

## Efeito da hidrólise da lactose e da homogeneização do leite nas características do doce de leite pastoso

*Lactose hydrolysis and milk homogenization effects on the pasty dulce de leche characteristics*

Caroline Barroso dos Anjos Pinto<sup>1</sup>

Isis Rodrigues Toledo Renhe<sup>2</sup>

Carolina Carvalho Ramos Viana<sup>2</sup>

Ítalo Tuler Perrone<sup>3</sup>

Luiz Fernando Cappa de Oliveira<sup>3</sup>

Rodrigo Stephani<sup>4</sup>

DOI:

Enviado em: 24/06/2020.

Aprovado em: 04/09/2020.

### Resumo

Produtos lácteos zero lactose têm se tornado cada vez mais recorrentes no mercado nos últimos anos, devido às pessoas intolerantes à lactose ou mesmo aquelas que optam por uma dieta restritiva sem este carboidrato. Na produção do doce de leite, a hidrólise da lactose pode promover algumas modificações no produto, destacando-se a intensificação da Reação de Maillard, com conseqüente aumento da concentração de um composto intermediário desta reação, o 5-hidroximetilfurfural (HMF). Tal fato pode provocar alterações no produto como aumento da viscosidade, intensificação da cor e do dulçor. O processo de homogeneização do leite é uma etapa não obrigatória para fabrico de doce de leite, e tem como objetivo modificar a microestrutura do produto, gerando uma nova organização da matriz, oriunda principalmente das interações entre os compostos lipídicos e as proteínas do leite. Diante disso, o presente trabalho objetivou a formulação de doce de leite pastoso tradicional e zero lactose, visando avaliar a influência da hidrólise desse açúcar, assim como também o uso do processo de homogeneização do leite. Foram analisados parâmetros de processo durante a etapa de evaporação (como a taxa de evaporação e o tempo

<sup>1</sup> Bolsista do Programa de Iniciação Científica da Universidade Federal de Juiz de Fora BIC-FAPEMIG.

Contato: caroline-barroso@hotmail.com / Currículo: lattes.cnpq.br/3683927317180479

<sup>2</sup> Professoras colaboradoras do Instituto de Laticínios Cândido Tostes (EPAMIG).

Contato: isis@epamig.br / Currículo: lattes.cnpq.br/3309854964968659

Contato: carolcrviana@yahoo.com.br/ Currículo: lattes.cnpq.br/8879031769006840

<sup>3</sup> Professores colaboradores da Universidade Federal de Juiz de Fora.

Contato: italotulerperrone@gmail.com / Currículo: lattes.cnpq.br/8641512358409239

Contato: luiz.oliveira@ufjf.edu.br/ Currículo: lattes.cnpq.br/1912197785087128

<sup>4</sup> Professor orientador do Departamento de Química- ICE.

Endereço Profissional do Professor Orientador: Universidade Federal de Juiz de Fora

ICE - Instituto de Ciências Exatas, Departamento de Química. CEP: 36036-330 – Juiz de Fora - MG

Contato: rodrigo.stephani@ufjf.edu.br/Currículo:lattes.cnpq.br/5290762514974234



total de evaporação), além da concentração de HMF livre e o teor de lactose residual nos produtos finais. A hidrólise da lactose foi o fator principal que influenciou na cor dos produtos e a homogeneização do leite não apresentou efeito significativo sobre os parâmetros de evaporação monitorados neste estudo, demonstrando que tal operação não modifica as condições de processamento.

