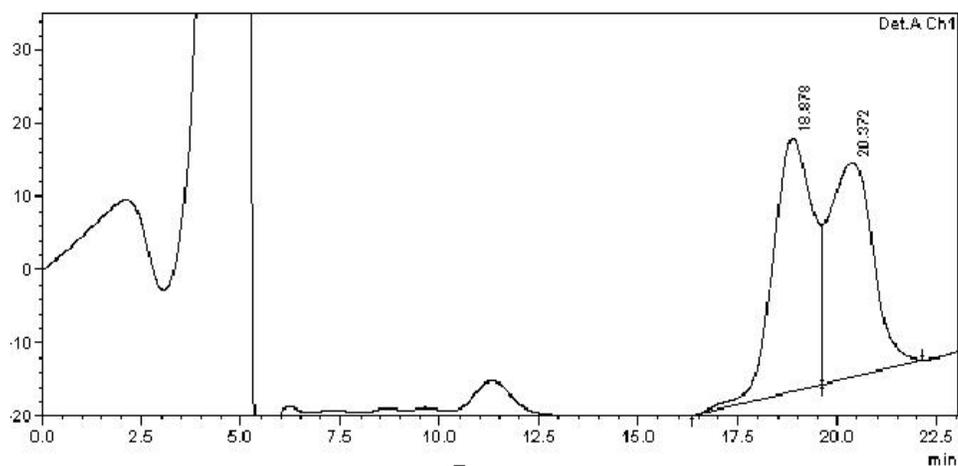


FIGURA 7 Cromatograma da amostra do xarope contendo lactose e lactulose

Observa-se, pela Figura 7, que o pico de lactulose em torno de 19 minutos é mais intenso do que o de lactose em torno de 20 minutos. Desse modo, pode-se concluir que a quantidade de lactulose é maior, apesar da absorção destes compostos serem muito próximas.

Segundo Saron (2003) com os dados obtidos desta amostra é possível calcular o rendimento da reação de isomerização, utilizando-se uma amostra que

continha frações de lactose e lactulose. Considerando-se a curva padrão desses açúcares, obteve-se o teor total de açúcar da amostra, e o rendimento da reação foi calculado pela da Equação 1. O rendimento da reação de isomerização de Saron (2003) foi em torno de 70%, no presente trabalho foi obtido um rendimento de 58%.

$$\text{Equação 1 : Rendimento da reação} = \frac{\% \text{ de lactulose}}{\% \text{ total de açúcar}} \times 100$$

### 5.7 Análise colorimétrica

Observam-se na Tabela 6, os resultados referentes à análise de variância para soro de ricota e xarope de lactulose.

TABELA 6 Cor do soro de ricota e xarope de lactulose.

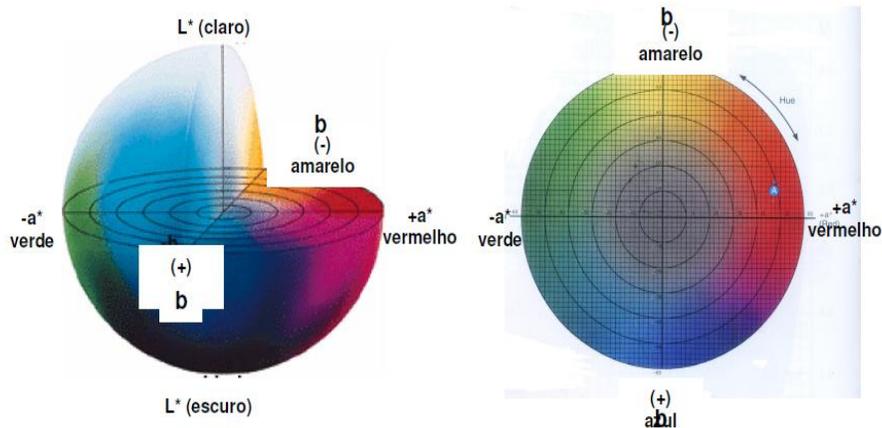
<b>Tratamentos</b>	<b>L*</b>	<b>a*</b>	<b>b*</b>
Soro de ricota *	49,6 a	- 0,99 b	- 3,97 b
Xarope de lactulose	22,27 b	4,98 a	4,46 a

Médias nas colunas seguidas por letras iguais não diferem entre si, a 5% de significância, pelo teste de Tukey.

\*soro de ricota concentrado

Nota-se, por meio da Tabela 6, que houve diferença significativa entre o soro de ricota e o xarope de lactulose a 5% de significância. A cor do xarope de lactulose apresentou-se com uma cor mais intensa de vermelho (maior valor de a\*) e com cor mais intensa de amarelo (maior valor de b\*).

A Figura 9 representa o diagrama de cores utilizado pelo colorímetro Minolta. Com os dados da Tabela 6 pode-se localizar a coloração do soro concentrado e do xarope de lactulose na Figura 9.



onde:  $L^*$  (luminosidade);  $a^*$  (eixo vermelho – verde);  $b^*$  (eixo amarelo – azul);  $\Delta E$  (variação da cor).

FIGURA 9 Diagrama de cores para análise de colorimetria

Fonte: Serpa (2005).

Os valores de  $a^*$  para o soro de ricota foram negativos em direção ao verde e apresentaram resultados similares ao estudo de Serpa (2005) que encontrou valores para  $a^*$  de (-1,68 a 0,59) e valores de  $b^*$  (-1,73 a 0,15) uma redução média na saturação do amarelo, provavelmente, em função do aumento da concentração. Serpa (2005), também, ressalta que, quando as amostras foram submetidas à determinação de cor do soro e a dos concentrados, não foi possível correlacionar esta diferença de cor com a concentração de lactose.

O xarope de lactulose apresentou menor valor de  $L^*$  o que pode ser atribuído ao fato de que o xarope possui uma cor mais intensa quando comparado a cor do soro concentrado. A diminuição da luminosidade do xarope de lactulose, provavelmente, foi em decorrência do maior tempo de concentração, uma vez que o xarope permaneceu em banho-maria durante um período 3 horas. O soro de ricota concentrado, por sua vez, apresentou maiores

valores de L\*; com tendência a ser mais claro, uma vez que o parâmetro L\* indica a luminosidade (valor zero cor preta e valor 100 cor branca) e conseqüentemente maior reflexão de luz.

