Estabelecimento de princípios científicos para o desenvolvimento de lácteos em pó desidratados sem lactose: efeito do uso da transglutaminase

Scientific Basis for the Development of Lactose-Free Dehydrated Dairy Powders: Impact of Transglutaminase Application

Júlia d'Almeida Francisquini[1], Carolina Neves Cunha[1], Juliana De Carvalho Da Costa[1], Emeline Goussé[2], Gaëlle Tanguy[2], Cécile Le Floch Fouéré[2], Jeehyun Lee[2], Rodrigo Stephani[3], Ítalo Tuler Perrone[1]

[1]Departamento de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Juiz de Fora. Juiz de Fora - MG, Brasil.

[2] INRAE, Institut Agro, UMR-STLO, 35042 Rennes, France

Resumo

Problemas tecnológicos, nutricionais e prazo de validade devem ser considerados ao secar lácteos, para minimizar esses problemas o uso da transglutaminase (TGase) vem sendo relatado. O objetivo do estudo foi avaliar o efeito da adição da TGase a produtos com e sem lactose hidrolisada. Realizou-se rotaevaporações e secagens de 4 tratamentos x 3 repetições (T1 leite semidesnatado microfiltrado (LSM); T2 LSM + lactase); T3 LSM + lactase + TGase, T4 LSM + TGase). Foram feitas análises de atividade de água (a_w), balanço de massa, viscosidade, fotografias, colorimetria, aglomeração, microscopia eletrônica de varredura (MEV), higroscopicidade. Não ocorreu diferença estatística na a_w e cor. Encontrou maior adesão, higroscopicidade e tendência à aglomeração nos produtos com lactose hidrolisada (T2 e T3). Maior viscosidade do concentrado foi encontrado no produto com lactose hidrolisada (T2). Conclui-se que a maior influência nos atributos analisados se decorreu pela hidrólise da lactose.

Palavras-chave spray dryer; enzimas; hidrólise da lactose.

Introdução

Para formular produtos com lactose hidrolisada, a indústria alimentícia pode ter certas dificuldades de processo e problemas com a qualidade dos pós, como escurecimento, intensificação da reação de Maillard (RM), diminuição do valor nutricional, perda de solubilidade, aumento da higroscopicidade, modificação da microestrutura e diminuição da vida útil dos pós, além de aglomeração e aderência do pó nos equipamentos de secagem com aumento dos custos e tempo de limpeza (Fialho, *et al.,* 2018a; Fialho, *et al.,* 2018b).

Uma alternativa atual que vem sendo estudada na literatura e que pode auxiliar no desenvolvimento de produtos de lactose hidrolisada por atomização, por meio do aumento da temperatura de transição vítrea do produto, possibilitando o aumento da temperatura de entrada de ar e da vazão do concentrado no secador por atomização, sem modificar os atributos composicionais, nutricionais e de denominação comercial do produto em pó, é o uso da enzima transglutaminase (TGase). Ela é considerada um coadjuvante de tecnologia de fabricação e não precisa ser adicionada à lista de ingredientes do rótulo do alimento. Além disso, estudos demonstraram que o uso da TGase não afetou as condições de secagem ou o processamento do

pó, além de verificar um possível aumento na temperatura de transição vítrea do produto por atomização (Francisquini, *et al.,* 2024; Er, *et al.,* 2019).

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da adição da enzima TGase a produtos com e sem lactose hidrolisada durante a secagem por atomização.

Materiais e métodos

Foram realizados quatro tratamentos com três repetições: T1 produto controle formulado com leite semidesnatado microfiltrado; T2 produto formulado com leite semidesnatado microfiltrado com adição de lactase; Produto T3 formulado com leite semidesnatado microfiltrado adicionado de lactase e transglutaminase, produto T4 formulado com leite semidesnatado microfiltrado adicionado de transglutaminase. Todos os tratamentos foram submetidos a tratamento térmico a 80±2°C por 2 minutos para inativar a enzima transglutaminase. Os produtos foram então concentrados a 40±2°Brix em um evaporador rotativo (Heidolph, modelo VAP Advantage), com temperatura do banho de aquecimento de 60°C e pressão variando entre 50 e 200 mbar. O teor de sólidos solúveis foi avaliado utilizando um refratômetro portátil Atago, modelo PAL-22S. Ressalta-se que a enzima lactase (Maxilact® LGi, atividade enzimática ≥ 5. 000 NLU·g^{-1} de lactase, na proporção de 0,40% m·m^{-1}) foi adicionada ao produto concentrado e a enzima transglutaminase (FT3300 Activa FV, atividade enzimática de 80 a 120 U·g^{-1} de proteína, na proporção de 3 U·g^{-1} de proteína) ao produto fluido. Ambas as enzimas permaneceram em atividade enzimática por um período de 12 a 16 horas a 6±2°C. Após a rotaevaporação e o período de ativação enzimática, o produto foi seco em secador por atomização (GEA, modelo Minor) e as condições de secagem foram: temperatura do produto concentrado de 40±2°C, temperatura do ar de entrada de 200±2°C, temperatura do ar de saída de 87,5±2°C, pressão de ar para atomização de 20 psi e vazão de ar de 14 kg·h^{-1}.