**Palavras-chave:** Doce de leite. Hidrólise. Lactose. HMF. Homogeneização.

## Abstract

Lactose free dairy products have become increasingly recurrent in the market in recent years, due to the lactose intolerant people or even those who choose a restrictive diet without this carbohydrate. In the production of *dulce de leche*, lactose hydrolysis promotes some modifications in the product, highlighting the intensification of the Maillard reaction, with a consequent increase in the concentration of an intermediate compound of this reaction, 5-hydroxymethylfurfural. The main consequences of lactose hydrolysis in *dulce de leche* are increasing of viscosity, darkness and sweetness. The process of milk homogenization is a non-mandatory step for the production of *dulce de leche*, and aims to modify the microstructure of the product, generating a new organization of the matrix, originating mainly from the interactions between lipid compounds and milk proteins. So, this work aimed was to formulate of traditional *dulce de leche* and “lactose free” to evaluate the influence of hydrolysis of this carbohydrate and the process of homogenization of milk. Evaporation parameters (evaporation rate and total process time), free HMF and residual lactose quantification were performed. Lactose hydrolysis was the main factor that influenced the color of the products and the homogenization of milk did not have significant effect on the evaporation parameters monitored in this study, demonstrating that such an operation does not modify the processing conditions.

**Keywords:** *Dulce de leche*. Hydrolysis. Lactose. HMF. Homogenization.

## 1 INTRODUÇÃO

O doce de leite (DL) é um produto tipicamente latino-americano e possui características que o tornam um item único da culinária desses países. Tais características são adquiridas durante a sua fabricação como cor, sabor e textura. Apresentando apenas leite e açúcar como ingredientes obrigatórios, o DL é obtido pela concentração e ação do calor em ambos ingredientes, podendo ser adicionadas outras substâncias alimentícias com diferentes finalidades (estabilizantes e reguladores de acidez por exemplo), de acordo com Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade de Doce de Leite (BRASIL, 1997).

O pH, a temperatura de aquecimento, a presença de açúcares redutores e proteínas, favorecem a ocorrência de uma importante reação de escurecimento não enzimático que ocorre durante a produção do DL conhecida como Reação de Maillard (SHIBAO; BASTOS, 2011). Esta reação acarreta alterações de cor, sabor, valor nutricional, propriedades antioxidantes e na textura do alimento. (FRANCISQUINI, 2016).

Buscando atender a todos os tipos de consumidores, um nicho de mercado cada vez mais crescente é o de alimentos com alegação zero lactose, pois estima-se que pelo menos

75% da população mundial tenha deficiência de  $\beta$ -galactosidase, enzima responsável pela hidrólise da lactose na digestão dos alimentos de origem láctea (PEREIRA; PINTO; DIAS; VIEIRA; RIBEIRO; AMBONI; FRITZEN-FREIRE, 2020). Além do apelo à saúde, investir em produtos zero lactose pode ser uma estratégia válida para a indústria de laticínios se adequar às mudanças dos hábitos alimentares da população, como dietas isentas de lactose. Na produção de doce de leite, a realização da hidrólise da lactose acarreta vantagens ao produto, como redução dos cristais perceptíveis de lactose, entretanto, causa a intensificação da Reação de Maillard, aumento da viscosidade e do gosto doce do produto (PERRONE; STEPHANI; DE CARVALHO; NETTO; FRANCISQUINI, 2019)

Dessa forma, este trabalho<sup>5</sup> teve como objetivo produzir doce de leite com e sem hidrólise da lactose para verificar os principais efeitos nas características do produto final. Além disso, foi incluída a homogeneização do leite no experimento, uma operação unitária amplamente usada na indústria láctea que, na produção de DL, pode afetar as propriedades reológicas do produto ainda durante a etapa de produção, principalmente se o leite utilizado tiver um alto teor de gordura.

O trabalho foi organizado, então, com uma parte experimental que foi composta pela produção dos DL usando um evaporador de bancada, seguido de análises de caracterização dos produtos. A partir dos resultados buscou-se identificar possíveis modificações dos parâmetros de evaporação, assim como também as principais modificações geradas nos doces de leite como consequência da hidrólise da lactose e da homogeneização do leite.

