

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
INSTITUTO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS  
CURSO DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS

Carolina Flores Rosa

**DESENVOLVIMENTO DE INGREDIENTES PREBIÓTICOS  
(GALACTO-OLIGOSSACARÍDEOS) A PARTIR DE LACTOSE, SORO  
DE LEITE E PERMEADO DE SORO DE LEITE**

Porto Alegre  
2023



Carolina Flores Rosa

**DESENVOLVIMENTO DE INGREDIENTES PREBIÓTICOS  
(GALACTO-OLIGOSSACARÍDEOS) A PARTIR DE LACTOSE, SORO  
DE LEITE E PERMEADO DE SORO DE LEITE**

Trabalho de Conclusão do Curso de Bacharelado em Engenharia de Alimentos, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como requisito parcial para a obtenção do Título de Engenheira de Alimentos

Orientador: Prof. Dr. Plinho Francisco Hertz  
Coorientador: Prof. Dr. Jean Philippe Palma Revillion

Porto Alegre  
2023

Carolina Flores Rosa

**DESENVOLVIMENTO DE INGREDIENTES PREBIÓTICOS  
(GALACTO-OLIGOSSACARÍDEOS) A PARTIR DE LACTOSE, SORO  
DE LEITE E PERMEADO DE SORO DE LEITE**

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi julgado adequado para obtenção do Título de “Engenheira de Alimentos” e aprovado em sua forma final pelo Curso de Engenharia de Alimentos, obtendo conceito A.

Porto Alegre, 05 de Abril de 2023.

**Banca Examinadora:**

---

Prof. Dr. Plinho Francisco Hertz  
Orientador  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

---

Prof. Dr. Jean Philippe Palma Revillion  
Coorientador  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

---

Prof. Dr. Gustavo Pires Costa  
Examinador  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

---

Profa. Dra. Amanda de Souza da Motta  
Examinadora  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço à minha família, por todo o suporte dado ao longo desses anos de graduação. Vocês foram essenciais para mim.

Ao Professor Plinho, por desde o meu primeiro dia como bolsista de laboratório ter me acolhido tão bem, acreditando em mim e me incentivando com novas ideias. Foi um prazer ter finalizado esse ciclo contigo sendo meu orientador.

Ao Professor Jean, por ter aceitado ser meu co-orientador, contribuindo com sua experiência e orientação, de forma muito atenciosa.

À Camila, pela enorme ajuda na elaboração do trabalho, estando sempre disponível para isso. Obrigada pelos ensinamentos e por ser tão parceira.

Ao Elí, à Fernanda, à Michele, ao Dener e a todos funcionários do ICTA por serem tão solícitos, e terem me dado suporte quando precisei.

A essa Universidade e os seus Professores, pelas diversas oportunidades oferecidas e pela construção tanto pessoal quanto profissional.

## RESUMO

Os galacto-oligossacarídeos (GOS) são considerados fibras alimentares e prebióticos, uma vez que possuem diversas propriedades que geram benefícios à saúde do consumidor. Sabendo que o mercado de alimentos funcionais está em potencial expansão devido a diversos fatores, o desenvolvimento de ingredientes enriquecidos com GOS obtidos a partir de lactose, soro de leite e permeado de soro de leite torna-se atrativo, visto que esses substratos são matérias-primas abundantes e acessíveis. De forma a obter o Produto Mínimo Viável (PVM) desse ingrediente, o método de secagem por liofilização é uma boa alternativa, uma vez que é possível realizar a secagem em pequenos volumes. Para a alegação funcional dos GOS como “fibras alimentares” é necessário 2,5 g de GOS por porção de produto; assim, é interessante avaliar o uso do ingrediente para obtenção de alegação funcional em produtos alimentícios. Desse modo, esse trabalho teve como objetivo desenvolver Produto Viável Mínimo (PVM) de ingrediente prebiótico enriquecido com galacto-oligossacarídeos (GOS) em pó utilizando uma  $\beta$ -galactosidase de *Bacillus circulans* em soro de leite, permeado de soro de leite e lactose. Além disso, foi realizada uma pesquisa de mercado qualitativa para avaliar a possível aplicação industrial deste ingrediente em chocolates, produtos lácteos e pães na indústria de alimentos. A síntese de GOS foi realizada em pH 7 e a 45°C em banho termostático e sob agitação durante 6 horas. A liofilização foi realizada com o equipamento liofilizador de bancada (marca E-C MODULYO®, Apparatus Inc., EUA). Após os procedimentos, as amostras foram analisadas por cromatografia líquida de alta eficiência, para quantificação dos oligossacarídeos. Os resultados obtidos revelaram que com o uso da lactose pura, 300 g.L<sup>-1</sup>, como substrato, obteve-se 71,21 g.L<sup>-1</sup> de GOS com um rendimento de 23,73%. Já o permeado de soro de leite, 330 g.L<sup>-1</sup>, a concentração obtida foi 114,44 g.L<sup>-1</sup> de GOS, em um rendimento de 34,67%, enquanto para o soro de leite 417 g.L<sup>-1</sup>, a concentração final foi de 118,74 g.L<sup>-1</sup> de GOS sendo o rendimento de 28,47%. Após a liofilização, obteve-se o permeado de soro de leite enriquecido com GOS (33,1% de GOS), o qual pode ser utilizado em produtos com a proporção (m/m) de adição necessária para alegação de propriedade funcional. Nas entrevistas com especialistas, a aceitação da potencialidade de uso mostrou-se viável pelas propriedades físicas e funcionais que o ingrediente permeado de soro de leite enriquecido com GOS oferece, estimando boa aceitação por parte do público.