A atividade de água do produto foi analisada utilizando o analisador Novasina (LabSwitt - aw). Os produtos foram pesados durante todo o processo de produção (leite fluido, leite concentrado, pó proveniente da raspagem do equipamento, pó armazenado no ciclone, enzimas). Dessa forma, a porcentagem de pó obtida na zona 1 e na zona 2 (Figura 1A) foi calculada pela Equação 1:

$$Powder\ obtained\ in\ zone\ 1\ or\ zone\ 2\ (\%m \cdot m^{-1}) = \frac{Mass\ of\ powder\ (zone\ 1\ or\ zone\ 2)}{Mass\ of\ powder\ (zone\ 1 + zone\ 2)} * 100 \quad \text{(Equation 1)}$$

A viscosidade dos concentrados foi determinada utilizando um viscosímetro rotacional de cilindro coaxial (RM 100 Plus, Lamy Rheology, Champagne-au-Mont-d'Or, França). Foram tiradas fotos de diferentes partes do equipamento com e sem pó para documentar e comparar visualmente o comportamento do produto durante a secagem. A análise de cor dos produtos também foi realizada utilizando um colorímetro Konica Minolta modelo CR-400. Foram utilizados os sistemas de cores CIE xyY. A aglomeração (caking) foi medida com um testador de cisalhamento de anel (RST-XS, Schulze-Schüttgutmesstechnik, Wolfenbüttel, Alemanha). Os pós foram analisados por microscopia eletrônica de varredura (modelo: Hitachi TM 3000, Hitachi Ltd., Tóquio, Japão) usando magnitudes de 500× e 1000×. A higroscopicidade em g/100g de pó úmido foi determinada utilizando o equipamento de sistema de medição de superfície, marca proUmid, a 75% de umidade relativa (25°C). Todas as análises foram realizadas em duplicata.

Resultados e discussões

Todos os pós ficaram com atividade de água abaixo de 0,150. Além disto o produto com lactose hidrolisada resultou em maior quantidade de pó aderido ao equipamento, maior presença de aglomeração e escurecimento do produto. Na secagem do produto com lactose hidrolisada foi mais difícil manter os parâmetros de secagem, sendo necessária modulação mais frequente da vazão de concentrado no secador por atomização para obter a temperatura do ar de saída igual a 85°C±2°C, provavelmente devido à maior viscosidade do leite concentrado com lactose hidrolisada em comparação ao tratamento controle (média ± desvio padrão da viscosidade aparente: T1 = 12,32 ± 1,01 mPa·s^{-1}; T2 = 420,60 ± 78,28 mPa·s^{-1}).

O equipamento foi dividido em duas zonas: zona 1, que corresponde ao ciclone, e zona 2, que corresponde à câmara e aos tubos que conectam o ciclone à câmara (Figura 1A). Normalmente, a indústria de laticínios em pó deseja uma maior concentração de pó na zona 1, por se tratar de um produto de melhor qualidade e voltado para o consumidor final. Se houver maior quantidade de pó retido na zona 2, isso é um indicativo de maior aderência do produto ao equipamento, com o consequente aumento na obtenção de um produto de pior qualidade. Portanto, quantificar o pó retido na zona 1 e na zona 2 pode ser um fator interessante para a compreensão do processo tecnológico de fabricação do pó, e aqui é um possível indicador da influência da hidrólise da lactose e da adição de transglutaminase durante a secagem. Houve diferença estatisticamente significativa na distribuição dos pós nas duas zonas (1 e 2) com hidrólise da lactose. Os tratamentos T1 e T4 (sem hidrólise da lactose) foram estatisticamente iguais, e os tratamentos T2 e T3 permaneceram estatisticamente iguais entre si em relação à porcentagem de pó aderido (Figura 1A). Estatisticamente, não houve alteração na porcentagem de pó aderido nas zonas 1 e 2 pela adição de TGase.