## 2 METODOLOGIA

### 2.1 Fabricação dos doces de leite

Em cada fabricação de doce de leite foram utilizados 1500 g de leite integral pasteurizado (obtidos no comércio local de Juiz de Fora) e 300 g de sacarose. Como aditivos foram acrescentados 1,5 g de citrato de sódio (para estabilização das proteínas) e 0,6 g de sorbato de potássio (como conservante). Para a hidrólise da lactose, utilizou-se a enzima lactase de nome comercial Lactlow 2600 L fornecida pela empresa GranoTec<sup>®</sup>. Foi utilizada uma dosagem de 0,1% (m/m) de lactase em relação ao leite pasteurizado

---

<sup>5</sup> Link para o vídeo do projeto: <https://youtu.be/vWmlueG2g6Y>

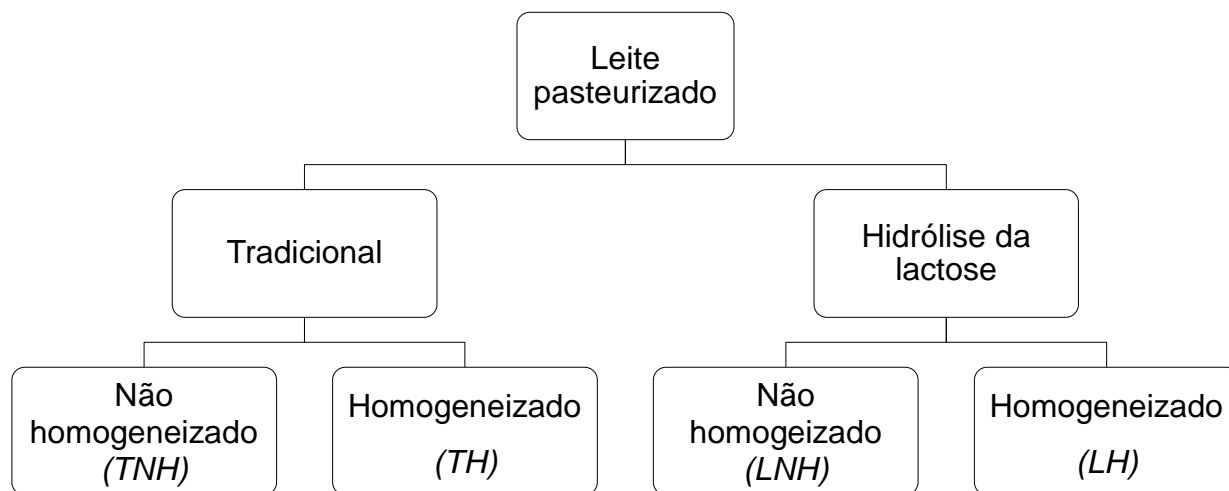
refrigerado e manteve-se por 24 horas o processo de hidrólise a  $5^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ .

O diferencial na produção dos DL deste trabalho foi a utilização de um equipamento desenvolvido pelo próprio grupo de pesquisa, que simula dispositivos industriais de evaporação em escala de bancada. O mesmo utiliza um processador comercial Thermomix® TM5 (Vorwerk, Wuppertal, Alemanha), acoplado a uma célula de carga (Ramuzá IDR 7.500, Santana de Parnaíba, Brasil) com precisão de 1g e sensor de temperatura PT-100. O uso da célula de carga tem como objetivo monitorar a evaporação da água durante todo o processo.

A inclusão deste sistema de evaporação possibilitou a determinação do “ponto” do doce com base em cálculos de balanço de massa baseados no teor de sólidos do produto, dado que valores entre 66 °Brix e 68 °Brix representam um doce com aproximadamente 70% (m/m) de sólidos totais (PERRONE; STEPHANI; DE CARVALHO; NETTO; FRANCISQUINI, 2019).

Três repetições do experimento foram realizadas, seguindo o delineamento apresentado na figura 1, incluindo também a homogeneização em dois estágios (1º estágio com 15 MPa e 2º estágio com 5 MPa) como tratamento, além da hidrólise da lactose.

