



UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL
PROGRAMA DE MESTRADO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

FRANCELINE IAGUCZESKI DA SILVA

**TEOR DE LACTOSE E CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DE QUEIJO DE
MASSA LAVADA DURANTE A MATURAÇÃO**

LARANJEIRAS DO SUL

2019

FRANCELINE IAGUCZESKI DA SILVA

**TEOR DE LACTOSE E CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DE QUEIJO DE
MASSA LAVADA DURANTE A MATURAÇÃO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal da Fronteira Sul como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientador: Prof Dr. Ernesto Quast

Co-Orientador: Prof^ª. Dr^ª. Fabiane Picinin de
Castro Cislighi

LARANJEIRAS DO SUL

2019

Bibliotecas da Universidade Federal da Fronteira Sul - UFFS

Silva, Franceline Iaguczeski da
Teor de lactose e caracterização físico-química de
queijo de massa lavada durante a maturação / Franceline
Iaguczeski da Silva. -- 2019.

41 f.

Orientador: Ernesto Quast.

Co-orientador: Fabiane Picinin de Castro Cislaghi.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal da
Fronteira Sul, Programa de Pós-Graduação em Ciência e
Tecnologia de Alimentos-PPGCTAL, Laranjeiras do Sul, PR
, 2019.

1. Intolerância a lactose. 2. Queijos. 3. Massa
Lavada. 4. Laticínios. 5. Delactosagem. I. Quast,
Ernesto, orient. II. Cislaghi, Fabiane Picinin de
Castro, co-orient. III. Universidade Federal da
Fronteira Sul. IV. Título.

FRANCELINE IAGUCZESKI DA SILVA

TEOR DE LACTOSE E CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA
DE QUEIJO DE MASSA LAVADA DURANTE A MATURAÇÃO

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação *Stricto Sensu*, da Universidade Federal da Fronteira Sul – UFFS, para obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Este trabalho de conclusão de curso foi defendido e aprovado pela banca em:

14, 01, 2019

BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Ernesto Quast – UFFS
Orientador



Prof.^a Dra. Farayde Matta Fakhouri – UFGD



Prof.^a Dra. Adelia Grzybowski Jacoboski – CAMPO REAL

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, por guiar meus passos, pela dádiva da vida, por me conceder fé, por ter me permitido chegar até aqui.

Ao Lucimar Trombeta, meu maior incentivador, pelo apoio, pela paciência compreensão, carinho e conforto nos momentos difíceis.

A Marilucia Trombeta e a Indústria de Queijos Nato Bom, pelo apoio, compreensão e pela oportunidade de tornar este trabalho possível.

Aos colegas da Indústria de Queijos Nato Bom, que não mediram esforços e dedicação para colaborar com a execução deste trabalho, no que foi preciso.

A Universidade Tecnológica Federal do Paraná, campus Francisco Beltrão, que abriu suas portas para colaborar na execução deste trabalho.

Ao Laticínio Santiago, pela colaboração nos momentos necessários.

A meu orientador Prof. Dr. Ernesto Quast, e minha co-orientadora Profa. Dra. Fabiane Picinin de Castro Cislighi, pela paciência, por acreditarem no meu potencial, me permitirem alcançar este objetivo, pelos ensinamentos, e pela confiança em mim depositada.

Profa. Dra. Ivane Benedetti Tonial, pela paciência e apoio no que foi solicitado.

As minhas colegas de turma de Mestrado, em especial Gleiciéli e Fernanda, que colaboraram sem medir esforços quando solicitei auxílio.

A todos que contribuíram de alguma forma na execução deste trabalho, gratidão!

RESUMO

A intolerância a lactose é uma desordem que atinge grande parte da população. Nesse sentido, é importante conhecer o teor de lactose dos produtos lácteos, a fim de informar os consumidores. Nesse contexto, este estudo objetivou avaliar o teor de lactose e características físico-químicas de queijos de massa lavada durante o período de maturação. Para elaboração dos queijos utilizou-se leite integral pasteurizado com teor de 4,55 g/100g de lactose e foi realizado o procedimento de lavagem da coalhada com 10% de água quente a 75 °C. Os queijos foram analisados nos tempos 0, 7, 15, 30 e 60 dias de maturação quanto ao teor de lactose, acidez, pH, atividade de água, umidade, resíduo mineral fixo e cloretos. A contagem de bactérias ácido-láticas também foi determinada. O teor de lactose obtido aos 0 dias de maturação foi inferior a 0,005 g/100g, o pH dos queijos variou de $5,64 \pm 0,02$ a $6,26 \pm 0,10$, a acidez encontrada foi de $0,14 \pm 0,00$ a $0,22 \pm 0,02$ durante o período de maturação, a atividade de água encontrada foi de $0,929 \pm 0,00$ a $0,909 \pm 0,01$. As contagens de bactérias ácido láticas variaram de 5,86 a 7,45 log UFC/g. Sendo assim, os resultados demonstraram que a tecnologia de fabricação destes queijos, utilizando o procedimento de lavagem da massa com água quente, o tipo de cultura starter utilizada contribuíram para o baixo teor de lactose nos queijos. Estes resultados demonstram uma ótima alternativa para a produção em escala artesanal ou industrial de queijos naturalmente isentos de lactose, acrescentando opções de consumo no mercado de derivados de leites aos intolerantes à lactose.

Palavras chave: intolerância, delactosagem, fermentação

ABSTRACT

Lactose intolerance is a disorder that affects a large part of the population. In this sense, it becomes feasible the study of manufacturing techniques that make it possible to guarantee the elaboration of products with low lactose content. Taking this into account, the present study aimed to evaluate the lactose content and physical-chemical characteristics of washed mass cheeses during the maturation period. The production of cheese used pasteurized whole milk with a lactose content of 4.55 g/100 g followed by of the curd with 10% hot water at 75 ° C. Lactose content (IC-EC), acidity, pH, water activity, moisture, fixed mineral residue and chlorides were analyzed at 0, 7, 15, 30 and 60 days of maturation. Lactic acid bacteria count was performed. The lactose content obtained at 0 days of maturation was lower than 0.005 g/100g, the pH of the cheeses varied from $5,64 \pm 0.02$ to 6.26 ± 0.10 , the acidity found was 0.14 ± 0.00 to 0.22 ± 0.02 during the maturation period, the water activity found was 0.929 ± 0.00 to 0.909 ± 0.01 . Lactic acid bacteria count ranged from 5.86 to 7.45 log CFU/g. Therefore, the results showed that the technology used to make these cheeses, using the hot water washing procedure, the type of starter culture used contributed to the low lactose content in the cheeses. These results demonstrate a great alternative for small business and industrial scale production of naturally lactose-free cheeses, adding new options in the milk derivatives market to intolerant consumers.

Keywords: intolerance, delactosing, fermentation

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Molécula de α -lactose (4-O-b-D-galactosylpyranosyl-a-D-glucose).....	14
Figura 2 - Processo de produção para hidrólise de lactose sugerido para iogurte e queijos frescos utilizando enzima comercial Maxilact® DSM Food Specialties B.V.....	15
Figura 3 – Fluxograma de Fabricação dos Queijos.....	25

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Teor de Lactose em diferentes tipos de queijos.....	16
Tabela 2 – Parâmetros de qualidade do leite cru refrigerado utilizado para a fabricação dos queijos.....	28
Tabela 3 – Parâmetros físico-químicos dos Queijos de Massa Lavada logo após a fabricação.....	29
Tabela 4 – Parâmetros físico-químicos dos Queijos de Massa Lavada durante a maturação.....	30
Tabela 5 – Quantificação de Bactérias Ácido-Láticas dos queijos de massa lavada durante a maturação.....	33

SUMÁRIO

1	Introdução.....	10
2	Objetivos.....	11
2.1	Objetivo Geral.....	11
2.2	Objetivos Específicos.....	11
3	Revisão Bibliográfica.....	13
3.1	Lactose em queijos.....	13
3.2	Tecnologia de fabricação de queijos e lactose.....	17
3.2.1	Lavagem da massa.....	17
3.2.2	Maturação.....	18
3.3	Intolerância a Lactose.....	19
4	Artigo a ser submetido para revista científica.....	21
4.1	Resumo.....	21
4.2	Abstract.....	22
4.3	Introdução.....	23
4.4	Material e Métodos.....	24
4.4.1	Caracterização da matéria-prima.....	24
4.4.2	Processo de fabricação do queijo.....	25
4.4.3	Coleta e amostragem.....	26
4.4.4	Quantificação de bactérias ácido-láticas.....	26
4.4.5	Análises físico-químicas dos queijos.....	26
4.4.6	Tratamento dos dados.....	27
4.5	Resultados e Discussão.....	28
4.5.1	Caracterização da matéria-prima.....	28
4.5.2	Avaliação dos queijos frescos (0 dias de maturação)	29
4.5.3	Avaliação dos queijos durante a maturação.....	30
4.5.4	Quantificação de bactérias ácido-láticas durante a maturação.....	33
4.6	Conclusões.....	35
4.7	Referências.....	36
5	Considerações Finais.....	39
6	Referências Complementares.....	40

1 Introdução

O consumo de produtos lácteos traz diversos benefícios para a saúde. A prevalência da intolerância à lactose tem aumentado na população mundial, fato que se torna preocupante em relação à diminuição do consumo de leite e produtos lácteos, e assim redução do acesso aos nutrientes que compõem estes alimentos.

Diante disto, as indústrias de laticínios têm trazido diversas opções para atender este público com produtos “zero” ou com baixo teor de lactose, entre elas os queijos. A principal forma de se obter produtos com essa característica é por meio da adição da enzima lactase, que irá hidrolisar a lactose em glicose e galactose ainda no produto.

No entanto, é conhecido que durante a tecnologia de fabricação de queijos, quase a totalidade da lactose do leite vai para o soro, restando somente pequenas quantidades no queijo, que é variável de acordo com a cultura láctica utilizada, o processo empregado e com o tempo de maturação. Portanto, alguns queijos apresentam naturalmente um baixo teor de lactose, sem ser necessária a adição da enzima lactase.