## 6 CONCLUSÕES

A concentração de lactose presente no soro de ricota é um dos fatores que influenciam no rendimento do xarope de lactulose e um dos efeitos positivos é o fato do controle da concentração durante a liofilização.

A cromatografia de troca iônica e a de exclusão molecular mostraram eficiência no processo de separação do catalisador da reação; ácido bórico; além de purificar a lactulose. A cromatografia em camada delgada permitiu a identificação das frações de lactulose.

A síntese da lactulose foi confirmada por meio da cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE); foi possível calcular o rendimento da reação de isomerização com base da curva padrão dos açúcares (amostra com frações de lactose e lactulose), o rendimento ficou em torno de 58%.

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AIDER, M.; HALLEUX, D. Isomerization of lactose and lactulose production: review. **Food Science & Technology**, London, v. 18, n. 2, p. 356-364, Feb. 2007.
- AMINE, A.; MOSCONE, D.; BERNARDO, R. A.; PALLESCHI, G. A new enzymatic spectrophotometric assay for the determination of lactulose in milk. **Analytical Letters**, New York, v. 406, n. 2, p. 217-224, Feb. 2000.
- ANDREWS, G. R. Formation and occurrence of lactulose in heated milk. **Journal of Dairy Research**, Cambridge, v. 53, n. 4, p. 665-80, Nov. 1986.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS - AOAC. **Official methods of analysis of the association analytical chemists**. 18. ed. Maryland, 2005.
- BRANDÃO, C. C. C. Soro: um desafio para as fábricas de queijos. **Leites & Derivados**, São Paulo, n. 15, p. 13-19, mar./abr. 1994.
- BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Instrução Normativa nº 68, São Paulo, 12 de dezembro de 2006. Oficializa os métodos analíticos oficiais físico-químicos, para controle de leite e produtos lácteos. **Diário Oficial da União**, Brasília, 14 dez. 2006. Seção 1.
- CARMINATTI, C. A. **Ensaio de hidrólise enzimática da lactose em reator a membrana utilizando beta-galactosidase *Kluyveromyces lactis***. 2001. 79 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.
- CARVALHO, B. M. A.; CARVALHO, L. M.; ALCÂNTARA, L. A. P.; BONOMO, R. C. F. Métodos de detecção de fraude em leite por adição de soro de queijo. **Revista Electrónica de Veterinaria**, Itapetinga, v. 8, n. 6, p. 1695-7504, 2007.
- DENDENE, K.; GUIHARD, L.; NICOLAS, S.; BARIOU, B. Kinetics of lactose isomerization of lactulose in an alkaline medium. **Journal Chemistry, Technology and Biotechnology**, Oxford, v. 61, n. 3, p.37-42, Mar. 1994.
- DISCHE, Z. General color reactions. In: WHISTLER, R. L.; WOLFRAM, M. L. (Ed.). **Carbohydrate chemistry**. New York: Academic, 1962. p. 477-512.

FARRO, A. P. C.; VIOTO, L. A. Redução do teor de gordura do soro de queijo pré-tratado por microfiltração. In: CONGRESSO IBERO-AMERICANO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE MEMBRANAS, 4., 2003, Florianópolis. **Anais...** Florianópolis: CITEM, 2003. CD-ROM.

FERREIRA, D. F. **SISVAR**: sistema de análise de variância para dados balanceados, versão 4.3. Lavras: DEX-UFLA, 2003. 152 p.

FURTADO, M. M.; LOURENÇO NETO, J. P. M. **Tecnologia de queijos**: manual técnico para produção industrial de queijos. São Paulo: Dipemar, 1994. 118 p.

HARPER, W. J.; SEIBERLING, D. A. **Dairy technology and engineering**. Westport, p. 185-212. 1976.

HARRIS, D. C. **Análise química quantitativa**. 5. ed. Rio de Janeiro: Livros Técnicos e Científicos, 2001. 862 p.

HASHIMOTO, E. M; ANTUNES, L. A. F. Efeito do tratamento térmico e de culturas filantes nas características reológicas do iogurte do leite de cabra. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 15, n. 3, p. 255-61, Dez. 1995.

HICKS, K. B.; RAUPP D. L.; SMITH, P. W. Preparation and purification of lactulose from sweet cheese whey ultrafiltrate. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 32, n. 2, p. 288-292, Mar./Apr. 1984.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz**: métodos químicos e físicos para análise de alimentos. 3. ed. São Paulo, 1985. v. 1.

KOZEMPEL, M. F.; MCALOON, A.; ROTH, L. Simulated scale-up and cost estimate of a process for alkaline isomerization of lactose to lactulose using boric acid as complexation agent. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, London, v. 68, n. 2, p. 229-235, Feb. 1997.

LINDEN, G.; LORIENT, D. **Bioquímica agroindustrial**. Zaragoza: Acribia, 1996. 428 p.

LODIGIN, A. D. **Process for complex treatment of bifidogenic component from milk whey**. 1999. 126 p. Dissertation (Master of Science thesis) - Stavropol University, Stavropol.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. **Avaliação do estado nutricional das plantas:** princípios e aplicações. 2. ed. Piracicaba: Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do Fosfato, 1997. 319 p.

MARCONI, E.; MESSIA, M. C.; AMINE, A.; MOSCONEC, D.; VERNAZZAD, F.; STOCCHID, F.; PALLESCHI, G. Heat-treated milk differentiation by a sensitive lactulose assay. **Food Chemistry**, London, v. 84, n. 3, p. 447-450, Feb. 2004.

MAUS, D.; FONSECA, L. X.; RODRIGUES, R.; MACHADO, M. Caracterização físico-química de soro de leite fermentado com *Lactobacillus acidophilus ncfm*. In: ENCONTRO DE PÓS-GRADUAÇÃO, 9., 2007, Pelotas. **Anais...** Pelotas: Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, 2007. p. 1-5.

MCINTOSH, G. H.; REGESTER, G. O.; LEU, R. K. L.; ROYLE, P. J.; SMITHERS, G. W. Dairy proteins protect against Dimethylhydrazine: induce intestinal cancers in rats. **American Institute of Nutrition**, New York, v. 124, n. 6, p. 809-816, 1994.

PEREIRA, D. B. C.; SILVA, P. H. F.; COSTA JÚNIOR, L. C. G.; OLIVEIRA, L. L. **Físico-química do leite e derivados:** métodos analíticos. 2. ed. Juiz de Fora: EPAMIG, 2001. 234 p.