**Palavras-chave:** Galacto-oligossacarídeos. Prebiótico.  $\beta$ -galactosidase. Soro de leite. Permeado de soro de leite. Liofilização. Chocolate. Pão.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 1</b> - Mercado Funcional de Alimentos Market Share por Região (%) Global, 2020 .....	19
<b>Figura 2</b> - Mercado de alimentos prebióticos – Tamanho do Mercado por região (2019) .....	23
<b>Figura 3</b> - Rotas enzimáticas de conversão de lactose por $\beta$ -galactosidase. A: baixa concentração de lactose (hidrólise); B: alta concentração de lactose (transgalactosilação). .....	24
<b>Figura 4</b> – Projeção de crescimento do mercado de GOS para 2027 .....	25
<b>Figura 5</b> – Alegação de propriedade funcional de FOS .....	29
<b>Figura 6</b> - Alegação de propriedade funcional de Fibras Alimentares .....	30
<b>Figura 7</b> - Diagrama para produção de GOS a partir de substrato .....	36
<b>Figura 8</b> - Perfil cinético da produção de galacto-oligossacarídeos (GOS) em lactose pura a pH 7 e 45°C em diferentes concentrações iniciais .....	39
<b>Figura 9</b> - Perfil cinético da produção de galacto-oligossacarídeos (GOS) em permeado de soro de leite a pH 7 e 45°C em diferentes concentrações iniciais.....	40
<b>Figura 10</b> - Perfil cinético da produção de galacto-oligossacarídeos (GOS) em soro de leite a pH 7 e 45°C em diferentes concentrações iniciais.....	40
<b>Figura 11</b> – Substrato lactose liofilizado .....	43
<b>Figura 12</b> - Substrato permeado de soro de leite liofilizado.....	44
<b>Figura 13</b> - Substrato soro de leite liofilizado.....	44
<b>Figura 14</b> – Obtenção das amostras em pó após trituração .....	45

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> - Galacto-oligossacarídeos comerciais .....	26
<b>Tabela 2</b> - Características do Processo de Produção de GOS comerciais .....	32
<b>Tabela 3</b> – Parâmetros das concentrações máximas de GOS obtidas .....	41
<b>Tabela 4</b> – Efeito da Liofilização na Concentração de GOS .....	45
<b>Tabela 5</b> – Porcentagem de permeado de soro de leite enriquecido com GOS (33,1% de GOS) necessário por porção para alegação de propriedade funcional .....	47

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>15</b>
1.1	OBJETIVOS .....	17
1.1.1	<b>Objetivo Geral</b> .....	<b>17</b>
1.1.2	<b>Objetivos Específicos</b> .....	<b>17</b>
<b>2</b>	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	<b>18</b>
2.1	MERCADO DE ALIMENTOS FUNCIONAIS.....	18
2.2	PREBIÓTICOS .....	20
2.2.1	<b>Galacto-oligossacarídeos</b> .....	<b>23</b>
2.2.2	<b>Legislação</b> .....	<b>27</b>
2.3	PRODUÇÃO ENZIMÁTICA DE GOS .....	30
2.3.1	<b>Substratos para produção de GOS</b> .....	<b>32</b>
2.3.2	<b>Enzima <math>\beta</math>-galactosidase a partir de <i>Bacillus circulans</i></b> .....	<b>33</b>
2.3.3	<b>Liofilização</b> .....	<b>34</b>
<b>3</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	<b>35</b>
3.1	MATERIAIS .....	35
3.2	MÉTODOS .....	35
3.2.1	<b>Atividade da <math>\beta</math>-galactosidase livre</b> .....	<b>35</b>
3.2.2	<b>Desenvolvimento do ingrediente prebiótico</b> .....	<b>35</b>
3.2.2.1	Síntese de Galacto-oligossacarídeos .....	36
3.2.2.2	Liofilização .....	37
3.2.2.3	Análise de Açúcares por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC) .	37
3.2.3	<b>Pesquisa Qualitativa</b> .....	<b>38</b>
<b>4</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÕES</b> .....	<b>39</b>
4.1	Síntese de Galacto-oligossacarídeos .....	39
4.2	Liofilização .....	42
4.3	Alegação de propriedade funcional .....	46