Visualmente, a presença da transglutaminase parece ter sido capaz de reduzir a quantidade de pó aderido ao equipamento (Figura 1B). A enzima pode ser uma alternativa tecnológica e nutricionalmente viável para auxiliar na secagem de produtos com lactose hidrolisada sem a necessidade de modificar a composição do pó e os parâmetros de secagem, o que pode influenciar a aceitabilidade do consumidor e a vida útil do produto quando armazenado. Embora não tenha havido diferença estatística, pode-se observar que há certa influência positiva do uso da TGase durante o processo tecnológico de pós com lactose hidrolisada. No entanto, é imperativo realizar mais estudos em nível laboratorial e em escala industrial para confirmar a influência positiva do uso desta enzima durante a secagem por atomização.

Os tratamentos T1 e T4 apresentaram valores de ffc maiores que 2,00 enquanto os tratamentos T2 e T3 apresentaram valores de ffc menores que 2,00 (Schulze, 2021). Pode-se observar pelos resultados obtidos que os pós produzidos não apresentam boa fluidez, sendo os pós sem lactose hidrolisada considerados coesos e os pós com lactose hidrolisada considerados muito coesos. Em resumo, pode-se entender que os pós com lactose hidrolisada foram os que apresentaram menor fluidez, o que é de se esperar devido à sua menor temperatura de transição vítrea, o que faz com que o pó tenha maior aderência. A transglutaminase ajudou até certo ponto ao aumentar a fluidez do pó com lactose hidrolisada, mas o produto ainda permaneceu classificado como muito coeso.

Analisando os resultados da cor do produto na escala CIExyY (Figura 1C), os pós foram agrupados em relação à cromaticidade (xy) na região correspondente à cor branca. Todos os pós, independentemente do tratamento aplicado (T1, T2, T3 e T4) foram agrupados na mesma região, não havendo alterações estatisticamente significativas ($p<0,05$) entre os tratamentos. A média de todos os tratamentos com seus respectivos desvios-padrão correspondeu a x=0,32±0,00; y=0,33±0,00; Y=50,23±0,11. Já, avaliando a coordenada de luminância Y, os pós

foram agrupados na região do comprimento de onda entre 570 e 580 nm, que segundo a escala xyY é baseada na região da cor amarela. Portanto, pode-se inferir que todos os pós são considerados branco-amarelados.

As partículas dos pós ficaram arredondadas e características de produtos secos via *spray dryer*. Além disto, os pós T2 e T4, visualmente exibiram partículas maiores quando comparados com os produtos T1 e T3 (Figura 3D). Provavelmente, tal situação ocorreu em virtude da diferença de viscosidade do produto concentrado.

Os pós T1 e T4 apresentaram resultados de higroscopicidade abaixo de 9,0 % $m \cdot m^{-1}$, enquanto os pós T2 e T3 apresentaram resultados acima de 20,0 % $m \cdot m^{-1}$. De acordo com Schuck*, et al.,* 2012, os pós aqui analisados são classificados, com base na porcentagem de higroscopicidade a 75% de umidade relativa, como não higroscópico (T1 e T4, % higroscopicidade ≤ 10%) e muito higroscópico (T2 e T3, % higroscopicidade 20,1% a 25%).