PERRONE, Í. T. **Efeito da nucleação secundária sobre a cristalização do doce de leite.** 2006. 49 p. Dissertação (Mestrado Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.

SARON, M. L. G. **Aproveitamento do permeado de soro de leite bovino através da transformação da lactose em lactulose e como ingrediente para meios de culturas de bactérias probióticas.** 2003. 107 p. Dissertação (Mestrado em Alimentos e Nutrição) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

SERPA, L. **Concentração de proteínas do soro de queijo por evaporação a vácuo e ultrafiltração.** 2005. 116 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai a das Missões, Erechim.

TEIXEIRA, L. V. FONSECA, L. M. Perfil físico-químico do soro de queijos mozzarella e minas-padrão produzidos em várias regiões do estado de Minas Gerais. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 60, n. 1, p. 243-250, jan. 2008.

WALKLEY, J. W.; TILLMAN, J. A simple thin-layer chromatographic technique for the separation of and oligosaccharides. **Journal of Chromatography**, Amsterdam, v. 132, n. 1, p. 172-174, Feb. 1977.

WALSTRA, P.; GEURTS, T. J.; NOOMEN, A.; JELLEMA, A.;BOEKEL, M. A. J. S. **Ciencia de la leche y tecnología de los productos lácteos**. Zaragoza: Acribia, 2001. 729 p.

ZOKAEE, F.; KAGHAZCHI, T.; ZARE, A.; SOLEMANI, M. Isomerization of lactose to lactulose: study and comparision of there catalytic systems. **Process Biochemistry**, London, v. 37, n. 6, p. 629-635, June 2002.

## **CAPÍTULO 3**

### **INFLUÊNCIA DO XAROPE DE LACTULOSE NAS CARACTERÍSTICAS SENSORIAIS DE IOGURTE E QUEIJO QUARK**

## 1 RESUMO

A análise sensorial é um campo muito importante na indústria de alimentos, pois contribui para inúmeras atividades, como desenvolvimento de novos produtos, aspectos analíticos e sensoriais. Este estudo objetivou verificar a aceitação através de testes sensoriais de diferentes formulações de iogurte e queijo quark; ambos os produtos foram adicionados de lactulose, caracterizando-se prebióticos e para fins especiais, como alternativa para uma alimentação mais saudável. A partir desta proposta foram elaborados um iogurte e um queijo quark adicionados de lactulose e fermentados por microrganismos probióticos. A associação de prebióticos (lactulose) com probióticos caracteriza os produtos como simbióticos. Para tanto, foram realizados cinco ensaios, incluindo concentrações diferentes de lactulose. Os resultados foram analisados por meio das respostas sensoriais dos consumidores, obtidas pelo teste de aceitação, utilizando análise de variância, teste de médias e histogramas de frequência. Para o iogurte pode-se perceber que apenas o atributo aparência houve diferença significativa entre os tratamentos ( $p \leq 0,05$ ) 1 e 3; para o queijo quark não houve diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ) entre os cinco tratamentos. Com base nos resultados obtidos, pode-se concluir que os objetivos propostos foram atingidos, houve grande aceitabilidade dos produtos com adição de lactulose, podendo classificá-los como produtos para fins especiais como sendo funcional. Observou-se a importância do conhecimento das características da lactulose; respeitando a quantidade máxima permitida pela legislação.

Palavras-chave : teste de aceitação, lactulose, simbióticos.

## 2 ABSTRACT

Sensorial analysis is a very important field in the food industry because it contributes to countless activities, such as new product development and analytical and sensorial aspects. This study aimed to verify the acceptance of different yogurt formulations and quark cheese through sensorial tests; both products were added with lactulose, characterizing them as prebiotic and special purpose, as an alternative for a healthier alimentation. Starting from this proposal a yogurt and a quark cheese added with lactulose were elaborated and fermented by probiotic microorganisms. The prebiotic association (lactulose) with probiotics characterizes the products as symbiotic. For such, five assays were conducted, including different concentrations of lactulose. The results were analyzed through the consumer sensorial responses, obtained by the acceptance test, using variance analysis, test of averages and frequency histograms. For the yogurt, it can be noticed that only the attribute, appearance, had significant difference among the treatments ( $p \leq 0.05$ ) 1 and 3; for the quark cheese, there was no significant difference ( $p \leq 0.05$ ) among the five treatments. Based on the obtained results, it can be concluded that the proposed objectives were reached, there was high acceptability of the products with lactulose addition, being able to classify them as being functional special purpose products. Knowledge of the importance of the lactulose characteristics was observed; respecting the maximum amount allowed by the legislation.

Keywords: acceptance test, lactulose, symbiotic

### 3 INTRODUÇÃO

O apelo por produtos com características de qualidade que apórtam ganhos fisiológicos aos consumidores, além das exigidas vantagens nutricionais, é a nova fronteira de expansão no mercado de alimentos processados. A crescente demanda por alimentos funcionais tem impulsionado o mercado de produtos lácteos no Brasil, em especial no que diz respeito a leites fermentados (Martins & Burkert, 2009).

A indústria de laticínios está entre as que apresentam maior crescimento na disponibilização de produtos com alegações de propriedades funcionais, em especial nos segmentos de iogurtes e outros leites fermentados, que utilizam microrganismos probióticos e substâncias prebióticas.

Para Lifran et al. (2000) lactulose e outros oligossacarídeos podem ser úteis como prebióticos, pelo motivo de não serem absorvidos pelo intestino delgado e alcançarem o cólon, onde estimulam o crescimento de bactérias probióticas, tais como *Lactobacillus* ssp. e *Bifidobacterium* ssp.

A lactulose é um açúcar que não pode ser metabolizado por humanos ou animais, devido à ausência da atividade enzimática no intestino capaz de romper as ligações galactose-frutose. Por este motivo, a lactulose migra para o intestino grosso, onde é utilizada preferencialmente pelas bifidobactérias, que promovem uma série de efeitos desejáveis (Modler et al., 1990).

Os prebióticos podem ser definidos como substâncias não digeríveis que oferecem um efeito fisiológico benéfico ao hospedeiro, estimulando seletivamente o crescimento favorável ou a atividade de um número limitado de bactérias desejáveis. Os probióticos são microorganismos vivos que, quando administrados em quantidades apropriadas, conferem benefício à saúde do hospedeiro; a incorporação destes microrganismos em produtos lácteos pode

resultar em um extraordinário valor terapêutico. A associação destes ingredientes dá origem a um produto simbiótico que pode aumentar as chances de crescimento e colonização das bactérias probióticas no organismo humano.