4.4	Pesquisa Qualitativa.....	47
4.4.1	<b>Chocolates .....</b>	<b>47</b>
4.4.2	<b>Pães .....</b>	<b>49</b>
4.4.3	<b>Produtos Lácteos .....</b>	<b>52</b>
5	<b>CONCLUSÃO.....</b>	<b>53</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>55</b>
	<b>ANEXO I – Material Prévio para responsável de indústria de Chocolates .....</b>	<b>67</b>
	<b>ANEXO II – Material Prévio para responsável da indústria de pães.....</b>	<b>68</b>
	<b>ANEXO III – Material Prévio para responsável da indústria de produtos lácteos .....</b>	<b>69</b>



## 1 INTRODUÇÃO

A preocupação com o bem-estar e a saúde tem acelerado a busca por alimentos que, além de atender às necessidades nutricionais, trazem benefícios ao consumidor (Sanders *et al.*, 2019; Farias *et al.*, 2019). Nesse quesito, percebe-se o aumento da inserção de produtos e de suplementos alimentares com propriedades funcionais, como os prebióticos e os simbióticos (Mordor Intelligence, 2021). O consumo desses alimentos, atrelado a uma dieta balanceada e equilibrada, gera a melhora na microbiota intestinal, o aumento da absorção de cálcio (Roberfroid *et al.*, 2010) e a diminuição do risco de doenças cardiovasculares (Letexier, Diraixon, Beylot, 2003).

Galacto-oligossacarídeos (GOS) são uma importante classe de fibras alimentares e de prebióticos, uma vez que não são digeríveis e aumentam seletivamente a atividade benéfica da microbiota intestinal, estimulando o crescimento de microrganismos benéficos, como *Bifidobacterium* e *Lactobacillus* (Gibson *et al.*, 2010; Sako, Tanaka, 2011; Gosling *et al.*, 2011; Davani-Davari *et al.*, 2019).

Os GOS são produzidos a partir da reação de transgalactosilação catalisada pela enzima  $\beta$ -galactosidase (EC 3.2.1.23), onde o seu rendimento é influenciado pela concentração de lactose, pH, temperatura e fonte de enzima (Torres *et al.*, 2010; Fai, Pastore, 2015). De forma a gerar produções a partir de resíduos agroindustriais, os galacto-oligossacarídeos podem ser produzidos a partir de substratos alternativos e baratos, como o soro de leite e o permeado de soro de leite, gerando ingredientes com grande relevância para a indústria alimentícia (Guimarães, Teixeira, Domingues, 2010; Gabardo *et al.*, 2014; Dias, Raychaudhuri; Ghosh, 2016).

No Brasil, os GOS ainda não são produzidos na indústria, mas já se apresentam como potenciais ingredientes no exterior. Isso é evidenciado em um estudo de Fior Markets (2019), onde dados mostram que mercado global de GOS, que era de US\$ 768,38 milhões em 2018 deve movimentar US\$ 1.622,28 milhões em 2026, refletindo um aumento de 111%. Desse modo, o desenvolvimento de tecnologia e da consequente produção desses oligossacarídeos no Brasil pode beneficiar o comércio e as indústrias locais, além de proporcionar maior variedade de produtos funcionais

conhecidos por prevenir doenças e por possuir alto valor nutricional aos consumidores.