No período de 2009 a 2014, o consumo per *capita* de queijos apresentou um crescimento de 68,6% no Brasil, atingindo consumo médio de 5,9 kg por habitante por ano. Aspectos como aumento do poder aquisitivo do consumidor e a mudança dos hábitos alimentares, como o aumento do consumo de queijos nos serviços de alimentação, contribuíram para o crescimento do mercado de queijos (ZACARCHENCO, P. B., et al. 2017).

Zacarchenco P. B. et al. (2017), ainda afirmam que a população brasileira tem se tornado mais seletiva nos alimentos que ingere, no que se refere aos aspectos relacionados aos alimentos saudáveis, que promovam a saúde e bem-estar. Diante disto, o consumo dos queijos, sendo produtos derivados de leite, proporcionam diversos benefícios devido ao conteúdo rico em proteínas, minerais e nutrientes benéficos para a saúde.

Porém neste panorama, temos inseridos no mercado de lácteos a possibilidade de rejeição do consumidor devido a presença de lactose nos produtos lácteos, na qual por muitas vezes pessoas que não possuem alguma sensibilidade ou intolerância, optam por não adquirir tais produtos. Este comportamento generalizado, vem impulsionando mudanças e inovações tecnológicas nas indústrias de laticínios, as quais buscam trabalhar cada vez mais com uma linha completa de produtos zero lactose, de forma que não perca das características intrínsecas dos produtos (ZACARCHENCO, P. B., et al. 2017).

A intolerância alimentar constitui uma das principais preocupações de saúde dos consumidores, o que impulsiona o crescimento de alimentos livres de lactose. No mercado de

produtos lácteos, os alimentos sem lactose mostraram boa performance em 2015, onde as vendas alcançaram US\$ 6,7 bilhões, representando aumento em relação ao ano de 2014 (BAROKE, 2016). Estima-se que haverá um crescimento anual médio de 6% de consumo de produtos lácteos, ao longo do período de 2015-2020, no qual os produtos lácteos isentos de lactose corresponderão a 80% do total (BAROKE, 2016).

Nos últimos anos, a lactose se tornou o principal carboidrato de interesse para a indústria de laticínios, devido à crescente demanda por produtos sem lactose por pessoas com redução do metabolismo da lactose (GILLE et al., 2018).

Neste sentido, torna-se relevante pesquisas em relação à determinação do teor de lactose de queijos logo após a fabricação (frescos) e também ao longo da maturação.

Diante do exposto, o objetivo deste estudo foi quantificar a lactose e determinar as características físico-químicas de queijo de massa lavada durante o período de maturação.

Este trabalho consta de uma revisão bibliográfica geral que aborda os seguintes tópicos: Lactose em queijos, Tecnologia de fabricação de Queijos e Lactose, Lavagem da massa, Maturação e Intolerância à Lactose. Também, possui um capítulo contendo um artigo que será submetido a uma revista científica, uma conclusão geral e referências bibliográficas.

2 Objetivos

2.1 Objetivo Geral

Determinar o teor de lactose e as características físico-químicas de queijo de massa lavada durante a maturação.

2.2 Objetivos Específicos

- Caracterizar o leite utilizado na elaboração do queijo quanto às propriedades físico-químicas e microbiológicas;
- Elaborar queijos de massa lavada;
- Quantificar a lactose dos queijos logo após a fabricação e durante a maturação;
- Avaliar a contagem de bactérias ácido-láticas dos queijos;
- Determinar as características físico-químicas (acidez, pH, umidade, atividade de água, resíduo mineral fixo e cloretos) dos queijos.

3 Revisão Bibliográfica

3.1 Lactose em queijos

O queijo é um alimento nutritivo, considerado como um dos alimentos mais antigos da humanidade (HUI, 1992). De acordo com a Portaria nº 146/1996 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), queijo pode ser definido como:

“Produto fresco ou maturado que se obtém por separação parcial do soro do leite ou leite reconstituído (integral, parcial ou totalmente desnatado), ou de soros lácteos, coagulados pela ação física do coalho, de enzimas específicas, de bactérias específicas, de ácidos orgânicos, isolados ou combinados, todos de qualidade apta para uso alimentar, com ou sem agregação de substâncias alimentícias e/ou especiarias e/ou condimentos, aditivos especificamente indicados, substâncias aromatizantes e matérias corantes” (BRASIL, 1996).

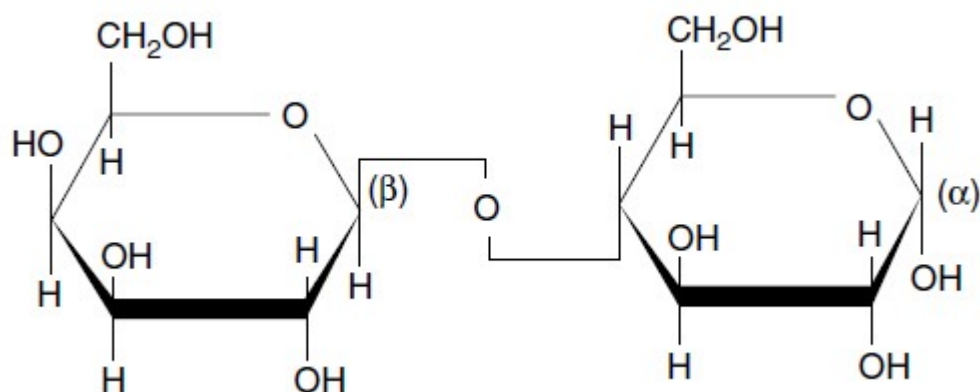
Os queijos disponíveis no mercado estão denominados geralmente de acordo com suas características, que podem estar relacionadas à origem do leite, o tratamento aplicado à matéria-prima, o tipo de coagulação, o tratamento da massa, os ingredientes e aditivos adicionados, os aspectos tecnológicos da produção, o tipo e tempo de maturação, as características físico-químicas e sensoriais do produto e a localização geográfica de origem (ZACARCHENCO, et al., 2017).

A lactose é um açúcar encontrado apenas no leite e nos produtos lácteos, e pertence ao grupo de compostos químicos chamados carboidratos. Este açúcar do leite é um dissacarídeo, com uma molécula contendo os monossacarídeos glicose e galactose. Pela presença de um grupo aldeído livre, é classificada como um açúcar redutor devido a possibilidade de reagir com substâncias nitrogenadas proporcionando reações de Maillard (GALVÃO, 2012; BYLUND, 1995) (Figura 1).

O teor de lactose do leite varia entre 3,6 e 5,5%. Níveis mais baixos de lactose podem ocorrer no colostro e no leite mastítico objetivando manter o equilíbrio osmótico. A lactose compreende cerca de 52% dos sólidos não gordurosos do leite, e aproximadamente 70% dos sólidos do soro do leite (BYLUND, 1995; HUI, 1992).

A função mais importante da lactose no leite e produtos lácteos é a sua utilização como substrato de fermentação realizada pelas bactérias ácido lácticas. Estas bactérias hidrolisam a lactose em glicose e galactose pela enzima 3-D-galactosidase (lactase). Outras enzimas das bactérias ácido lácticas atuam nas moléculas de glicose e galactose, que são convertidas através de reações intermediárias até a formação de ácido láctico (BYLUND, G. 1995; HUI, Y. H., 1992).

Figura 1 – Molécula de α -lactose (4-O-b-D-galactosylpyranosyl-a-D-glucose) Fonte: Schaafsma, 2008.



De acordo com Hill (2014), o queijo caracteriza-se por um meio biológico no qual seus parâmetros poderão variar ligeiramente e muitos fatores determinarão o teor final de lactose. O teor de lactose do leite de vaca usado na fabricação do queijo está sujeito à variabilidade sazonal, sendo que este contém quantidades mais elevadas de lactose entre janeiro e maio, e menores quantidades entre junho e dezembro.

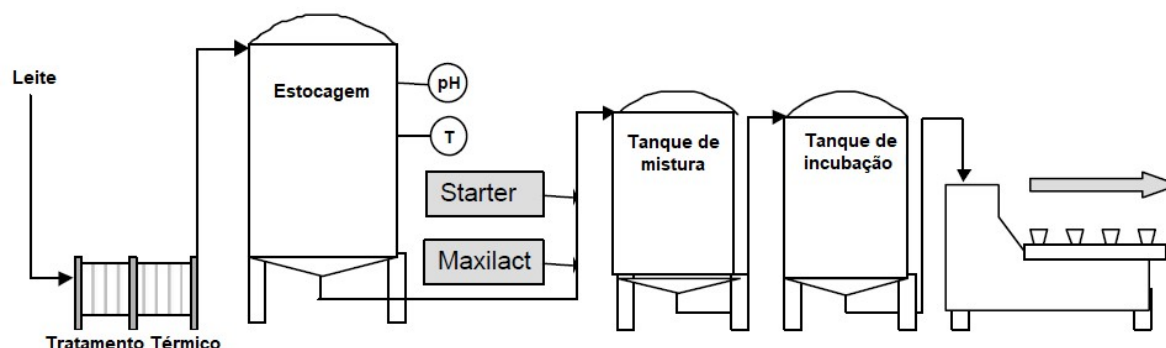
A hidrólise enzimática da lactose intencional nos produtos lácteos é usada para reduzir a cristalização da lactose em certos produtos e para produzir produtos com redução de lactose para pessoas intolerantes (HUI, Y. H., 1992). Em leites longa vida, a enzima é geralmente adicionada ao leite após a esterilização, e em leites fermentados a enzima é adicionada antes da fermentação ou ao mesmo tempo que a cultura (SAXELIN et al., 2003).

Com o objetivo de possibilitar o consumo de produtos lácteos pelos consumidores intolerantes à lactose, indústrias de laticínios adicionam intencionalmente ao leite fluído, ou ao processo de produção de derivados lácteos a enzima lactase, para haver a hidrólise da lactose e assim a elaboração de produtos com baixo teor do carboidrato (NOGUEIRA, F., 2017). A Figura 2 demonstra uma das possibilidades de utilização de enzima comercial na elaboração de produtos que sofrem fermentação, com teor reduzido de lactose.