Os métodos disponíveis para análise de qualidade em produtos lácteos envolvem testes químicos, físicos, microbiológicos e sensoriais. A melhoria da qualidade sensorial dos produtos deve ser uma meta da indústria, pois contribui para assegurar aceitação e liderança do produto no mercado (Ferreira, 2009).

Entre os testes sensoriais disponíveis para medir a aceitação e preferência dos consumidores com relação a um ou mais produtos, a escala hedônica, a escala de atitude e a do ideal são as mais utilizadas. Para análise dos dados, pode-se trabalhar com porcentagens de julgadores que responderam para cada categoria específica de cada atributo avaliado (Minim, 2006).

A escala hedônica estruturada de nove pontos, é provavelmente o método afetivo mais utilizado, devido à confiabilidade e a validade de seus resultados, bem como sua simplicidade em ser utilizada pelos provadores (Stone & Sidel, 1993).

O número de novos produtos lácteos está, em todo o mundo, crescendo a uma taxa muito superior à de qualquer outra categoria de alimentos. Isto porque os derivados de leite se inserem perfeitamente na atual tendência de valorização da saúde.

Neste estudo objetivou-se verificar a aceitação de formulações de iogurte e queijo quark adicionados de lactulose e culturas probióticas por meio das respostas sensoriais dos consumidores, obtidas por teste de aceitação, utilizando análise de variância, teste de media e histogramas de frequência.

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 Utilização da lactulose na elaboração de iogurte

#### 4.1.1 Delineamento experimental

Foi avaliada a influência da porcentagem de lactulose sobre a qualidade sensorial do iogurte. (Tabela 1). Os níveis avaliados foram: 0,0%; 0,2%; 0,4%; 0,6%; 0,8% de lactulose conforme a Tabela 1.

TABELA 1 Fator e níveis estudados

Fator	Níveis (g/100mL)
Lactulose*	0,0; 0,2; 0,4; 0,6; 0,8.

\*A quantidade máxima de lactulose a ser adicionada em produtos alimentícios é de 3g/100mL. (Anvisa, 1999).

#### 4.1.2 Processo de fabricação do iogurte

O processamento do iogurte foi desenvolvido experimentalmente na planta piloto de laticínios do Departamento de Ciências dos Alimentos da Universidade Federal de Lavras.

Para obtenção do iogurte foram utilizadas as seguintes culturas lácticas:

- Cultura Tradicional termofílica: fermento láctico Sacco®, que é uma cultura tradicional de iogurte composta por duas cepas de bactérias lácticas superconcentradas – *Lactobacillus delbrueckii* ssp *bulgaricus* e *Streptococcus thermophilus* - Campinas – SP.

• Cultura Probiótica: fermento lácteo probiótico constituído de culturas seleccionadas e superconcentradas de *Lactobacillus acidophilus* SAB 440A, *Lactobacillus paracasei* ssp *paracasei* BGP 93 e *Bifidobacterium longum* BLC 1 denominados neste trabalho como 440A,, BGP 93 e BLC 1 respectivamente, todos fornecidos pela Sacco ® - Campinas – SP.

O iogurte foi elaborado seguindo metodologia tradicional descrita por Rodrigues (1998), de acordo com o fluxograma apresentado na Figura 2, onde foram adicionadas diferentes concentrações de xarope de lactulose (0,0%, 0,2%, 0,4%, 0,6% e 0,8%), totalizando cinco tratamentos. A diferença entre as amostras de iogurte se limitou a proporção de lactulose. A Figura 1 ilustra o fluxograma de processamento do produto.

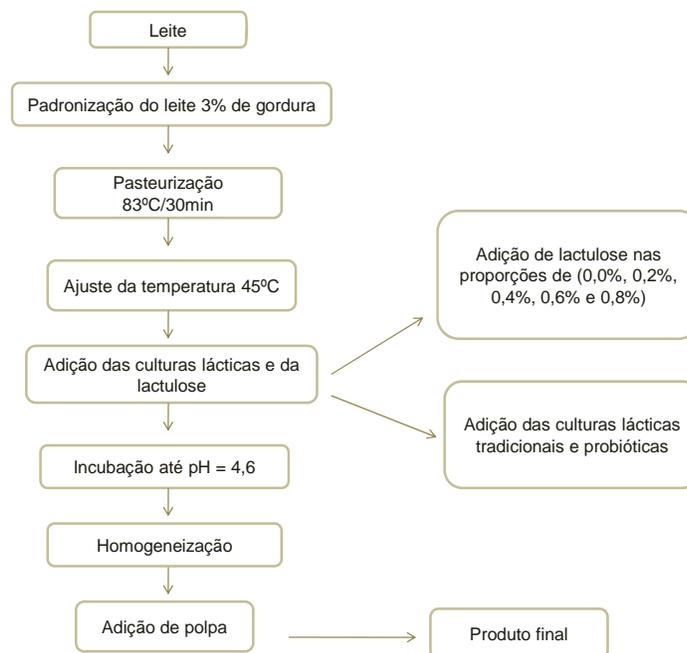


FIGURA 1 Fluxograma de produção do iogurte.

Para a elaboração do iogurte adicionou-se para cada litro de leite padronizado (3% de gordura), 10% de açúcar refinado e 2% de leite em pó. Em seguida os ingredientes foram homogeneizados e submetidos ao processo de pasteurização à temperatura de 83 °C por 30 minutos. A mistura foi resfriada até atingir a temperatura de 45 °C para receber as culturas lácticas e a lactulose em condições assépticas. Após a adição das culturas e do xarope de lactulose o leite foi mantido a temperatura de 45 °C em BOD até atingir pH = 4,6. Após o processo de fermentação, as diferentes amostras de iogurtes foram resfriadas e armazenadas em ambiente refrigerado à 4 °C. As combinações da adição de lactulose e respectiva percentagem utilizada no presente trabalho foram respeitadas segundo Anvisa (1999).

## **4.2 Análise sensorial**

### **4.2.1 Teste de aceitação do iogurte**

Nesta etapa foram avaliados os iogurtes com (0,0%, 0,2%, 0,4%, 0,6% e 0,8%) de lactulose, conforme fluxograma apresentado na Figura 1, sendo que cada iogurte correspondia a um tratamento.