Os GOS apresentam diversas propriedades que tornam o seu uso potencial em alimentos, como: possuem um baixo valor calórico (1,73 kcal/g), são ligeiramente doces (30%– 60% de doçura da sacarose), são anti-cariogênicos (Fai, Pastore, 2015), são estáveis em processos que utilizam altas temperaturas, e apresentam solubilidade de 80% (Sako, Matsumoto; Tanaka, 1999; Van-Leusen *et al.*, 2014). Ainda, possuem a propriedade de terem elevada capacidade de retenção de umidade, o que evita a secagem excessiva (Lamsal, 2012; Van-Leusen *et al.*, 2014). Devido a essas características, seu uso se mostra interessante para aplicação na indústria de alimentos, como em chocolates, pães e produtos lácteos.

A utilização do soro de leite ou permeado de soro de leite enriquecidos com GOS na indústria é mais atraente em sua forma em pó, onde o processo de liofilização é um método de secagem que pode ser aplicado em pequena escala. Além disso, a liofilização produz alterações mínimas nos alimentos quanto aos aspectos nutricionais e sensoriais, proporcionando a obtenção de produtos de alto valor agregado (Celestino, 2010). Por esses motivos, foi o método escolhido para a transformação do produto enriquecido para a forma em pó.

## 1.1 OBJETIVOS

### 1.1.1 Objetivo Geral

O objetivo geral desse trabalho foi desenvolver um produto em pó com características prebióticas e fazer uma avaliação prévia – através de uma pesquisa de mercado qualitativa – da viabilidade de aplicar estes ingredientes em chocolates, produtos lácteos e pães na indústria de alimentos.

### 1.1.2 Objetivos Específicos

Os objetivos específicos desse trabalho foram:

- a) avaliar diferentes substratos (lactose, soro e permeado de soro de leite) para obtenção de GOS;
- b) utilizar método de secagem para transformação do produto em pó, obtendo-se um Produto Viável Mínimo (PVM);
- c) prospectar segmentos do mercado para entender a potencialidade de uso do ingrediente prebiótico em produtos alimentícios.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 MERCADO DE ALIMENTOS FUNCIONAIS

O envelhecimento das populações, as pesquisas científicas que associam determinadas dietas às prevenções de doenças, assim como a renda e a vida nas grandes cidades são fatores que influenciam a busca de um estilo de vida mais saudável (Vialta *et al.*, 2010). Aliado a isso, a pandemia da COVID-19 gerou uma maior expressão de consumidores que esperam atribuir benefícios à saúde através da ingestão de alimentos, como o fortalecimento da imunidade (Mordor Intelligence, 2021).

Uma pesquisa realizada pela Mintel (2009) denominada “Atitudes em relação à comida, peso e dieta” revelou que a nutrição consiste em tema importante em todos os segmentos de consumidores norte-americanos. Segundo a pesquisa, 37% dos entrevistados afirmaram que estão procurando tornar sua dieta mais saudável em comparação ao ano anterior.

Com os dados evidenciados da tendência de “Saudabilidade e Bem-Estar” por parte dos consumidores em nível global, vários segmentos surgiram, entre eles o mercado de alimentos funcionais. Existem diversos segmentos nesse mercado, tais como produtos que visam o bom funcionamento físico e mental, a saúde cardiovascular e a saúde gastrointestinal (Vialta *et al.*, 2010).

Um alimento funcional é um alimento convencional que possui benefícios adicionais para a saúde além de seu valor nutricional normal. Eles podem ajudar na redução do risco de doenças através de efeitos fisiológicos dos seus componentes funcionais, como antioxidantes, fibras, minerais e vitaminas (Younesi, Ayseli, 2015). Embora não haja uma definição formal de alimentos funcionais na legislação brasileira, existem orientações estabelecidas para o uso de alegações relacionadas às propriedades funcionais e de saúde desses alimentos (Costa, Rosa, 2016).

De acordo com o “Guia para avaliação de alegação de propriedade funcional e de saúde para substâncias bioativas presentes em alimentos e suplementos alimentares” da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (2021), a alegação de propriedade funcional refere-se ao efeito fisiológico específico de um componente ou

conjunto de componentes do alimento, enquanto a alegação de propriedade de saúde refere-se ao efeito benéfico geral da dieta ou de um componente ou conjunto de componentes do alimento sobre a saúde. É estabelecido que essas alegações precisam passar por um processo de registro e de aprovação da ANVISA antes de serem comercializados no Brasil.

As empresas de alimentos têm investido em pesquisa e desenvolvimento para desenvolver produtos que atendam a essas tendências. De acordo com o relatório de Mordor Intelligence (2021), o mercado global de alimentos funcionais foi mensurado em US\$ 176.518,97 milhões em 2020, com a previsão de crescer a uma Taxa de Anual Composta (CAGR) de 2,71% no período 2021-2026.