Figura 1 – Delineamento experimental



Fonte: Próprio autor

## 2.2 Análises

Para o monitoramento da extensão da reação de Maillard nos doces, foi realizada a análise de HMF livre com detecção espectrofotométrica. Transferiu-se para um tubo de ensaio 5 mL da solução de análise de cada tratamento. Acrescentou-se 2,5 mL de ácido

oxálico  $0,3 \text{ mol.L}^{-1}$  e 2,5 mL de ácido tricloroacético 40% (m/v), nesta ordem. Filtrou-se as soluções através do papel filtro qualitativo para um béquer de 50 mL. Em seguida, transferiu-se para outro tubo de ensaio 4 mL de filtrado e 1mL de ácido tiobarbitúrico  $0,05 \text{ mol.L}^{-1}$ . Os tubos de ensaio foram colocados sob aquecimento em um banho termostático a  $40^\circ\text{C}$  por 30 minutos. Posteriormente, aguardou-se o resfriamento do sistema até atingir temperatura entre  $20\text{-}25^\circ\text{C}$  e logo após realizou-se a leitura da absorbância em um espectrofotômetro Ocean Optics modelo DH-2000-BAL, em 443 nm. A concentração de 5-hidroxiacetilfurfural foi obtida por meio de curva padrão, segundo Keeney e Bassete (1959).

Para a verificação da magnitude da hidrólise nos produtos, foi feita a quantificação de lactose por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com detector RID (Detector Refrativo Index) com temperatura de  $50^\circ\text{C}$ . Como procedimento para análise de açúcares, realizou-se a configuração do equipamento HPLC instalando a coluna Bio-rad HPX-87P e selecionando as condições necessárias para operar o método como temperatura da coluna a  $60^\circ\text{C}$ , fluxo da fase móvel de  $0,6 \text{ mL.min}^{-1}$ , volume de injeção da amostra de 10  $\mu\text{L}$  e tempo de corrida de 25 minutos. Após o sistema estar equilibrado com a fase móvel composta por água ultrapura (Tipo I), iniciou-se a corrida verificando a estabilidade do equipamento com o controle da adequabilidade do sistema, através de 5 injeções do nível 3 da curva de calibração e o desvio padrão relativo não superior a 2% entre as repetidas injeções para continuidade das análises.

Na sequência, foi analisada a curva de calibração contendo o composto de interesse com 6 pontos e posterior análise das amostras. Durante as corridas foram incluídos pelo menos 3 controles (frasco contendo o composto de interesse em menor concentração que os pontos da curva padrão) para monitoramento do equipamento em relação a detecção/quantificação correta do analito. O tempo de retenção da lactose foi de aproximadamente 12,18 min.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A figura 2 apresenta uma fotografia dos produtos para ilustrar o perfil de cada tratamento logo após sua fabricação, onde observa-se uma grande diferença na coloração, sendo os mais escuros provenientes dos tratamentos nos quais ocorreram a hidrólise da lactose

Figura 2 - Aspecto visual dos produtos finais



Sendo: T = tradicional; L = zero lactose, NH = não homogeneizado; H = homogeneizado  
 Fonte: Próprio autor.

Durante as produções, foram coletados dados do tempo de evaporação e das massas iniciais e finais, a fim de acompanhar a evolução de cada processo. A tabela 1 apresenta estes dados bem como a taxa de evaporação calculada a partir deles.

Tabela 1 – Dados do processo de evaporação das fabricações dos doces de leite (n=3)

PARÂMETROS	TRATAMENTOS			
	Tradicional		Zero lactose	
	TNH	TH	LNH	LH
Massa de água evaporada (g)	1113,0 ± 3,0 <sup>ab</sup>	1111,3 ± 1,5 <sup>ab</sup>	1106,7 ± 5,5 <sup>a</sup>	1118,3 ± 5,0 <sup>b</sup>
Tempo de evaporação (min.)	101,3 ± 3,0 <sup>a</sup>	103,0 ± 5,3 <sup>a</sup>	105,0 ± 2,6 <sup>a</sup>	106,0 ± 5 <sup>a</sup>
Taxa de evaporação (g.min <sup>-1</sup> )	10,99 ± 0,31 <sup>a</sup>	10,81 ± 0,58 <sup>a</sup>	10,54 ± 0,28 <sup>a</sup>	10,57 ± 0,45 <sup>a</sup>

Sendo: T = tradicional; L = zero lactose, NH = não homogeneizado; H = homogeneizado  
 Médias seguidas pela mesma letra, na mesma linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey, ao nível de probabilidade de 5%.  
 Fonte: Próprio autor.