Após a fabricação os iogurtes foram oferecidos a 60 consumidores potenciais de iogurte (provadores não treinados), nas seguintes condições: em cabines individuais, em copos descartáveis brancos, codificados com algarismos de três dígitos retirados de uma tabela de números aleatórios, em ordem balanceada de apresentação, com 30 mL de amostra, em temperatura de aproximadamente 6 °C. Foi servida água mineral, em temperatura ambiente para que os provadores lavassem o palato, entre uma amostra e outra. Os atributos avaliados foram (sabor, textura, aparência e impressão global) julgados por meio de uma escala hedônica estruturada de 9 pontos (1=desgostei extremamente a 9=gostei extremamente) (Meilgaard et al., 1990). Na Figura 2 tem-se a ficha utilizada na realização da análise.

NOME \_\_\_\_\_ DATA \_\_\_\_\_

Por favor, avalie as amostras de iogurte utilizando a escala abaixo para descrever o quanto você gostou ou desgostou, em relação aos atributos COR, SABOR, TEXTURA, APARÊNCIA e IMPRESSÃO GLOBAL.

(1) Desgostei extremamente  
(2) Desgostei muito  
(3) Desgostei moderadamente  
(4) Desgostei ligeiramente  
(5) Indiferente  
(6) Gostei ligeiramente  
(7) Gostei moderadamente  
(8) Gostei muito  
(9) Gostei extremamente

Código						
COR						
SABOR						
TEXTURA						
APARÊNCIA						
IMPRESSÃO GLOBAL						

FIGURA 2 Modelo da ficha utilizada no teste de aceitação

As amostras foram disponibilizadas em ordem balanceada, em blocos casualizados completos, em que cada provador constituiu um bloco.

### 4.3 Análise estatística dos resultados

Foi utilizada análise de variância, teste de médias e histogramas de frequência para a análise dos resultados.

#### 4.3.1 Teste de médias

Os ensaios foram avaliados por análise de variância (ANOVA), seguida de teste de Tukey, a 5% de significância, para identificar as diferenças em casos significativos. As análises de variância e o teste de médias foram realizados no *software* Sisvar (Ferreira, 2003).

#### 4.3.2 Análise por meio de histograma de frequências

Com base nos resultados do teste com escala hedônica (estruturada de nove pontos) foram construídos histogramas de frequência, para melhor observar a frequência de cada atributo. Para a construção dos histogramas trabalhou-se

com as porcentagens de julgamento de cada categoria (nota) específica, de acordo com as escalas utilizadas; as notas foram divididas em três blocos, 1-4, 5 e 6-9, que correspondem a desgostei extremamente a desgostei ligeiramente, indiferente e gostei ligeiramente a gostei extremamente, respectivamente.

#### **4.4 Utilização da lactulose na elaboração de queijo quark**

##### **4.4.1 Delineamento experimental**

Foi avaliada a influência da porcentagem de lactulose sobre a qualidade sensorial do queijo quark. Os níveis avaliados foram: 0,0%; 0,2%; 0,4%; 0,6%; 0,8% de lactulose conforme a Tabela 2.

TABELA 2 Fator e níveis estudados

<b>Fator</b>	<b>Níveis (g/100mL)</b>
Lactulose*	0,0; 0,2; 0,4; 0,6; 0,8.

\*A quantidade máxima de lactulose a ser adicionada em produtos alimentícios é de 3g/100 mL. (Anvisa, 1999).

##### **4.4.2 Processo de fabricação do queijo quark**

O processamento do queijo quark foi desenvolvido experimentalmente na planta piloto de laticínios do Departamento de Ciências dos Alimentos da Universidade Federal de Lavras.

Para obtenção do queijo foram utilizadas as seguintes culturas lácticas:

- Cultura Tradicional mesofílica: fermento láctico Sacco®, que é uma cultura tradicional de iogurte composta por duas cepas de bactérias lácticas

superconcentradas – *Lactococcus lactis ssp cremoris* e *Lactococcus lactis ssp lactis*, - Campinas – SP.

- Cultura probiótica: fermento lácteo probiótico constituído de culturas selecionadas e superconcentradas de *Lactobacillus acidophilus* SAB 440A, *Lactobacillus paracasei ssp paracasei* BGP 93 e *Bifidobacterium longum* BLC 1 denominados neste trabalho como 440A,, BGP 93 e BLC 1 respectivamente, todos fornecidos pela Sacco ® - Campinas – SP.

O queijo foi elaborado seguindo metodologia tradicional descrita por Albuquerque (2002), de acordo com o fluxograma apresentado na Figura 3, onde foram adicionadas diferentes concentrações de lactulose (0,0%, 0,2%, 0,4%, 0,6% e 0,8%), totalizando cinco tratamentos. A diferença entre as amostras de queijo quark se limitou a proporção de lactulose.

Para a elaboração do queijo quark adicionou-se para cada litro de leite desnatado logo após a pasteurização, 0,4 mL de cloreto de cálcio (solução de 50%). Após a adição das culturas lácticas mesofílicas, as culturas probióticas citadas anteriormente e do cloreto de cálcio a mistura foi homogeneizada e deixada fermentar por 20 horas á temperatura de 25 °C. Ao

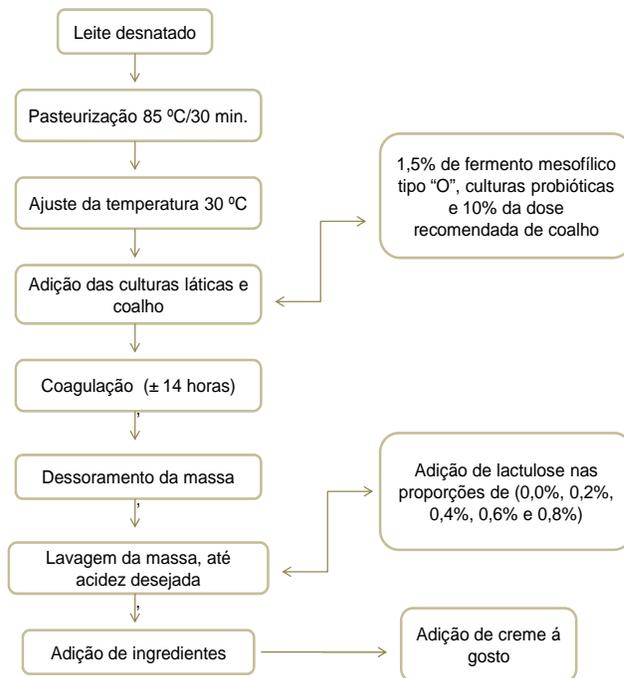


FIGURA 3 Fluxograma de produção do queijo quark

final da fermentação, a massa deverá ter acidez entre 95g ácido láctico – 110g ácido láctico e soro, 55 g ácido láctico - 60 g ácido láctico. Terminada a fermentação a massa foi quebrada e a coalhada seguida de uma agitação por 15 minutos. A dessoragem da massa foi realizada em dessoradores em inox com sacos de pano devidamente esterilizados. Depois de concentrada, a massa é resfriada a uma temperatura de 7 °C, a massa então foi adicionada de creme pasteurizado e sal iodado nas seguintes proporções:

- creme em quantidade suficiente para padronização da massa com teor de gordura de 9,0 a 9,5 %.;
- sal iodado na proporção de 2%.