Na fabricação dos queijos, a maior parte da lactose permanece dissolvida no soro, pois a lactose é um composto solúvel em água. (BYLUND, G. 1995).

Porém em relação aos queijos, sabe-se que o teor de lactose é baixo, por serem produtos elaborados com fermentos lácticos, que ligeiramente possuem a capacidade de utilizar a lactose transferida do leite para a coalhada, até extingui-la por completamente em poucos dias (FURTADO, M. M., 2016).

Figura 2 - Processo de produção para hidrólise de lactose sugerido para iogurte e queijos frescos utilizando enzima comercial Maxilact® DSM Food Specialties B.V. (Fonte: Globalfood-DSM, 2017).



Os queijos de forma geral têm baixo conteúdo de lactose, o queijo Prato possui em torno de 0,03 %, Mussarela 0,13 % e o Gouda 0,07 % (GALVÃO L. C., 2012).

Furtado M. M. (2016) evidencia que há uma ampla discussão sobre a presença de lactose em queijos, diante de crescente parte da população apresentar intolerância ao seu consumo. Ainda, o autor afirma que existem controvérsias sobre o teor de lactose em queijos frescos ou de curta maturação, como o queijo Minas Frescal, que pode apresentar pequeno resíduo de lactose, principalmente quando fabricado sem uso de cultura *starter*.

O teor de lactose que se transfere do leite para a coalhada no momento do corte é baixo (em torno de 2% a 4% do total de lactose no leite, havendo variação em relação ao tipo de queijo elaborado) e geralmente no primeiro dia de fabricação do queijo toda a lactose do queijo é transformado em glicose e galactose e então metabolizada, para ácido láctico, ácido pirúvico e outros componentes por meio das culturas lácticas (FURTADO, M. M., 2016; HILL, 2014).

A lactose tem seu teor reduzido em queijos por processos de produção importantes, que constituem a separação e remoção de soro e a fermentação por bactérias. A lactase proveniente de bactérias lácticas degrada a lactose para utilizar a glicose como fonte de energia (PORTNOI & MACDONALD, 2009).

A lactose residual presente no queijo depende do tipo do queijo e de outros fatores, como teor de sal e umidade, utilização de mofos (*Penicillium camemberti*), em queijos de massa menos úmida a lactose é rapidamente degradada (HILL, 2014).

Nos queijos a degradação da lactose realizada por meio das bactérias ácido lácticas, com a formação final de ácido láctico (lactato) é realizada pela via glicolítica (ou Embden-Meyerhof) iniciando-se com a fosforilação da glicose por bactérias termófilas ou mesófilas do

grupo N. Após a degradação inicial em glicose e galactose, a galactose também é transformada em glicose para ter acesso a via glicolítica de degradação (FURTADO, M. M., 2016).

Alguns microrganismos (bactérias mesofílicas do grupo N *Lactococcus lactis subsp. lactis*) não metabolizam a galactose, ocorrendo a degradação por meio da via Tagatose até a galactose ser convertida em dihidroxiacetona-P e então para gliceraldeído-P (glicólise) (FURTADO, M. M., 2016).

Na Tabela 1 são apresentados os teores de lactose em diferentes tipos de queijo.

Tabela 1 – Teor de Lactose em diferentes tipos de queijos.

QUEIJO	TEOR DE LACTOSE (g/100g)
Colonial	0,55 (GRACIOLI, 2013)
Mussarela	traços (MATTAR; MAZO, 2010) 0,13 (GALVÃO, 2012) 0,1-1,0 (FAO, 2013) 0,6 (TROIANO, DENARO E REUTER, 2016)
Provolone	< 1,0 g (NDC, 2016)
Prato	0,03 (GALVÃO, 2012)
Minas frescal	2,4-2,5 (BACK et al., 2013)
Queijo azul	0,4 (FAO, 2013) < 1,0 (NDC, 2016)
Brie	traços (MATTAR; MAZO, 2010) 0,3 (FAO, 2013) < 1,0 (NDC, 2016)
Camembert	traços (MATTAR; MAZO, 2010) 0,2 (FAO, 2013) 0,36 (GRACIOLI, 2013)
Cheddar	0,1 (MATTAR; MAZO, 2010) 0,3 (FAO, 2013) < 1,0 (NDC, 2016)
Edam	traços (MATTAR; MAZO, 2010) 0,8 (FAO, 2013)
Gouda	traços (MATTAR; MAZO, 2010) 0,07 (GALVÃO, 2012) 2,2 (FAO, 2013) < 1,0 (NDC, 2016)
Parmesão	0,9 (MATTAR; MAZO, 2010) 0,5(FAO, 2013) < 1,0 g (NDC, 2016)
Queijo de coalho	1,28 (SILVA, 2012)
Cottage	3,1 (MATTAR; MAZO, 2010) 2,2 (FAO, 2013)

Fonte: adaptado de Dickel *et al.* (2016).

As bactérias termofílicas, e a maioria das cepas de *Lactobacillus bulgaricus*, atuam na metabolização da galactose realizando fosforilação inicial pela via de Leloir, sendo transformada em galactose-1-p por meio da enzima galactokinase, ocorrendo posteriormente conversão para glucose-1-p, por fim utilizando a via da Glicólise como glucose-6-P (FURTADO, M. M., 2016).

3.2 Tecnologia de fabricação de Queijos e Lactose

No processo de fabricação de queijos, quase a totalidade da lactose do leite vai para o soro, restando somente pequenas quantidades no queijo. Essa quantidade de lactose que fica no queijo depende da cultura láctica utilizada, do processo empregado e do tempo que esse queijo será maturado. Algumas etapas do processo são fundamentais na redução do teor de lactose dos queijos, como a acidificação da massa. Na acidificação, a lactose é consumida pelas BAL, que a fermentam e produzem ácido láctico. Isso diminui o pH do queijo e auxilia a ação da enzima coagulante (coalho). As etapas de lavagem da massa e maturação também contribuem para reduzir o teor de lactose. Todas essas etapas ocorrem naturalmente na fabricação dos queijos, fazem parte do processo, e não tem como objetivo principal produzir queijos com baixo teor de lactose.

3.2.1 Lavagem da massa

Em alguns queijos, a cocção da massa é feita de forma direta, através da adição de água quente ao tanque. Essa etapa é denominada delactosagem e os queijos que são obtidos “de massa lavada”.

Com o objetivo de controlar os teores de lactose e ácido láctico no queijo, o procedimento de lavagem da coalhada é praticado na produção de algumas variedades de queijo, como ocorre nos queijos holandeses como Edam, Gouda e Maasdam (HOU, et al. 2012). A finalidade desta etapa é obter queijos macios, de sabor mais suave.

Segundo Furtado, M. M. (2016), a lavagem da massa na fabricação de queijo Mussarela é uma alternativa para redução da lactose e galactose, a fim de diminuir o *browning* (escurecimento). Após o corte e agitação da massa, pode-se retirar até 40% de soro, substituindo-o pela mesma quantidade de água quente a 75°C.

3.2.2 Maturação

Outra etapa fundamental na redução da lactose dos queijos é a maturação. Queijos frescos podem ter uma quantidade maior de lactose do que queijos maturados, dependendo do processo que foi utilizado na fabricação.

O processo de maturação de um queijo caracteriza-se por um período em que ocorrem diversos processos bioquímicos que envolvem três principais eventos: a degradação de carboidratos pelo metabolismo da lactose residual do meio, formando lactato e citrato; a lipólise, degradação de lipídios e metabolismo de ácidos graxos; a proteólise, que constitui a degradação de proteínas e o catabolismo de aminoácidos. Estes acontecimentos resultam na alteração e formação do sabor e textura característica das diferentes variedades de queijo (HILL, 2014; FOX et al., 2000).

Estas modificações bioquímicas são realizadas pela microbiota proveniente da cultura *starter* e enzimas provenientes do coagulante adicionados no processo de fabricação do queijo, do leite (plasmina, as enzimas de células somáticas e lipoproteínas, lipases), bactérias lácticas naturalmente presentes no leite (proteínases, peptidases intracelulares, esterases e enzimas catabólicas de aminoácidos) e iniciadores adjuvantes (proteínases, peptidases e lipases) (FOX et al., 2000).

A adição de cultura *starter* no queijo leva a um aumento das concentrações de ácido láctico e, assim, reduzem as concentrações de lactose. Geralmente, quanto maior for o período de maturação do queijo, menor será o teor de lactose, por este fato, queijos macios e processados possuem maior teor de lactose, porque sua coalhada é separada do soro e utilizada imediatamente, sendo o produto consumido ainda fresco. A variação do período de fermentação e variações no processo produtivo também podem influenciar o teor final de lactose do queijo (PORTNOI & MACDONALD, 2009).

Neste contexto, Portnoi & Macdonald (2009) afirmam que a introdução de queijo maturado na dieta de pessoas com restrições a lactose, pode constituir uma fonte útil de cálcio e fornecer maior variedade a uma dieta restritiva. Têm-se observado a comercialização de queijos de longa maturação, como Parmesão, Pecorino e tipo Grana com a alegação “zero lactose”, processo que pode ocorrer naturalmente devido ao longo processo de maturação, sem a adição intencional da enzima lactase (DICKEL et al., 2016).

O evento glicolítico primário, a conversão de lactose ao lactato, é normalmente mediada pela cultura *starter* durante a preparação da coalhada ou nos estágios iniciais de

maturação. Nos casos em que a glicólise não ocorrer naturalmente, uma microflora secundária as NSLAB podem contribuir (FOX et al, 2000).

McSweeney, et al. (2017) afirmam que após o período de maturação a maioria dos queijos contém um nível muito baixo de lactose, pois a maior parte da lactose é transferida para o soro e a pequena quantidade de lactose residual aprisionada na coalhada é metabolizada por bactérias lácticas provenientes do fermento láctico e outras, durante o início do período.