De acordo com os dados obtidos, é possível observar que as taxas médias de evaporação dos doces não apresentaram diferenças estatísticas significativas entre si. Sendo assim, pode-se afirmar que as etapas de evaporação para todos os tratamentos ocorrem de forma similar, demonstrando que o processo de homogeneização do leite e a hidrólise da lactose não promoveram efeito significativo sobre as mesmas. Assim é possível afirmar que as alterações nas características finais de cada produto (observadas visualmente conforme apresentado na figura 2) estão associadas a fatores não inerentes à etapa de evaporação, uma vez que todos os tratamentos foram submetidos às mesmas

condições reacionais.

Visando identificar a extensão da hidrólise da lactose e a extensão da reação de Maillard nos doces de leite estudados, são apresentados, na tabela 2, os resultados das análises de concentração da lactose e de HMF livre.

Tabela 2 – Dados da concentração de lactose e HMF livre nos doces de leite fabricados (n=3)

PARÂMETROS	TRATAMENTOS			
	Tradicional		Hidrólise da lactose	
	TNH	TH	LNH	LH
Lactose (g.100g <sup>-1</sup> )	8,85 ± 0,13 <sup>a</sup>	8,50 ± 0,42 <sup>a</sup>	< 0,016 <sup>b</sup>	< 0,016 <sup>b</sup>
HMF livre (µmol.L <sup>-1</sup> )	39,66 ± 1,85 <sup>a</sup>	28,45 ± 1,16 <sup>a</sup>	103,02 ± 28,20 <sup>b</sup>	133,77 ± 3,42 <sup>b</sup>

Sendo: T = tradicional; L = zero lactose, NH = não homogeneizado; H = homogeneizado

Médias seguidas pela mesma letra, na mesma linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey, ao nível de probabilidade de 5%

Fonte: Próprio autor.

Os resultados das concentrações de lactose nos produtos hidrolisados (LNH e LH), demonstram que a extensão da hidrólise foi superior a 99%, fornecendo doces de leite com teores de lactose inferiores a 0,1 g.100g<sup>-1</sup>. Assim, estes produtos podem ser considerados doces de leite zero lactose, de acordo com os parâmetros legais em vigor no Brasil, definidos pela Anvisa (BRASIL, 2017). Quanto aos dados da concentração de HMF livre, verificou-se que aqueles que exibiram maior concentração deste composto foram os tratamentos com hidrólise da lactose, o que está de acordo com o esperado, já que estes produtos se apresentaram mais escuros (figura 2).

É possível correlacionar ambos os resultados visto que Perrone e colaboradores (2012) afirmam que a hidrólise da lactose favorece o escurecimento do produto, pois como são gerados dois novos monossacarídeos (glicose e galactose), tem-se agora o dobro de grupamentos químicos capazes de participar da Reação de Maillard.

Dessa forma, como foi relatado anteriormente que não houveram diferenças significativas nos parâmetros de evaporação (tratamento térmico) durante o processo de produção, pode-se afirmar que a maior concentração de HMF livre, e conseqüentemente

maior escurecimento dos tratamentos LNH e LH, são devidos unicamente à hidrólise da lactose.

A homogeneização, por sua vez, não apresentou efeito significativo durante o processo de evaporação, de acordo com os resultados que foram apresentados neste trabalho. Para uma melhor avaliação da influência desta operação nos doces de leite, outras análises ligadas diretamente aos aspectos reológicos dos produtos são necessárias, a fim de confirmar se pode ou não haver influência da homogeneização nas características dos produtos finais.