O creme pasteurizado e o sal foram adicionados na massa após a pasteurização e o resfriamento, que foi misturada com auxílio de uma batedeira planetária.

NOME _____		DATA _____			
Por favor, avalie as amostras de queijo quark utilizando a escala abaixo para descrever o quanto você gostou ou desgostou, em relação aos atributos COR, SABOR, TEXTURA, APARÊNCIA e IMPRESSÃO GLOBAL.					
(1)Desgostei extremamente					
(2)Desgostei muito					
(3)Desgostei moderadamente					
(4)Desgostei ligeiramente					
(5)Indiferente					
(6)Gostei ligeiramente					
(7)Gostei moderadamente					
(8)Gostei muito					
(9)Gostei extremamente					

FIGURA 4 Modelo da ficha utilizada no teste de aceitação

## 4.5 Análise sensorial

### 4.5.1 Teste de aceitação do queijo quark

Nesta etapa foram avaliados as fabricações de queijo quark com proporções de (0,0%, 0,2%, 0,4%, 0,6% e 0,8%) de lactulose, conforme fluxograma apresentado na Figura 3, sendo que cada queijo correspondia a um tratamento.

Após a fabricação os queijos foram oferecidos a 60 consumidores potenciais de queijo quark (provedores não treinados), as amostras foram servidas nas seguintes condições: em cabines individuais, em copos descartáveis brancos, codificados com algarismos de três dígitos retirados de uma tabela de números aleatórios, em ordem balanceada de apresentação, com 30g de amostra, em temperatura de aproximadamente 6 °C. As amostras foram servidas

juntamente com uma torrada, visto que o queijo quark possui maior teor de umidade. Foi servida água mineral, em temperatura ambiente para que os provadores lavassem o palato, entre uma amostra e outra. Os atributos avaliados foram (sabor, textura, aparência e impressão global) julgados por meio de uma escala hedônica estruturada de 9 pontos (1=desgostei extremamente a 9= gostei extremamente) (Meilgaard et al., 1990).

As amostras foram disponibilizadas em ordem balanceada, em blocos casualizados completos, em que cada provador constituiu um bloco.

#### **4.6 Análise estatística dos resultados**

Foi utilizada análise de variância, teste de médias e histogramas de frequência para a análise dos resultados.

##### **4.6.1 Teste de médias**

Os ensaios foram avaliados por análise de variância (ANOVA), seguida de teste de Tukey, a 5% de significância, para identificar as diferenças em casos significativos. As análises de variância e o teste de médias foram realizados no *software* Sisvar (Ferreira, 2003).

##### **4.6.2 Análise por meio de histograma de frequências**

Com base nos resultados do teste com escala hedônica (estruturada de nove pontos) foram construídos histogramas de frequência, para melhor observar a frequência de cada atributo. Para a construção dos histogramas trabalhou-se com as porcentagens de julgamento de cada categoria (nota) específica, de acordo com as escalas utilizadas; as notas foram divididas em três blocos, 1-4, 5 e 6-9, que correspondem a desgostei extremamente a desgostei ligeiramente, indiferente e gostei ligeiramente a gostei extremamente, respectivamente.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 5.1 Avaliação das formulações de iogurte pela ANOVA e teste de médias

As médias das notas atribuídas pelos provadores para os atributos sensoriais de aparência, sabor, textura e aspecto global encontram-se na Tabela 4.

TABELA 4 Média das notas \* atribuídas pelos provadores para aparência, sabor, textura e aspecto global.

<b>Tratamentos</b>	<b>Aparência</b>	<b>Sabor</b>	<b>Textura</b>	<b>Aspecto Global</b>
0,0%	7,6 a	7,10 a	7,17 a	7,27 a
0,2%	7,32 ab	6,88 a	7,07 a	6,87 a
0,4%	6,93 b	6,72 a	7,03 a	6,78 a
0,6%	7,38 ab	7,16 a	7,27 a	7,23 a
0,8%	7,28 ab	6,93 a	7,35 a	7,02 a
CV (%)	16,90	22,91	17,91	19,67

Médias nas colunas seguidas por letras iguais não diferem entre si, a 5% de significância, pelo teste de Tukey; CV% = coeficiente de variação;

\*Atributos sensoriais: 1-desgostei extremamente a 9-gostei extremamente

De um modo geral, as notas médias das amostras situaram-se na escala hedônica entre 6 e 9 (região da categoria gostei ligeiramente e gostei extremamente, respectivamente), apresentando alto índice de aceitabilidade.

Pode-se perceber que apenas para o atributo aparência houve diferença significativa entre as amostras ( $p \leq 0,05$ ) 1 e 3. O tratamento 1 não houve adição de lactulose e o tratamento 3 houve adição de 0,4% de lactulose. Essa concentração de lactulose pode ter interagido com a polpa de morango fazendo com que a aparência fosse menos aceita pelos provadores em relação aos outros tratamentos.

### 5.1.2 Histograma de frequências

Para a análise dos dados obtidos da escala hedônica construíram-se histogramas de frequência para o iogurte. O histograma de distribuição de frequências das notas da escala hedônica atribuídas para sabor e aparência é mostrado na Figura 5.