3.3 Intolerância à Lactose

A intolerância à lactose é uma desordem comum no mundo todo. A intolerância à lactose é a incapacidade de digerir a lactose em seus constituintes, glicose e galactose, em decorrência de baixos níveis da enzima lactase no intestino. É caracterizada como uma desordem metabólica, quando as pessoas são incapazes de digerir quantidades significativas de lactose, devido à uma insuficiência na produção da enzima lactase, proporcionando a má absorção de lactose no intestino (SUCHY et al., 2010; RUSYNYK & STILL, 2001; SAXELIN et al. 2003).

Em tais pacientes, a intolerância à lactose é caracterizada por sintomas abdominais (por exemplo, diarreias, náuseas, distúrbios e dor) após a ingestão de produtos lácteos. Estudos recentes mostram que o risco de sintomas após a ingestão de lactose depende da dose de lactose, expressão de lactase, microbiota intestinal e sensibilidade do trato gastrointestinal (FURTADO, M.M., 2016; MISSELWITZ et al., 2013).

Como consequência, a tolerância à lactose varia amplamente entre os indivíduos com má digestão de lactose. Um único limiar de lactose para todos os indivíduos intolerantes à lactose não pode ser determinado devido à grande variação nas tolerâncias individuais. Nas últimas décadas, produtos lácteos sem lactose ou com lactose reduzida foram desenvolvidos a fim de permitir o consumo de laticínios também por pessoas que sofrem de intolerância à lactose, sem sentir desconforto (MONTI et al., 2017).

A diminuição dos níveis de lactase na mucosa intestinal pode ocorrer por alterações genéticas ou doenças que promovam a destruição da mucosa. A lactase é uma enzima localizada nas microvilosidades do intestino delgado, que tem como uma de suas funções hidrolisar a lactose, originando uma molécula de glicose e uma de galactose, que são absorvidas pelo organismo através de transportadores (GALVÃO L. C., 2012).Unir esse parágrafo com o anterior No processo de intolerância à lactose, se este carboidrato não for absorvido, este composto realizará efeito osmótico no interior do intestino, elevando o conteúdo de água e eletrólitos, o que proporciona o aumento do peristaltismo, dor abdominal e

diarreia, caracterizando os sintomas deste quadro (GALVÃO L. C., 2012). Devido à ação da microbiota sobre o excesso de lactose presente no meio, há a formação de glicose e galactose ou lactato, ácidos graxos de cadeia curta e gases, com consequente manifestação de eructação e flatulência. Ainda, o gás metano formado no intestino, poderia reduzir a motilidade intestinal, o que explicaria alguns casos de constipação associados à diminuição da atividade da enzima lactase (intolerância) (GALVÃO L. C., 2012).

Na intolerância à lactose do tipo hipolactasia do adulto, ocorre a diminuição dos níveis da enzima após o período de lactância, conforme ocorre com todos os animais mamíferos. O comportamento de continuidade da enzima lactase ou normolactasia seria considerada uma mutação genética, promovida a partir do momento em que o homem utiliza o leite de outros mamíferos para o seu sustento (há cerca de 10.000 anos a.C.) (TROELSEN, J. T., 2005; GALVÃO, L. C., 2012).

Na intolerância à lactose, têm-se um polimorfismo genético na população humana, caracterizada por dois fenótipos em adultos: a persistência à lactase e hipolactasia de tipo adulto (lactase não persistente). Enquanto recém-nascidos saudáveis, o organismo humano apresenta elevados níveis de lactase, apresentando digestão de grandes quantidades de lactose, o principal carboidrato do leite proveniente da mãe (TROELSEN, J. T., 2005).

A frequência desta manifestação entre a população é variável, sendo a idade mais comum para o surgimento em torno de cinco anos, podendo surgir a partir de um ano de vida e até na população idosa (BAROKE, 2016; GALVÃO, L.C., 2012).

Na intolerância à lactose por hipolactasia secundária (diminuição da lactase), doenças causam lesões da mucosa do intestino e levam a diminuição da enzima, como a diarreia persistente e doença celíaca, giardíase, alergia à proteína do leite de vaca, entre outras (GALVÃO L. C., 2012).

4 Artigo a ser submetido para Revista Científica

TEOR DE LACTOSE E CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DE QUEIJO DE MASSA LAVADA DURANTE A MATURAÇÃO

Franceline Iaguceski da Silva¹, Fabiane Picinin de Castro-Cislaghi², Ernesto Quast¹

¹ Universidade Federal da Fronteira Sul - Campus Laranjeiras do Sul, Laranjeiras do Sul, PR.

² Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Francisco Beltrão, Francisco Beltrão, PR.

4.1 Resumo

A intolerância à lactose é um distúrbio que atinge grande parte da população, nesse sentido, torna-se viável o emprego de técnica de fabricação que possibilite a garantia de elaboração de produtos com baixo teor de lactose. Diante deste fato, este estudo objetivou avaliar o teor de lactose e características físico-químicas de queijo de massa lavada durante o período de maturação. Para elaboração dos queijos utilizou-se leite integral pasteurizado com teor de 4,55 g/100g de lactose e foi realizado o procedimento de lavagem da massa com 10% de água quente a 75 °C. Os queijos foram analisados nos tempos 0, 7, 15, 30 e 60 dias de maturação quanto ao teor de lactose, acidez, pH, atividade de água, umidade, resíduo mineral fixo e cloretos. A contagem de bactérias ácido-láticas também foi determinada. Os queijos apresentaram teor de lactose inferior a 0,005 g/100g logo após a fabricação (queijos frescos). O pH dos queijos variou de $5,64 \pm 0,02$ a $6,26 \pm 0,10$, a acidez encontrada foi de $0,14 \pm 0,00$ a $0,22 \pm 0,02$ durante o período de maturação, a atividade de água encontrada foi de $0,929 \pm 0,01$ a $0,909 \pm 0,01$. As contagens de bactérias ácido láticas variaram de 5,86 a 7,45 log UFC/g. O tipo de cultura *starter* utilizada e a tecnologia de fabricação naturalmente empregada na produção de queijos de massa lavada possivelmente contribuíram para o baixo teor de lactose dos queijos. Estes resultados demonstram uma alternativa viável para a produção em escala artesanal ou industrial de queijos naturalmente isentos de lactose, acrescentando opções de consumo aos intolerantes à lactose no mercado de derivados lácteos.

Palavras chave: intolerância, delactosagem, fermentação

4.2 Abstract

Lactose intolerance is a disorder that affects a large part of the population. In this sense, it becomes feasible the study of manufacturing techniques that make it possible to guarantee the elaboration of products with low lactose content. Taking this into account, the present study aimed to evaluate the lactose content and physical-chemical characteristics of washed mass cheeses during the maturation period. The production of cheese used pasteurized whole milk with a lactose content of 4.55 g/100 g followed by of the curd with 10% hot water at 75 ° C. Lactose content (IC-EC), acidity, pH, water activity, moisture, fixed mineral residue and chlorides were analyzed at 0, 7, 15, 30 and 60 days of maturation. Lactic acid bacteria count was performed. The lactose content obtained at 0 days of maturation was lower than 0.005 g/100g, the pH of the cheeses varied from $5,64 \pm 0.02$ to 6.26 ± 0.10 , the acidity found was 0.14 ± 0.00 to 0.22 ± 0.02 during the maturation period, the water activity found was 0.929 ± 0.00 to 0.909 ± 0.01 . Lactic acid bacteria count ranged from 5.86 to 7.45 log CFU/g. Therefore, the results showed that the technology used to make these cheeses, using the hot water washing procedure, the type of starter culture used contributed to the low lactose content in the cheeses. These results demonstrate a great alternative for small business and industrial scale production of naturally lactose-free cheeses, adding new options in the milk derivatives market to intolerant consumers.

Keywords: intolerance, delactosing, fermentation

4.3 Introdução

No período de 2009 a 2014, o consumo nacional per capita de queijos apresentou um crescimento de 68,6% no Brasil, atingindo consumo médio de 5,9 kg por habitante por ano. Aspectos como aumento do poder aquisitivo do consumidor e a mudança dos hábitos alimentares como o aumento do consumo de queijos nos serviços de alimentação contribuíram para o crescimento do mercado de queijos (ZACARCHENCO, P. B., et al. 2017).

Zacarchenco P. B. et al. (2017), ainda afirmam que a população brasileira tem se tornado mais seletiva nos alimentos que ingere, no que se refere aos aspectos relacionados aos alimentos saudáveis, que promovam a saúde e bem estar. Diante disto, o consumo dos queijos, sendo produtos derivados de leite, proporcionam diversos benefícios devido ao conteúdo rico em proteínas, minerais e nutrientes benéficos para a saúde.

Porém neste panorama, temos inseridos no mercado de lácteos a possibilidade de rejeição do consumidor devido a presença de lactose nos produtos lácteos, na qual por muitas vezes pessoas que não possuem alguma sensibilidade ou intolerância, optam por não adquirir tais produtos. Este comportamento generalizado, vem impulsionando mudanças e inovações tecnológicas nas indústrias de laticínios, as quais buscam trabalhar cada vez mais com uma linha completa de produtos zero lactose, de forma que não perca das características intrínsecas dos produtos (ZACARCHENCO, P. B., et al. 2017).

A intolerância alimentar constitui uma das principais preocupações de saúde dos consumidores, o que impulsiona o crescimento de alimentos livres de lactose. No mercado de produtos lácteos, os alimentos sem lactose mostraram boa performance em 2015, onde as vendas alcançaram US\$ 6,7 bilhões, representando aumento em relação ao ano de 2014 (BAROKE, 2016).

Estima-se que haverá um crescimento anual médio de 6% de consumo de produtos lácteos, ao longo do período de 2015-2020, no qual os produtos lácteos isentos de lactose corresponderão a 80% do total (BAROKE, 2016).

Nos últimos anos, a lactose se tornou o principal carboidrato de interesse para a indústria de laticínios, devido à crescente demanda por produtos sem lactose por pessoas com redução do metabolismo da lactose (GILLE et al., 2018).