#### **4 CONCLUSÃO**

A coleta de dados durante as evaporações verificou que todos os doces foram submetidos às mesmas condições de evaporação, descartando a possibilidade desta etapa ter influenciado nas características do produto final.

Com isso, pode-se avaliar a influência da hidrólise da lactose e concluir que ela foi a única responsável pela alteração da cor do doce de leite pastoso. Já em relação à homogeneização do leite, não foi possível observar modificações nos parâmetros de evaporação dos DL nas condições experimentais.

Dessa forma, o monitoramento da evaporação mostrou-se de suma importância para um melhor entendimento do processo, além de ter fornecido dados relevantes para as interpretações do trabalho. Espera-se, ainda, contribuir para o entendimento da hidrólise da lactose no doce de leite visando dispor de informações úteis que podem auxiliar os laticínios no desenvolvimento deste produto.

#### **5 AGRADECIMENTOS**

Agradecemos aos órgãos de fomento CAPES, CNPq e FAPEMIG, pelo financiamento da bolsa de pesquisa, e à Fadepe, pelo apoio na execução deste projeto. Agradecemos também às instituições que estiveram envolvidas neste trabalho, as quais foram indispensáveis para a realização do mesmo: Universidade Federal de Juiz de Fora, Instituto de Laticínios Cândido Tostes e ao laboratório GranoLab da GranoTec®.



---

## REFERÊNCIAS

BRASIL. Ministério de Estado da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria n. 354 de 4 de setembro de 1997. Regulamento técnico de identidade e qualidade de doce de leite. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, n. 172, p. 37-38, 8 set. 1997. Seção I.

BRASIL. Ministério da Saúde. Resolução RDC n.135 de 8 de fevereiro de 2017. Regulamento técnico referente a alimentos para fins especiais. **Diário Oficial da União**, Brasília, n.29, p.44, 9 fev. 2017. Seção I.

FRANCIQUINI, Júlia D'almeida. **Caracterização e avaliação de indicadores físico-químicos, tecnológicos e de tratamento térmico em doces de leite**. 2016. 102 f. Dissertação (Mestrado) – Curso de Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia do Leite e Derivados, Universidade Federal Juiz de Fora, Juiz de Fora, 2016.

KEENEY, Mark; BASSETTE, Richard. Detection of intermediate compounds in the early stages of browning reaction in milk products. **Journal of Dairy Science**, v. 42, n .6, p. 945-961, 1959.

PEREIRA, Janaina A; PINTO, Stephanie S; DIAS, Carolinne O; VIEIRA, Michelly P T; RIBEIRO, Deise H B; AMBONI, Renata D M C; FRITZEN-FREIRE; Carlise B. Potentially. Symbiotic fermented milk: A preliminary approach using lactose free milk. **LWT - Food Science and Technology**, v. 118, 2020.

PERRONE, Ítalo Tuler, STEPHANI, Rodrigo; DE CARVALHO, Antônio Fernandes; NETTO, Gabriel Gamma; FRANCISQUINI, Julia D´Almeida. **Doce de leite - Química e Tecnologia** Juiz de Fora, Realização: Cap Lab, 2019. 151 p.

PERRONE, Ítalo Tuler; STEPHANI, Rodrigo; NEVES, Braz dos Santos; DE SÁ, Jaqueline Flaviana Oliveira; DE CARVALHO, Antônio Fernandes. Atributos tecnológicos de controle para produção do doce de leite. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 67, n. 385, p.42-51, 2012.

SHIBAO, Julianna; BASTOS, Deborah Helena Markowicz. Produtos da reação de Maillard em alimentos: implicações para a saúde. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 24, n. 6, p.895-904, 2011.

VARELLA, Drauzio (Ed.). **Intolerância à lactose**. Publicado em 30 de agosto de 2014. Disponível em: <https://drauziovarella.uol.com.br/doencas-e-sintomas/intolerancia-a-lactose/>. Acesso em: 3 jun. 2020.