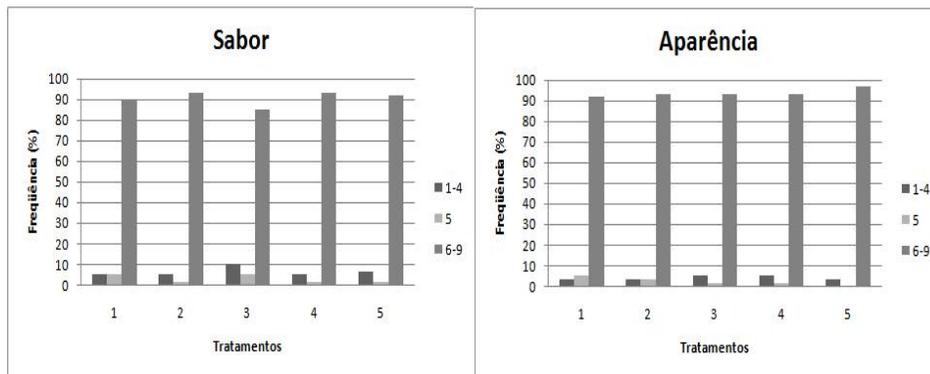


FIGURA 5 Histogramas de distribuição de notas recebidas pelas amostras em relação ao sabor e aparência das amostras de iogurte.

Pode-se observar que os atributos sabor e aparência receberam notas de frequência entre 6 (gostei ligeiramente) e 9 (gostei extremamente). Os tratamentos 2 (0,2% de lactulose) e 4 (0,6% de lactulose) apresentaram maior número de julgamentos para o atributo sabor. Quanto à aparência, o tratamento 5 (0,8% de lactulose) apresentou maior média, já que a amostra apresentou o maior número de julgamentos.

O histograma de distribuição de frequências das notas da escala hedônica atribuídas para textura e aspecto global é mostrado na Figura 6.

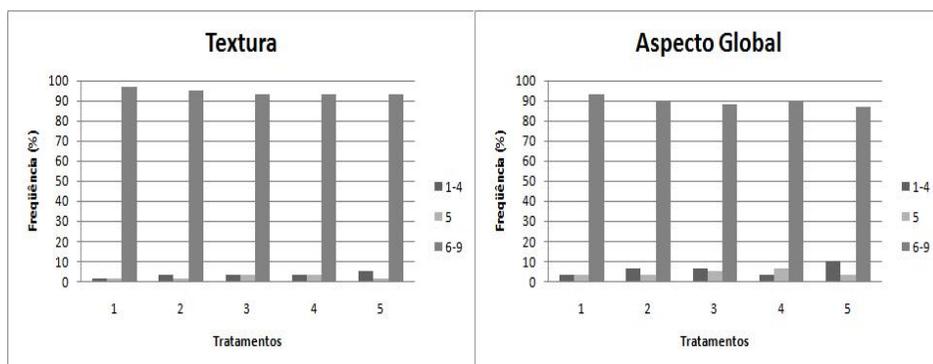


FIGURA 6 Histogramas de distribuição de notas recebidas pelas amostras em relação á textura e aspecto global das amostras de iogurte.

Quanto á textura, o tratamento 1 (sem adição de lactulose) apresentou maior índice de aprovação, recebendo as maiores porcentagens de respostas entre 6 (gostei ligeiramente) e 9 (gostei extremamente). A adição de lactulose nos demais tratamentos pode ter influenciado na textura do produto final.

Observa-se que para o aspecto global o tratamento 1 (sem adição de lactulose) recebeu as maiores médias, ressaltando que este tratamento foi melhor aceito que os demais tratamentos com adição de lactulose.

## 5.2 Avaliação das formulações de queijo quark pela ANOVA e teste de médias

TABELA 5 Média das notas atribuídas pelos provadores para cor, aparência, sabor, textura e aspecto global.

Tratamentos	Cor	Aparência	Sabor	Textura	Aspecto Global
0,0%	7,58 a	7,53 a	7,05 a	7,18 a	7,43 a
0,2%	7,52 a	7,22 a	7,28 a	7,33 a	7,38 a
0,4%	7,67 a	7,25 a	7,18 a	7,08 a	7,27 a
0,6%	7,52 a	7,23 a	6,95 a	7,17 a	7,23 a
0,8%	7,38 a	7,03 a	6,87 a	7,10 a	6,87 a
CV (%)	16,61	18,46	21,98	19,59	17,96

Médias nas colunas seguidas por letras iguais não diferem entre si, a 5% de significância, pelo teste de Tukey.

Atributos sensoriais: 1-desgostei extremamente a 9-gostei extremamente

Tratamentos: 1, 2, 3, 4, e 5: 0,0%, 0,2%, 0,4%, 0,6% e 0,8% respectivamente

De um modo geral, as amostras situaram-se entre 6 (gostei ligeiramente) e 7 (gostei moderadamente). As amostras não diferiram entre si ( $p \leq 0,05$ ) em relação aos parâmetros de cor, aparência, sabor, textura e aspecto global.

Ressalta-se que os cinco tratamentos não apresentaram diferença significativa, a 5% de significância; portanto, percebe-se que a concentração de lactulose não influenciou na aceitação das amostras, pois estas amostras apresentavam porcentagens de lactulose de (0,2; 0,4; 0,6; e 0,8%), nota-se também que não houve maior aceitação do tratamento 1 (sem adição de lactulose), quando comparado aos outros quatro tratamentos. Houve uma boa aceitabilidade das amostras independente da concentração de lactulose.

### 5.2.1 Histograma de frequências

Para a análise dos dados obtidos da escala hedônica construíram-se histogramas de frequência. O histograma de distribuição de frequências das notas da escala hedônica atribuídas para cor e aparência é mostrado na Figura 7.

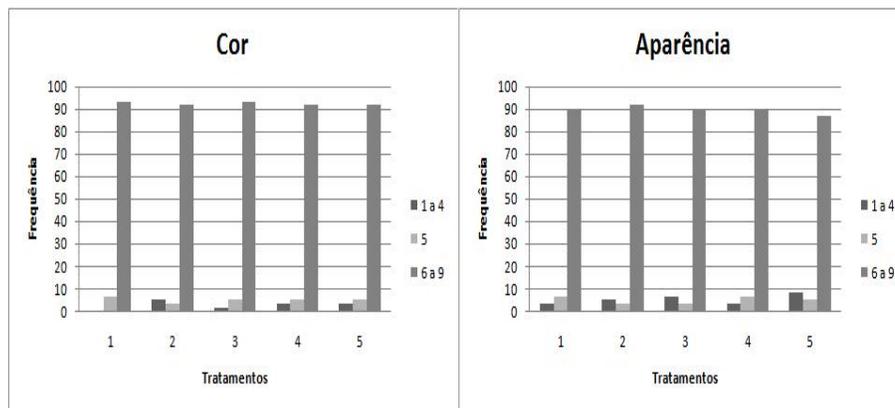


FIGURA 7 Histogramas de distribuição de notas recebidas pelas amostras em relação à cor e aparência das amostras de queijo quark

Pode-se observar que para os atributos cor e aparência os cinco tratamentos apresentaram frequências maiores, com notas entre 6 (gostei ligeiramente) e 9 (gostei extremamente), sendo que a amostra 1 recebeu o maior número de julgamentos para cor e a amostra 2 para aparência, em relação as demais amostras.