A intolerância a lactose é uma desordem comum no mundo todo. A intolerância à lactose é a incapacidade de digerir a lactose em seus constituintes, glicose e galactose, em decorrência de baixos níveis da enzima lactase no intestino. É caracterizada como uma desordem metabólica, quando as pessoas são incapazes de digerir quantidades significativas de

lactose, devido à uma insuficiência genética na produção da enzima lactase, proporcionando a má absorção de lactose no intestino (SUCHY et al., 2010; RUSYNYK & STILL, 2001; SAXELIN et al. 2003).

Em tais pacientes, a intolerância à lactose é caracterizada por sintomas abdominais (por exemplo, diarreias, náuseas, distúrbios e dor) após a ingestão de produtos lácteos. Estudos recentes mostram que o risco de sintomas após a ingestão de lactose depende da dose de lactose, expressão de lactase, microbiota intestinal e sensibilidade do trato gastrointestinal (FURTADO, M.M., 2016; MISSELWITZ et al., 2013).

Nas últimas décadas, a fim de permitir o consumo de laticínios produtos também por pessoas que sofrem de intolerância à lactose, sem sentir desconforto, produtos lácteos sem lactose ou com lactose reduzida produtos foram desenvolvidos (MONTI et al., 2017).

Diante disto, este trabalho objetivou realizar a quantificação do teor de lactose e avaliação das características físico-químicas de um queijo de massa lavada durante o período de maturação.

4.4 Material e Métodos

4.4.1 Caracterização da matéria-prima

Os queijos foram fabricados em uma indústria de laticínios em São Jorge D' Oeste, na região Sudoeste do Paraná. Para fabricação dos queijos utilizou-se leite cru refrigerado, selecionado a partir de propriedades próximas à indústria. Para obtenção, coleta e transporte do leite, seguiram-se os procedimentos conforme a IN n° 62/2011 (BRASIL, 2011).

Para caracterização da matéria-prima, no momento da recepção foram coletadas três amostras de leite cru refrigerado, para análises de proteína, lactose, sólidos totais e Extrato Seco Desengordurado (ESD), por metodologia de infravermelho (ISO 9622, 2013); Contagem de Células Somáticas (CCS) e Contagem Padrão em Placas (CPP) por metodologia de citometria de Fluxo (ISO 13366-2, 2006; ISO 21187: 2004). Foram realizadas análises de acidez (° Dornic), crioscopia, gordura, densidade e pesquisa de neutralizantes de acidez, de acordo com a metodologia descrita pela IN n° 68/2006 (BRASIL, 2006). Foi realizada pesquisa de detecção de resíduos de antibióticos Betalactâmicos e Tetraciclina por metodologia imunoenzimática ("Twinsensor BT[®]", Unisensor, Bélgica).

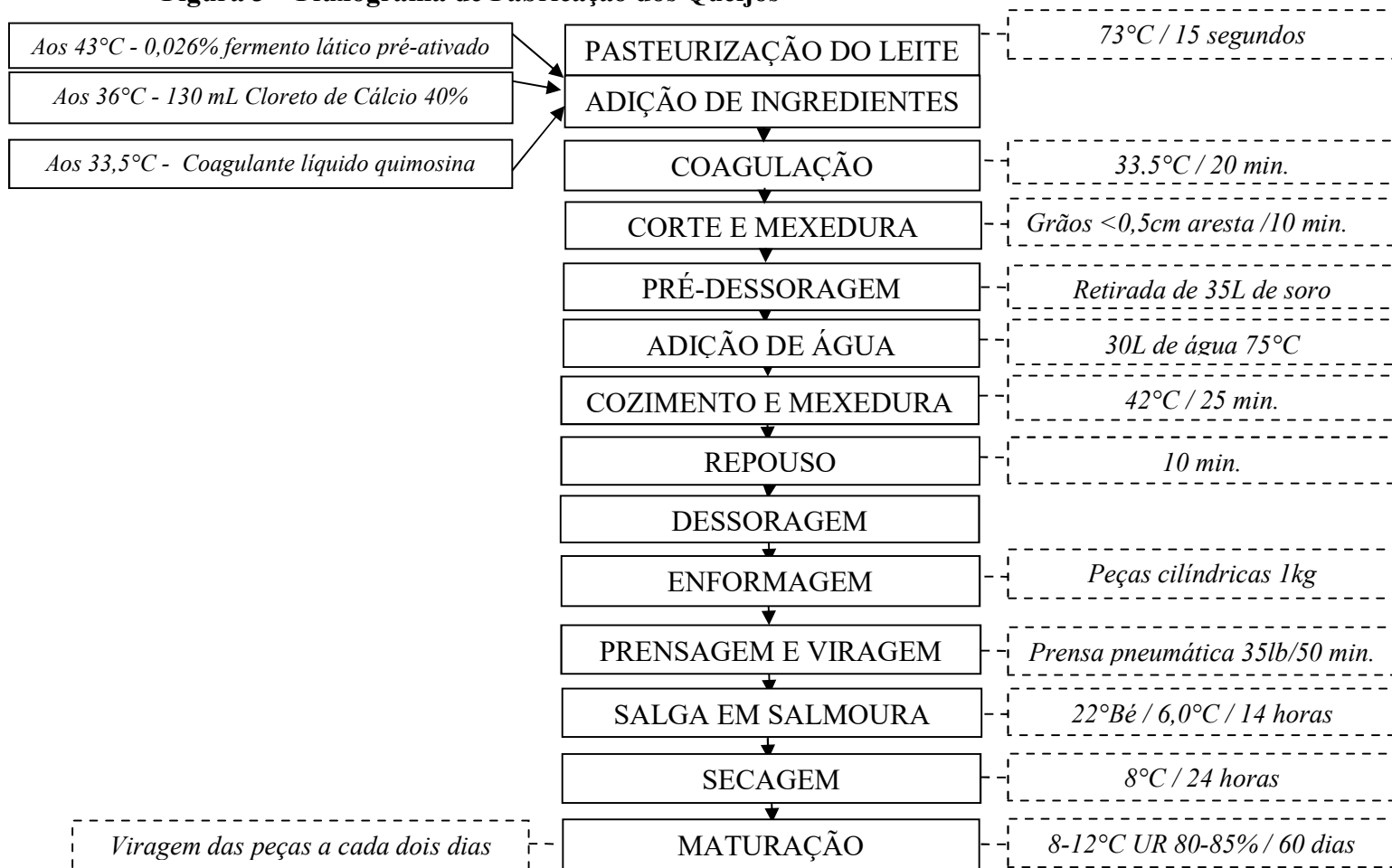
4.4.2 Processo de fabricação do queijo

Os queijos foram fabricados no período de agosto a novembro de 2018. Para produção de cada lote de queijo, foram utilizados 300 L de leite pasteurizado integral (3,5 % gordura), sendo que foram elaborados três lotes.

O fermento láctico utilizado constitui-se de uma cultura láctica mista termófila e mesófila, homofermentativa (Fermento FD-DVS RSF-736 500U *Chr. Hansen*), composta por cepas de *Lactobacillus helveticus*, *Lactococcus lactis subsp. cremoris*, *Lactococcus lactis subsp. lactis* e *Streptococcus thermophilus*. Foi realizada diluição e pré-ativação do fermento, diluindo-se um envelope da cultura *starter* 500 U liofilizada em um litro de leite UHT, assepticamente, à temperatura de 37°C. Após mistura homogênea, o preparado foi armazenado em congelador a -15°C (por 48 horas), em frascos plásticos de 80mL, para uso no momento da fabricação.

O processo produtivo é representado na Figura 3.

Figura 3 – Fluxograma de Fabricação dos Queijos



Fonte: Autoria própria (2018).

4.4.3 Coleta e amostragem

Os queijos foram avaliados durante a maturação, sendo que em cada período (0, 7, 15, 30 e 60 dias), foram coletadas três peças de queijo, de forma aleatória, e seladas à vácuo em embalagens plásticas de polietileno.

Foram produzidos três lotes de queijos, seguindo-se o mesmo processo de fabricação. No entanto, na segunda e terceira bateladas, foram coletadas as amostras de queijos somente logo após a fabricação (tempo 0).

As amostras de queijos foram acondicionadas em caixa térmica contendo gelo reciclável e encaminhadas imediatamente para realização da contagem de bactérias ácido lácticas (BAL). Posteriormente, as amostras foram encaminhadas para as análises físico-químicas, em que foram retirados aleatoriamente, em diversos pontos das peças de queijos, cilindros de aproximadamente 15 mm de diâmetro (com a casca).

As amostras para análise de lactose por cromatografia e glicídios redutores em lactose foram armazenadas em *Ultrafreezer* a -50°C (Coldlab CL 166-50H). Os queijos foram encaminhados para o Laboratório Eurofins do Brasil Ltda. em caixa térmica com gelo seco.

4.4.4 Quantificação de Bactérias Ácido-Láticas

Para quantificação de bactérias ácido-láticas, foi utilizado o ágar MRS - Man Rogosa e Sharpe. Foi feita semeadura em profundidade e as placas foram incubadas a 32°C por 48 h (BRASIL, 2003).

4.4.5 Análises físico-químicas dos queijos

O pH foi determinado por medidor de pH portátil (Caplab 200p, São Paulo, Brasil). A acidez (expressa em ácido láctico) foi avaliada por método titulométrico (BRASIL, 2006).

Para determinação da atividade de água foi utilizado o equipamento Labmaster Novasina (AG CH 8853, Lachen, Suíça) a 25°C .

Para avaliar a umidade e o resíduo mineral fixo (cinzas) foi empregado o método gravimétrico, sendo a determinação de umidade em estufa a 105°C com circulação e renovação de ar (Solab, SL 102, Piracicaba, São Paulo), e as cinzas em mufla a 550°C (Zezimaq) (BRASIL, 2006).

A avaliação do teor de cloretos foi realizada pelo método argentométrico, realizando titulação com solução de Nitrato de Prata 0,1 N (BRASIL, 2006).

A quantificação de lactose foi realizada por dois métodos: glicídios redutores em lactose, de acordo com a IN n° 68/2006 (BRASIL, 2006) e por cromatografia iônica com detecção eletroquímica (IC-EC) (AOAC 982.14 mod.).