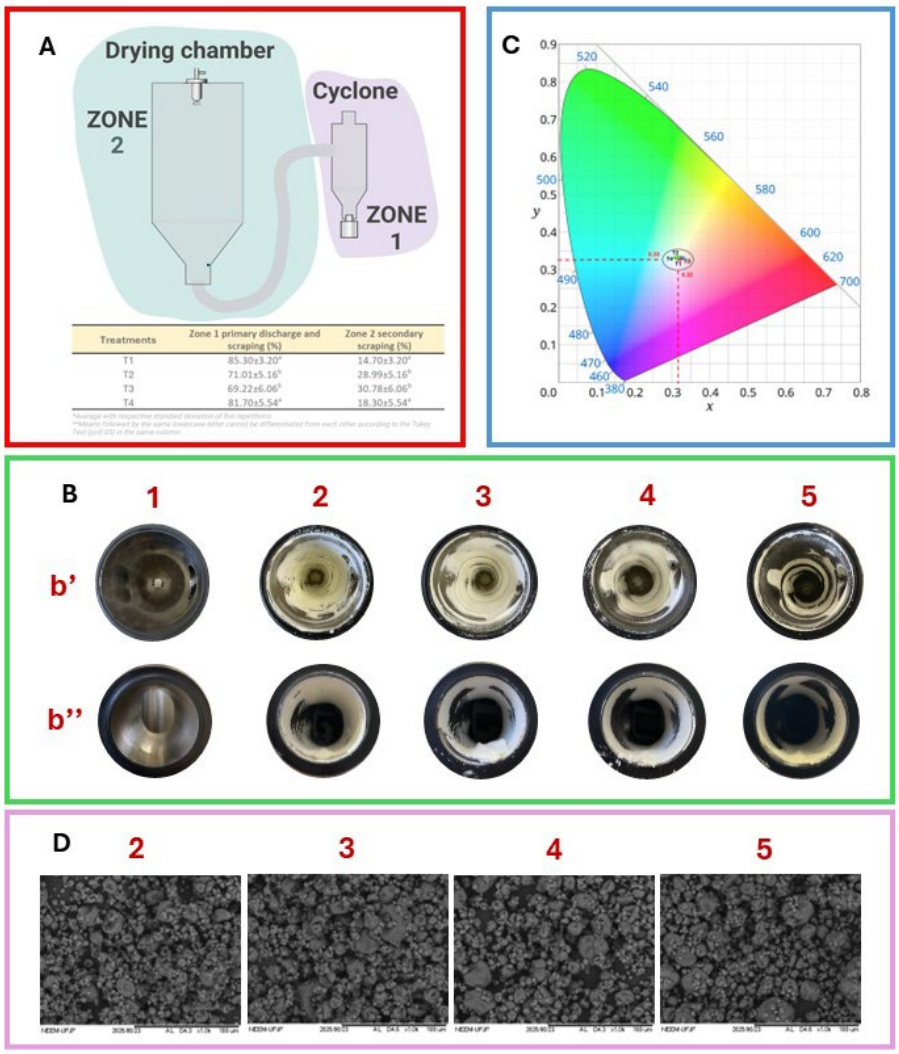

Figura 1: A) Divisão do *spray dryer* em zonas 1 e 2, bem como as porcentagens de pó obtidas em cada uma das zonas. B) Fotos de diferentes partes do secador por pulverização. Onde: 0 equipamento sem produto, b' ciclone aberto; b'' região de conexão entre o ciclone e a câmara. C) Gráfico dos resultados da análise de cor dos pós utilizando os sistemas de cores CIE xyY. Onde: T1 T2 T3 T4 . D) Microscopia eletrônica de varredura, magnificação 1000x. Onde: T1 (Leite microfiltrado); T2 (Leite microfiltrado + lactase); T3 (Leite microfiltrado + lactase + TGase); T4 (Leite microfiltrado + TGase).

Conclusão

Infere-se que a presença de lactase modifica consideravelmente a tecnologia de secagem e que estratégias precisam ser adotas para ajudar a minimizar os problemas durante o processo e *shelf life*. A influência na tecnologia, nutricional e durante o armazenamento do uso de transglutaminase nos produtos lácteos em pó com e sem hidrólise da lactose ainda precisa ser mais bem esclarecido.

Referências Bibliográficas

FIALHO, T. L.; MARTINS, E.; SILVEIRA, A. C. P.; SILVA, C. R. D. J.; PERRONE, Í. T.; SCHUCK, P.; DE CARVALHO, A. F. Lactose hydrolyzed milk powder: Thermodynamic characterization of the drying process. **Drying Technology**, v. 36, n. 8, p. 922-931, 2018a.

FIALHO, T. L.; MARTINS, E.; SILVA, C. R. D. J.; STEPHANI, R.; TAVARES, G. M.; SILVEIRA, A. C. P.; PERRONE, I. T.; DE OLIVEIRA, L. F. C.; DE CARVALHO, A. F. Lactose-hydrolyzed milk powder: Physicochemical and technofunctional characterization. **Drying technology,** v. 36, n. 14, p. 1688-1695, 2018b.

SCHULZE, D. Flow properties of bulk solids**. Powders and Bulk solids: Behavior, characterization, storage and flow,** Berlim: Springer, 2021, 625p.

SCHUCK, P.; DOLIVET, A.; JEANTET, R. **A analytical methods for food and dairy powders.** Nova Jersey: Wiley-Blackwell, 2012, 248p.

FRANCISQUINI, J. D. A.; CUNHA, C. N.; DIAZ, C. C. M.; BARBOSA, L. R.; ALTIVO, R.; ALVES, N. M. G.; BRITO, M. C.; STEPHANI, R.; PERRONE, I. T. The effect of transglutaminase on the characterization of lactose-free skimmed milk powder. **European Food Research and Technology,** v. 250, n. 5, p. 1417-1431, 2024.

ER, B.; SERT, D.; MERCAN, E. Production of skim milk powder by spray-drying from transglutaminase treated milk concentrates: Effects on physicochemical, powder flow, thermal and microstructural characteristics, **International Dairy Journal**, v. 99, p. 104544, 2019.

Autor(a) a ser contatado: Júlia d'Almeida Francisquini, Universidade Federal de Juiz de Fora, Campus Universitário, Rua José Lourenço Kelmer, s/n - São Pedro, Juiz de Fora - MG, 36036-900 e juliafrancisquininutri@gmail.com