O histograma de distribuição de frequências das notas da escala hedônica atribuídas para sabor e textura é mostrado na Figura 8.

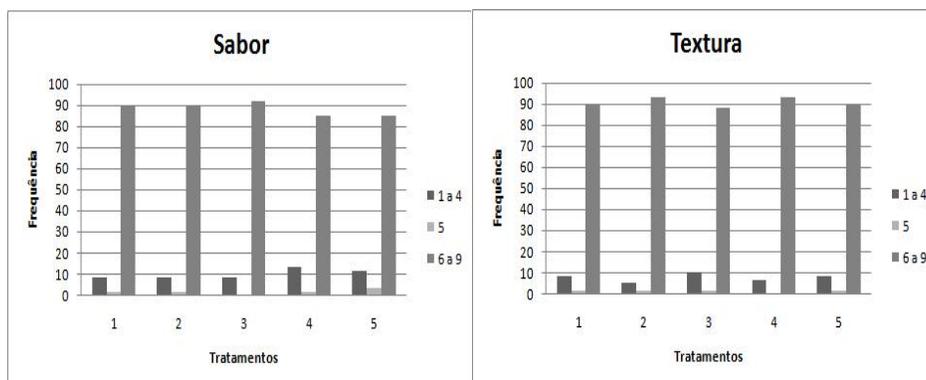


FIGURA 8 Histogramas de distribuição de notas recebidas pelas amostras em relação ao sabor e textura das amostras de queijo quark

Os cinco tratamentos receberam maiores frequências de respostas para sabor e textura na categoria 6 (gostei ligeiramente) e 9 (gostei extremamente). A amostra 3 recebeu a maior porcentagem (92%) das respostas entre as notas 6 e 9, sendo que este tratamento recebeu 0,6% de lactulose, apresentando a preferência dos provadores. As amostras 4 e 5 apresentaram maior porcentagem de respostas entre a categoria 1 (desgostei extremamente) e 4 (desgostei ligeiramente), estas amostras receberam a maior porcentagem de lactulose, pode-se observar que os provadores conseguiram identificar esta maior concentração, o que caracteriza o produto como sendo mais doce.

Para a textura os tratamentos 2 e 4 apresentaram maiores frequências de respostas entre as notas 6 e 9.

A Figura 9 representa o histograma de distribuição frequência das notas para escala hedônica para aspecto geral.

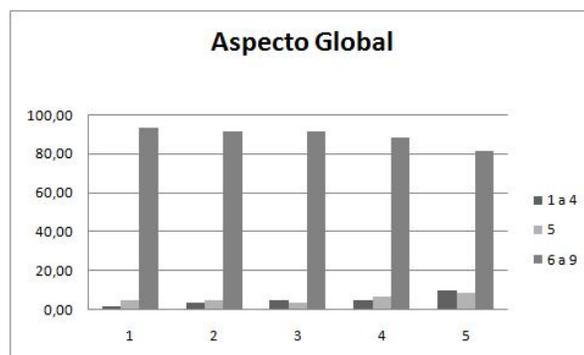


FIGURA 9 Histogramas de distribuição de notas recebidas pelas amostras em relação ao aspecto global das amostras de queijo quark

Para o aspecto global os tratamentos 1 (sem adição de lactulose) e o 3 (0,4% de lactulose) apresentaram a maior frequência de notas entre 6 e 9.

## **6 CONCLUSÕES**

Houve grande aceitabilidade do iogurte e do queijo quark com adição de lactulose. Para o iogurte somente o atributo aparência apresentou diferença em alguns tratamentos; para o queijo quark não houve diferença significativa entre as amostras. Pode-se concluir que os objetivos propostos foram atingidos, havendo grande aceitabilidade dos produtos com adição de lactulose, podendo classificá-los como produtos para fins especiais como sendo funcional. O emprego de lactulose na fabricação de iogurte e queijo quark é viável.

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Portaria n° 398, de 30 de abril de 1999. Aprova o regulamento técnico que estabelece as diretrizes básicas para análise e comprovação de propriedades funcionais e ou de saúde alegadas em rotulagem de alimentos. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, 3 maio 1999.

ALBUQUERQUE, L. C. **Os queijos no mundo**: Juiz de Fora: Templo, 2002. v. 2.

FERREIRA, D. F. **SISVAR**: sistema de análise de variância para dados balanceados, versão 4.3. Lavras: DEX-UFLA, 2003. 152 p.

FERREIRA, L. O. **Elaboração de doce de leite com café e soro**. 2009. 107 p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.

LIFRAN, E. V.; HOURIGAN, J. A.; SLEIGH, R. W. J. New whey for lactose. **Food Australia**, North Sydney, v. 52, n. 4, p. 120-125, Apr. 2000.

MARTINS, A. R.; BURKERT, C. A. V. Revisão galacto-oligossacarídeos (GOS) e seus efeitos prebióticos e bifidogênicos. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 12, n. 3, p. 230-240, jul./set. 2009.

MEILGAARD, M.; CIVILLE, G. V.; CARR, B. T. **Sensory evaluation techniques**. Boca Raton: CRC, 1990. 281 p.

MINIM, V. P. R. **Análise sensorial**: estudos com consumidores. Viçosa, MG: UFV, 2006. 225 p.

MODLER, H. W.; MCKELLAR, R. C.; YAGUCHI, M. Bifidobacteria and bifidogenic factors. **Canadian Institute of Food Science and technology Journal**, Ottawa, v. 23, n. 1, p. 29-41, Jan. 1990.

RODRIGUES, F. C. **Guia prático para elaboração de iogurte e bebida láctea**: curso básico para iniciantes. Juiz de Fora: Instituto de Laticínios Cândido Tostes/EPAMIG, 1998. 50 p.

STONE, H. S.; SIDEL, J. L. **Sensory evaluation practices.** San Diego:  
Academic, 1993. 308 p.