4.4.6 Tratamento dos dados

Os resultados foram submetidos à Análise de Variância (ANOVA) e teste de Tukey para comparação entre as médias, utilizando o *software* Sisvar 5.6 (FERREIRA, 2014). Todas as análises foram realizadas em triplicata e os resultados foram expressos como média \pm desvio padrão.

4.5 Resultados e Discussão

4.5.1 Caracterização da matéria-prima

As médias dos parâmetros de qualidade do leite cru refrigerado utilizado para a fabricação dos queijos estão representadas na Tabela 2.

Tabela 2 – Parâmetros de qualidade do leite cru refrigerado utilizado para a fabricação dos queijos.

Parâmetros de qualidade	Resultados*	Requisitos de acordo com a IN 62/2011**
Acidez (°Dornic)	15,67 ± 0,58	14 - 18
Densidade a 15°C (g/mL)	1,0324 ± 0,20	1,028 - 1,034
Crioscopia (°Horvet)	- 0,540 ± 2,65	- 0,530 a -0,550
Gordura (g/100g)	3,55 ± 0,02	Mín. 3,0
Sólidos Totais (g/100g)	12,05 ± 0,06	-
Extrato Seco Desengordurado (g/100g)	8,50 ± 0,04	Mín. 8,4
Proteína (g/100g)	3,03 ± 0,01	Mín. 2,9
Lactose (g/100g)	4,55 ± 0,02	-
Contagem de Células Somáticas (x 1000 cél/mL)	168 ± 24,62	Máx. 500
Contagem Padrão em Placas (x 1000 UFC/mL)	101 ± 43,55	Máx. 300
Resíduo de Antibióticos	Negativo	-
Pesquisa de neutralizantes da acidez	Ausente	Ausente

*Resultados expressos como média ± desvio padrão das análises realizadas em triplicata (n=9).

**Brasil (2011).

Os resultados obtidos demonstram que a matéria-prima estava de acordo com os padrões de qualidade necessários para leite cru refrigerado (BRASIL, 2011).

4.5.2 Avaliação dos queijos frescos (0 dias de maturação)

Os resultados obtidos nas avaliações físico-químicas realizadas nos três lotes de queijos de massa lavada frescos, logo após a fabricação, estão representados na Tabela 3.

Tabela 3 – Parâmetros físico-químicos dos queijos de massa lavada logo após a fabricação (0 dias de maturação)

Parâmetros	Lote 1	Lote 2	Lote 3
Lactose (IC-EC) (g/100g)	< 0,005	< 0,005	< 0,005
Lactose (glicídios redutores em lactose) (g/100g)	<0,28 g/100g	<0,28 g/100g	<0,28 g/100g
Acidez em Ácido Láctico (g/100g)	0,14 ± 0,03 ^b	0,19 ± 0,01 ^a	0,18 ± 0,01 ^a
pH	5,64 ± 0,02 ^b	6,25 ± 0,30 ^a	6,48 ± 0,17 ^a
Atividade de Água	0,929 ± 0,00 ^a	0,931 ± 0,01 ^a	0,925 ± 0,00 ^a
Umidade (g/100g)	39,43 ± 0,87 ^{ab}	38,68 ± 0,50 ^b	39,73 ± 0,84 ^a
Resíduo Mineral Fixo (g/100g)	4,50 ± 0,07 ^a	3,91 ± 0,07 ^b	4,13 ± 0,54 ^{ab}
Cloretos (g/100g)	1,81 ± 0,03 ^a	1,04 ± 0,40 ^b	1,57 ± 0,38 ^a

* Resultado expresso como média ± desvio padrão das análises realizadas em triplicata (n=9).

** Letras minúsculas diferentes na mesma linha indicam diferença significativa entre os queijos (Teste de Tukey, p <0,05).

Avaliando o parâmetro atividade de água, observa-se que não houve diferença significativa nos resultados das análises físico-químicas dos queijos frescos dos diferentes lotes de produção. Algumas diferenças foram observadas devido a diferenças inerentes à matéria-prima ou fatores não controlados. Porém, pode se observar que em todos estes lotes de produção, o teor de lactose obtido foi inferior a 0,005 g/100g, que era o limite de detecção do método de análise do teor de lactose em derivados lácteos com baixa quantidade de lactose.

4.5.3 Avaliação dos queijos durante a maturação

Os resultados das análises físico-químicas dos queijos realizadas durante o período de maturação estão descritos na Tabela 4.

Quanto à quantificação da lactose, obtiveram-se resultados <0,28 g/100g (IN 68/2006) e <0,005 g/100g (AOAC 982.14 mod) também para os queijos ainda frescos, com 0 dias de maturação. Aos 7 dias de maturação, a determinação de lactose foi feita novamente a fim de confirmar os teores obtidos anteriormente e os mesmos resultados foram observados. Assim, nos demais períodos de maturação, não foi necessário quantificar a lactose.

Dessa forma, os queijos produzidos podem ser classificados como “Zero Lactose” de acordo com a legislação vigente, visto que o produto contém quantidade de lactose menor que 100 mg/100g (BRASIL, 2017).

Tabela 4 – Parâmetros físico-químicos dos queijos de massa lavada durante a maturação.

Parâmetros	Período de Maturação (dias)				
	0	7	15	30	60
Lactose (IC-EC) (g/100g)	< 0,005	< 0,005	ND	ND	ND
Lactose (glicídios redutores em lactose) (g/100g)	<0,28 g/100g	<0,28 g/100g	ND	ND	ND
Acidez em Ácido Lático (g/100g)	0,14 ± 0,00 ^d	0,22 ± 0,02 ^a	0,19 ± 0,01 ^b	0,18 ± 0,01 ^{bc}	0,15 ± 0,01 ^{cd}
pH	5,64 ± 0,02 ^c	5,92 ± 0,10 ^b	5,91 ± 0,14 ^b	6,26 ± 0,14 ^a	6,26 ± 0,11 ^a
Atividade de Água	0,929 ± 0,00 ^a	0,932 ± 0,00 ^{ab}	0,926 ± 0,00 ^{bc}	0,920 ± 0,00 ^c	0,909 ± 0,01 ^d
Umidade (g/100g)	39,43 ± 0,87 ^a	36,93 ± 0,79 _b	35,42 ± 0,86 _c	32,24 ± 1,01 ^d	26,59 ± 1,62 ^e
Resíduo Mineral Fixo (g/100g)	4,50 ± 0,07 ^a	4,41 ± 0,61 ^a	4,24 ± 0,20 ^a	4,20 ± 0,22 ^a	4,58 ± 0,14 ^a
Cloretos (g/100g)	1,81 ± 0,03 ^a	1,27 ± 0,04 ^b	1,16 ± 0,13 ^{bc}	1,20 ± 0,04 ^{bc}	1,06 ± 0,19 ^c

* Resultados referentes aos dias de maturação expressos como média ± desvio padrão das análises realizadas em triplicata (n=9). ** Letras minúsculas diferentes na mesma linha indicam diferença significativa entre os queijos nos diferentes períodos de maturação (Teste de Tukey, p <0,05). ND: Não Determinado

Os fatores que podem estar relacionados ao baixo teor de lactose observado nestes queijos são o tipo de cultura *starter* utilizado, o corte da coalhada e o procedimento de delactosagem (retirada do soro e lavagem da coalhada com água quente).

Em relação ao tipo de cultura *starter*, possivelmente o teor reduzido de lactose observado se deve à presença da bactéria láctica termofílica *Streptococcus thermophilus* no fermento utilizado neste estudo, pois esse microrganismo possui a característica de ser excelente fermentador da lactose. (FURTADO, M. M., 2016).

Quanto ao corte da coalhada, o reduzido tamanho do grão (<0,5 cm de aresta) dos queijos produzidos proporciona melhor aquecimento da massa, e assim melhor sinérese, devido a contração do grão e eliminação do soro, com conseqüentemente diminuição do teor de lactose no interior do grão, visto que a lactose é solúvel no soro (JUNIOR et al., 2006).

A etapa de delactosagem certamente contribuiu para a redução da lactose. Estudos demonstram que a lavagem da coalhada reduz significativamente os níveis de lactose residual e ácido láctico, um comportamento típico, diante da solubilidade da lactose em água (HOU et al., 2012). Fox et al. (2000) abordam que substituindo 35 a 45% do soro de leite logo após o corte do coágulo por um igual volume de água morna, reduziu-se o teor de lactose da coalhada de queijo Cheddar, encontrando valores em torno de 0,03% a 0,25% de lactose.

De acordo com Gille et al. (2018), os queijos maturados são naturalmente isentos de lactose. Fato que se torna contraditório ao apelo comercial realizado pelas indústrias de laticínios ao evidenciar com destaque o baixo teor de lactose no rótulo dos queijos maturados como um ponto diferencial dos demais. Neste estudo, mesmo os queijos ainda não maturados (frescos), apresentaram reduzido teor de lactose, devido ao seu processo de fabricação.

Segundo Portnoi & MacDonald (2009), em queijos de massa lavada, a lactose não lixiviada por lavagem é rapidamente utilizada pela cultura *starter*.

Aos 7 dias de maturação, houve um aumento da acidez e posteriormente um declínio nos valores, condizentes com o comportamento do pH dos queijos, em que foi observado um declínio e posterior elevação. Este comportamento é observado devido à uma metabolização de traços residuais de lactose presentes nos queijos, ocasionando um leve declínio no pH, pela formação de ácido láctico.

Posteriormente, em função da proteólise ocorrida em função das transformações bioquímicas ocorridas durante a maturação, o pH elevou-se novamente. Este aumento no pH é comum em muitas variedades de queijo, provavelmente devido à proteólise e degradação de aminoácidos que elevam o pH (FOX et al., 2000).

Os valores de acidez e pH observados diferem do estudo realizado por Dickel et al. (2016), o qual obteve valores de acidez entre 0,28% a 0,43% (% ácido láctico) e pH entre 5,62 a 5,87 em queijos Coloniais. Sousa et al. (2014) obtiveram pH de queijos entre e médias de 5,68 e 5,18, valores abaixo dos resultados encontrados neste estudo. A menor acidez e maior pH observados estão relacionados possivelmente à lavagem da coalhada, em que ocorre a remoção parcial de açúcares fermentescíveis por bactérias lácticas, resultando em menor acidez titulável e menor abaixamento do pH do produto durante a maturação.

De acordo com Fox et al. (2000) e Hou et al. (2012), a lavagem da coalhada e o tempo de maturação influenciam no pH dos queijos. O procedimento de lavagem da coalhada aumenta significativamente o pH dos queijos, fato relacionado aos baixos níveis de lactose e, conseqüentemente, ácido láctico nos queijos, comportamento semelhante ao observado no presente estudo.

Com relação ao parâmetro atividade de água, os resultados obtidos apresentaram diferença significativa nos períodos finais de maturação, havendo perda gradativa de água livre em função da maturação dos queijos. Resultados semelhantes foram descritos por Brandielli (2016) e Pereira et al. (2017), mostrando diminuição significativa da atividade de água ao longo do período de maturação.

Os queijos, durante a maturação tendem a perder umidade por evaporação, e conseqüentemente alguns fatores contribuem para a redução da atividade de água durante a maturação. As proteínas no queijo são hidratadas, e esta água ligada não está disponível para o crescimento bacteriano. No processo de proteólise durante a maturação, havendo formação de peptídeos e aminoácidos e de lipólise, formando glicerol e ácidos graxos há a redução da disponibilidade de água, devido as moléculas de água serem adicionadas nas ligações de hidrólise. Também, a concentração de sal e os ácidos orgânicos (lactato, acetato e propionato) são dissolvidos na parte umidade dos queijos para reduzir a pressão de vapor (FOX et al, 2000).

A modificação da atividade de água no processo de maturação dos queijos, também influencia em sua microbiota. A maioria das bactérias necessita de um valor mínimo de 0,92 para crescimento. As leveduras possuem capacidade de se desenvolver em menor atividade de água do que as bactérias. Em baixa atividade de água, ocorre uma taxa lenta de crescimento dos microrganismos, havendo uma redução do número de células (FOX et al, 2000).

Quanto à umidade, houve diferença significativa entre todos os períodos de maturação. Aos 0 dias de maturação, os queijos apresentaram $39,28 \pm 0,38$ g/100g de umidade, sendo classificados de acordo com o Regulamento Técnico de queijos (BRASIL, 1996), como queijos de média umidade, caracterizados como queijos de massa semidura. Aos 15 dias de maturação

pode-se observar que os queijos apresentaram $35,42 \pm 0,86$ g/100g de umidade, sendo classificados a partir deste período como queijos de baixa umidade, podendo também ser nomeado como queijo de massa dura (BRASIL, 1996).

Não foi observada variação significativa no teor de cinzas durante os diferentes períodos de maturação. Em relação à quantificação de cloretos, os valores encontrados nos queijos foram de $1,06 \pm 0,1$ a $1,47 \pm 0,18$ g/100g. Dickel et al. (2017) encontraram valores de cloretos que diferem do presente estudo, encontrando resultados mais elevados com médias de 1,62% a 1,81% para queijos do tipo Colonial.

4.5.4 Quantificação de bactérias ácido-láticas durante a maturação

A quantificação das bactérias ácido láticas nos queijos é demonstrada na Tabela 5.

A contagem de bactérias ácido láticas é de interesse, pois estas bactérias exercem importante função na transformação da lactose em outros compostos durante o processo de fabricação e na maturação. Estas mudanças afetarão não só a composição, como a textura e aspectos sensoriais dos queijos.

As contagens de bactérias ácido láticas variaram de $5,86 \pm 0,35$ a $7,45 \pm 0,26$ log UFC/g.

Tabela 5 – Quantificação de Bactérias Ácido-Láticas dos queijos de massa lavada durante a maturação

Período de Maturação (dias)	Bactérias Ácido-Láticas (log UFC/g)
0	$5,86 \pm 0,35^b$
7	$6,06 \pm 0,43^{ab}$
15	$7,40 \pm 0,99^a$
30	$6,33 \pm 0,42^{ab}$
60	$7,45 \pm 0,26^a$

* Resultado expresso como média \pm desvio padrão das análises realizadas em triplicata (n=9). ** Letras minúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa entre os queijos nos diferentes períodos de maturação (Teste de Tukey, $p < 0,05$).

Fazem parte das bactérias ácido láticas os microrganismos *Lactococos*, *Leuconostocs*, *lactobacilos* e *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus*. Durante a fabricação de queijos bactérias iniciais aumentam em número de cerca de 2×10^7 UFC/g para 2×10^9 UFC/g em a

coalhada durante a prensagem. Durante a maturação do queijo, as bactérias lácticas provenientes da cultura *starter*, liberam suas enzimas intracelulares na massa, que continuam a agir em componentes da coalhada para desenvolver mudanças desejáveis de sabor, corpo e textura. Durante o processo de maturação, o desenvolvimento de ácido e produção de outros compostos antimicrobianos controlam o crescimento de bactérias indesejáveis no queijo. Ainda, os produtos oriundos do metabolismo das bactérias ácido lácticas contribui para a ocorrência da proteólise, produção de sabor e aroma no queijo (HUI, Y. H., 1992).

4.6 Conclusões

Os queijos de massa lavada produzidos apresentaram baixo teor de lactose logo após a fabricação, antes do início do período de maturação. O processo de lavagem da massa, cultura *starter* utilizada e tamanho do grão possivelmente foram os principais fatores que influenciaram no teor de lactose dos queijos.

Estes resultados são de fundamental importância para a indústria de laticínios, a qual pode utilizar estes processos para produção de queijos naturalmente isentos de lactose, sem a necessidade de hidrólise enzimática intencional (adição de lactase).

4.7 Referências

- BAROKE, S. O futuro dos produtos lácteos sem lactose. **Revista Aditivos & Ingredientes**. p 6-8. 2016. Disponível em: <<http://www.abia.org.br/vsn/temp/z201666Ofuturodosprodutoslacteossem lactose.pdf>> Acesso em: 15 mai. 2017.
- BRANDIELLI, M. C. **Queijo regional do Sudoeste do Paraná durante a maturação: caracterização microbiológica, química e física**. 98f. 2016. Dissertação de Mestrado (Tecnologia em Alimentos), UTFPR, Londrina, 2016.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução – RDC nº 135, de 8 de Fevereiro de 2017. Regulamento técnico referente a alimentos para fins especiais, para dispor sobre os alimentos para dietas com restrição de lactose. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**. Brasília, 2017.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa Nº 62, de 29 de Dezembro de 2011. Aprova o Regulamento Técnico de Produção, Identidade e Qualidade do Leite tipo A, Leite Cru Refrigerado, Leite Pasteurizado e o Regulamento Técnico da Coleta de Leite Cru Refrigerado e seu Transporte a Granel. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**. Brasília, 2011.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 68, de 12 de Dezembro de 2006. Estabelece os Métodos Analíticos Oficiais Físico-Químicos para Controle de Leite e Produtos Lácteos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**. Brasília, 2006.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria Nº 146, de 07 de março de 1996. Estabelece os Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade dos Produtos Lácteos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**. Brasília, 1996.
- DICKEL, C.; JUNKES, J. K.; TONIAL, I. B.; CISLAGHI, F. P. de C. Determinação do teor de sódio e lactose em queijos Mussarela e Colonial consumidos na região Sudoeste do Paraná. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**. v. 71, p. 1-10, 2016.
- FERREIRA, Daniel Furtado. Sisvar: a Guide for its Bootstrap procedures in multiple comparisons. **Ciênc. agrotec**. v. 38, n.2 2014.
- FOX, P. F.; GUINEE, T. P.; COGAN T. M.; MCSWEENEY, P. L. H. Biochemistry of Cheese Ripening. **Chapter: Fundamentals of Cheese Science**. Aspen Publishers, Inc. Gaithersburg, Maryland P. 236-442, 2000.
- FURTADO, M. M. **Mussarela: Fabricação e Funcionalidade**. Setembro Editora. 1º Ed. São Paulo, SP, 2016.
- GALVÃO, L. C. **Intolerância a lactose, Recomendações: atualização de condutas em pediatria**. São Paulo-SP. nº 61, Departamento Científico SPSP. Agosto, 2012.
- GILLE D.; WALTHER B.; BADERTSCHER, R.; BOSSHART, A.; BRÜGGER, C.; BRÜHLHART, M.; GAUCH, R.; NOTH, P.; VERGÉRES, G.; EGGER, L. Detection of lactose in products with low lactose content. Short communication. **International Dairy Journal**. V. 83 p. 17-19, 2018.
- HILL A. R. Ripening processes: chemical and physical changes. Cheese Technology. **Dairy Science and Technology Education Series - University of Guelph**. Canada, 2014. Disponível em: <http://www.foodsci.uoguelph.ca/cheese/sectionc.htm> Acesso em 10 jun. 2017.

HOU, J. A.; HANNON J. A.; MCSWEENEY, P. L. H.; BERESFORD, T. P.; GUINEE, T. P. Effect of curd washing on composition, lactose metabolism, pH, and the growth of non-starter lactic acid bacteria in full-fat Cheddar cheese. **International Dairy Journal**. v. 25, p. 21- 28, 2012.

HUI, Y. H. **Dairy science and technology handbook**. Dairy processing. Dairy products. P 26. 1992.

ISO 9622: 2013 - **Milk and liquid milk products - Guidelines for the application of mid-infrared spectrometry**. Brussels, Belgium, 2013. 14p.

ISO 13366-2: 2006 - **Milk - Enumeration of somatic cells - Part 2: Guidance on the operation of fluoro-opto-electronic counters**. Brussels, Belgium, 2006. 15p.

ISO 21187: 2004 - **Milk - Quantitative determination of bacteriological quality - Guidance for establishing and verifying a conversion relationship between routine method results and anchor method results**. Brussels, Belgium, 01/12/2004. 13p.

ISO 16297: 2013 - **Milk - Bacterial Count - Protocol for the evaluation of alternative methods**. Brussels, Belgium, 2013.

JUNIOR F. A.; VON HOHENDORFF, C.G.; SANTOS, D. **Produção de Queijos**. Monografia (Engenharia Bioquímica) – UFSC, Florianópolis, 2006.

MISSELWITZ, B.; POHL, D.; FRÜHAUF, H.; FRIED, M.; VAVRICKA, S. R.; FOX, M. Lactose malabsorption and intolerance: pathogenesis, diagnosis and treatment **United European Gastroenterology Journal**. v.1, n. 3 p151-159, 2013.

MONTI, L.; NEGRI, S.; MEUCCI, A.; STROPPA, A.; GALLI, A.; CONTARINI, G. Lactose, galactose and glucose determination in naturally “lactose free” hard cheese: HPAEC-PAD method validation. **Food Chemistry**. V. 220, p. 18–24, 2017.

NOGUEIRA, F. **Intolerância a Lactose: Produto lácteos zero lactose. Mercado e Processos**. Globalfood – DSM. Seminário Regional Biotecnologia e Inovação na Indústria de Laticínios. Chapecó, 2017.

PEREIRA E. B.; POZZA, M. S. DOS S.; OLIVO, P. M.; SANTA, O. D.; PIRES, S. DA C.; BORSOI, J. A.; COSTA, P. B.; POZZA, P. C. Microbiota autóctone láctica, mesófila lipolítica e proteolítica em queijo colonial maturado produzido em diferentes épocas do ano. **Rev. Bras. Saúde Prod. Anim.**, v.18, n.4, p.549-559, 2017.

PORTNOI, P. A.; MACDONALD, A. Determination of the lactose and galactose content of cheese for use in the galactosaemia diet. The British Dietetic Association Ltd.: **Journal of Human Nutrition and Dietetics**. v. 22, p 400–408, 2009.

RUSYNYK, R.A. & STILL, C.D. Lactose intolerance. **Journal of the American Osteopathic Association**. 101 (4 Suppl. 1), 10–12, 2001.

SAXELIN, M.; KORPELA, R.; MAKINEN, A. M. **Dairy processing: Functional dairy products**. Woodhead Publishing Limited and CRC Press LLC. Finland, 2003.

SCHAAFSMA, G. Lactose and lactose derivatives as bioactive ingredients in human nutrition. **International Dairy Journal** 18, 458–465, 2008.

SILVA, F.; SILVA, G. **Análise microbiológica e físico-química de queijos Coloniais com e sem inspeção, comercializados na microrregião de Francisco Beltrão-PR**. 59f. 2013. Trabalho Conclusão de Curso (Tecnologia em Alimentos), UTFPR, Francisco Beltrão, 2013.

SOUSA, A. Z. B.; ABRANTES, M. R.; SAKAMOTO, S. M.; SILVA, J. B. A.; LIMA, P. de O.; LIMA, R. N.; ROCHA, M. de O. C.; PASSOS, Y. D. B. Aspectos físico-químicos e microbiológicos do queijo tipo coalho comercializado em estados do nordeste do Brasil. **Arq. Inst. Biol.** São Paulo, v.81, n.1, p. 30-35, 2014.

SUCHY, F.J., BRANNON, P.M., CARPENTER, T.O., FERNANDEZ, J.R., GILSANZ, V., GOULD, J.B. & MENNELLA, J. National Institutes of Health Consensus Development Conference: Lactose Intolerance and Health. **Annals of Internal Medicine.** V. 152, 792–796, 2010.

TROELSEN, J. T. Adult-type hypolactasia and regulation of lactase expression. **Biochim Biophys Acta.** n. 1723 p19–32, 2005.

ZACARCHENCO, P. B.; VAN DENDER, A. G. F.; REGO, R. A. **Brasil dairy trends 2020.** 1 ed., Campinas: ITAL, 2017.

5 Considerações Finais

Os queijos de massa lavada produzidos apresentaram baixo teor de lactose logo após a fabricação, antes do início do período de maturação. O processo de lavagem da massa, cultura *starter* utilizada e tamanho do grão possivelmente foram os principais fatores que influenciaram no teor de lactose dos queijos.

Diante dos resultados obtidos, ressalta-se a necessidade de realizações de trabalhos futuros, avaliando-se queijos com diferentes culturas *starters*, corte da coalhada com diferentes tamanhos de grão e variações no processo de lavagem da massa. Torna-se viável também, avaliar o grau de proteólise destes queijos, sua textura e atributos sensoriais.

6 Referências Complementares

Além das referências utilizadas na elaboração do artigo científico, foram utilizadas as referências a seguir para um maior embasamento técnico dos assuntos tratados no presente trabalho.

BAROKE, S. O futuro dos produtos lácteos sem lactose. **Revista Aditivos & Ingredientes**. p 6-8. 2016. Disponível em: <<http://www.abia.org.br/vsn/temp/z201666Ofuturodosprodutoslacteossem lactose.pdf>> Acesso em: 15 mai. 2017.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria Nº 146, de 07 de março de 1996. Estabelece os Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade dos Produtos Lácteos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**. Brasília, 1996.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 68, de 12 de Dezembro de 2006. Estabelece os Métodos Analíticos Oficiais Físico-Químicos para Controle de Leite e Produtos Lácteos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**. Brasília, 2006.

BYLUND, G. Dairy processing handbook. Tetrapak Processing Systems AB S-221 86 Lund, Sweden, p. 29., 1995.

DICKEL, C.; JUNKES, J. K. ; TONIAL, I. B.; CISLAGHI, F. P. de C. Determinação do teor de sódio e lactose em queijos Mussarela e Colonial consumidos na região Sudoeste do Paraná. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**. v. 71, p. 1-10, 2016.

FOX, P. F.; GUINEE, T. P.; COGAN T. M.; MCSWEENEY, P. L. H. Biochemistry of Cheese Ripening. **Chapter: Fundamentals of Cheese Science**. Aspen Publishers, Inc. Gaithersburg, Maryland P. 236-442, 2000.

FURTADO, M. M. **Mussarela: Fabricação e Funcionalidade**. Setembro Editora. 1º Ed. São Paulo, SP, 2016.

GALVÃO, L. C. **Intolerância a lactose, Recomendações: atualização de condutas em pediatria**. São Paulo-SP. nº 61, Departamento Científico SPSP. Agosto, 2012.

GILLE D.; WALTHER B.; BADERTSCHER, R.; BOSSHART, A.; BRÜGGER, C.; BRÜHLHART, M.; GAUCH, R.; NOTH, P.; VERGÉRES, G.; EGGER, L. Detection of lactose in products with low lactose content. Short communication. **International Dairy Journal**. V. 83 p. 17-19, 2018.

HILL A. R. Ripening processes: chemical and physical changes. Cheese Technology. **Dairy Science and Technology Education Series - University of Guelph**. Canada, 2014. Disponível em: <http://www.foodsci.uoguelph.ca/cheese/sectionc.htm> Acesso em 10 jun. 2017.

HOU, J. A.; HANNON J. A.; MCSWEENEY, P. L. H.; BERESFORD, T. P.; GUINEE, T. P. Effect of curd washing on composition, lactose metabolism, pH, and the growth of non-starter lactic acid bacteria in full-fat Cheddar cheese. **International Dairy Journal**. v. 25, p. 21- 28, 2012.

MCSWEENEY, P. L. H.; FOX, P. F.; CIOCIA, F. **Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology - Metabolism of Residual Lactose and of Lactate and Citrate.** Academic Press. 4° ed. P 411-421. 2017.

MISSELWITZ, B.; POHL, D.; FRÜHAUF, H.; FRIED, M.; VAVRICKA, S. R.; FOX, M. Lactose malabsorption and intolerance: pathogenesis, diagnosis and treatment **United European Gastroenterology Journal.** v.1, n. 3 p151-159, 2013.

MONTI, L.; NEGRI, S.; MEUCCI, A.; STROPPA, A.; GALLI, A.; CONTARINI, G. Lactose, galactose and glucose determination in naturally “lactose free” hard cheese: HPAEC-PAD method validation. **Food Chemistry.** V. 220, p. 18–24, 2017.

NOGUEIRA, F. **Intolerância a Lactose: Produto lácteos zero lactose.** Mercado e Processos. Globalfood – DSM. Seminário Regional Biotecnologia e Inovação na Indústria de Laticínios. Chapecó, 2017.

PORTNOI, P. A.; MACDONALD, A. Determination of the lactose and galactose content of cheese for use in the galactosaemia diet. The British Dietetic Association Ltd.: **Journal of Human Nutrition and Dietetics.** v. 22, p 400–408, 2009.

RUSYNYK, R.A. & STILL, C.D. Lactose intolerance. **Journal of the American Osteopathic Association.** 101 (4 Suppl. 1), 10–12, 2001.

SAXELIN, M.; KORPELA, R.; MAKINEN, A. M. **Dairy processing: Functional dairy products.** Woodhead Publishing Limited and CRC Press LLC. Finland, 2003.

SCHAAFSMA, G. Lactose and lactose derivatives as bioactive ingredients in human nutrition. **International Dairy Journal** 18, 458–465, 2008.

SILVA, F.; SILVA, G. **Análise microbiológica e físico-química de queijos Coloniais com e sem inspeção, comercializados na microrregião de Francisco Beltrão-PR.** 59f. 2013. Trabalho Conclusão de Curso (Tecnologia em Alimentos), UTFPR, Francisco Beltrão, 2013.

SUCHY, F.J., BRANNON, P.M., CARPENTER, T.O., FERNANDEZ, J.R., GILSANZ, V., GOULD, J.B. & MENNELLA, J. National Institutes of Health Consensus Development Conference: Lactose Intolerance and Health. **Annals of Internal Medicine.** V. 152, 792–796, 2010.

TROELSEN, J. T. Adult-type hypolactasia and regulation of lactase expression. **Biochim Biophys Acta.** n. 1723 p19–32, 2005.

ZACARCHENCO, P. B.; VAN DENDER, A. G. F.; REGO, R. A. **Brasil dairy trends 2020.** 1 ed., Campinas: ITAL, 2017.