No relatório de Mordor Intelligence (2021), a Ásia-Pacífico apresenta-se como o principal mercado para produtos de alimentos funcionais. Nos países como Japão e China, observa-se inovações nas embalagens, ingredientes e sabores de laticínios, introduzindo variantes fortificadas e impulsionando o mercado de alimentos funcionais.

**Figura 1** - Mercado Funcional de Alimentos Market Share por Região (%) Global, 2020



Fonte: Mordor Intelligence, 2021.

A Figura 1 demonstra o *Market Share* do mercado funcional de alimentos por continente. É notório que os continentes da América do Norte, América Central, Europa e boa parcela da Ásia possuem um mercado bem desenvolvido para esse setor. Entretanto, América do Sul e África mostram um desenvolvimento baixo para o mercado funcional de alimentos, o que pode ser interpretado como potenciais continentes a serem desenvolvidos nessa tendência mercadológica.

## 2.2 PREBIÓTICOS

Dentro do segmento do mercado de alimentos funcionais com impacto sobre a microbiota intestinal, existem três grupos principais: os prebióticos, os probióticos e os simbióticos. Em 2008, o 6º Encontro da Associação Científica Internacional de Probióticos e Prebióticos (ACIPP) definiu “prebiótico dietético” como “um ingrediente seletivamente fermentado que resulta em mudanças específicas na composição e/ou atividade da microbiota gastrointestinal, conferindo assim benefício(s) à saúde do hospedeiro” (Gibson *et al.*, 2010). Essa definição foi bem aceita nos últimos anos, em que ressalta que o consumo de prebióticos está associado ao bem-estar humano.

Os compostos prebióticos são grupos de carboidratos não digeríveis formados por uma seleção específica de monômeros de carboidratos, classificados de acordo com a quantidade de monômeros em sua estrutura. Os polissacarídeos apresentam mais de 10 monômeros, enquanto oligossacarídeos apresentam de 3 a 10 monômeros e dissacarídeos apresentam 2 monômeros (Manzoor *et al.*, 2022). Esses compostos estão presentes naturalmente em diferentes alimentos, como aspargos, beterraba, sacarina, alho, chicória, cebola, alcachofra de Jerusalém, trigo, mel, banana, cevada, tomate, centeio, soja, leite humano e de vaca, ervilha, feijão, algas e microalgas (Varzakas *et al.*, 2018). Porém, devido à sua baixa concentração nesses alimentos, há a necessidade da fabricação dos compostos em escalas industriais, sendo produzidos a partir de lactose, sacarose e amido como matéria-prima (Al-Sheraji *et al.*, 2013).

Os ingredientes prebióticos não são digeríveis pelo trato gastrointestinal (TGI) humano, ou seja, são fibras resistentes à hidrólise de enzimas digestivas do intestino

delgado. Com isso, permanecem estáveis no cólon e são fermentados pelas bactérias bifidobactérias e lactobacilos (probióticos). A produção de ácido láctico, ácidos graxos de cadeia curta (como ácido acético, ácido propiônico e ácido butírico) e gases é resultante desse processo, que geram a diminuição do pH intestinal e a inibição do crescimento de microorganismos prejudiciais (Raizel *et al.*, 2011). Ainda, há diversos estudos que têm demonstrado as propriedades benéficas da ingestão de prebióticos, como:

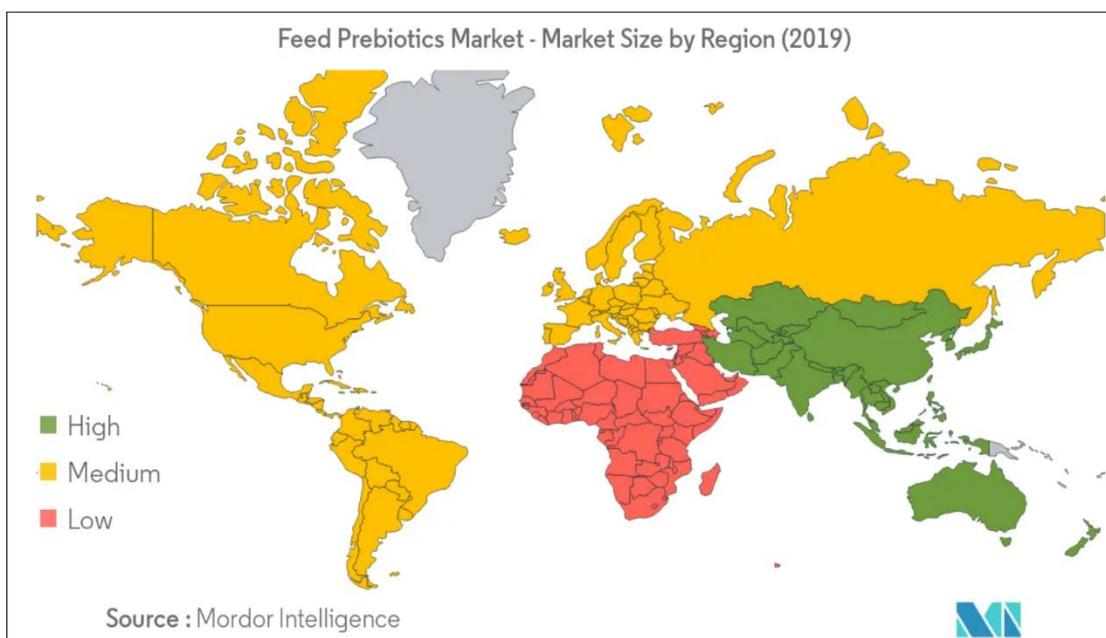
- Aumento da absorção de cálcio: Um dos produtos da fermentação dos prebióticos pela microbiota são os ácidos graxos de cadeia curta, os quais contribuem para diminuir o pH no intestino grosso e, com isso, aumentam a biodisponibilidade do cálcio (Roberfroid *et al.*, 2010).
- Proteção contra o risco de câncer colorretal: Os prebióticos fomentam o desenvolvimento de bifidobactérias e de lactobacilos. O aumento dessas bactérias benéficas promove a prevenção de promotores de tumores por bactérias não-benéficas. Assim, há indução da necrose das células colônicas, o que leva a melhora da integridade e função da barreira epitelial. Além disso, a proliferação de bactérias ácido-láctico no intestino pode reduzir a atividade de enzimas bacterianas envolvidas na síntese de compostos cancerígenos e genotóxicos (Candela *et al.*, 2011; Pool-Zobel, 2005; Rafter *et al.*, 2007).
- Fortalecimento da imunidade: A ingestão de prebióticos pode diminuir a população de bactérias nocivas, induzindo o desenvolvimento de moléculas de imunidade, como citocinas (Stinson, Payne, Keelan, 2017; Denji *et al.*, 2015; Klatt *et al.*, 2013; Langen, Dieleman, 2009; Steed, 2009).
- Diminuição do risco de doenças cardiovasculares: Várias investigações demonstraram uma melhora no perfil lipídico pelo consumo de prebióticos, através da redução dos elementos inflamatórios, como os triglicerídeos sanguíneos (Letexier, Diraixon, Beylot, 2003).

Dessa maneira, percebe-se que os prebióticos também têm impactos sistêmicos, influenciando nas vias metabólicas e nas funções corporais (Gibson *et al.*, 2017). Entre os prebióticos mais estudados, pode-se citar:

- Os frutanos (inulina e fruto-oligossacarídeos (FOS) / oligofrutose) - relacionados à proliferação de bactérias ácido-lácticas (Scott *et al.*, 2014);
- Os galacto-oligossacarídeos (GOS) – relacionados à estimulação de bifidobactérias, lactobacilos, enterobactérias, bacteroidetes e firmicutes (Louis; Flit; Michel, 2016);
- A pectina – relacionados estimulação da proliferação de firmicutes e de bacterioidetes (Chung *et al.*, 2016).

Com o crescimento do mercado de prebióticos, em destaque para os FOS e os GOS, observa-se a inserção de produtos e de suplementos alimentares com benefícios funcionais. Isso é evidenciado no relatório da Mordor Intelligence (2021), em que se prevê que o mercado de ingredientes prebióticos da América do Sul registre um CAGR (Taxa de Crescimento Anual Composta) de 7,4%, durante 2020 - 2025. A principal razão para esse fator é a crescente demanda por probióticos e misturas de alimentos probióticos e prebióticos – produtos simbióticos (Mordor Intelligence, 2021). De acordo com Raizel *et al.* (2011), p. 6: Simbióticos são alimentos contendo simultaneamente microrganismos probióticos e ingredientes prebióticos, resultando em produtos com as características funcionais dos dois grupos, que em sinergia vão beneficiar a saúde do consumidor.

**Figura 2 - Mercado de alimentos prebióticos – Tamanho do Mercado por região (2019)**



Fonte: Mordor Intelligence (2021).

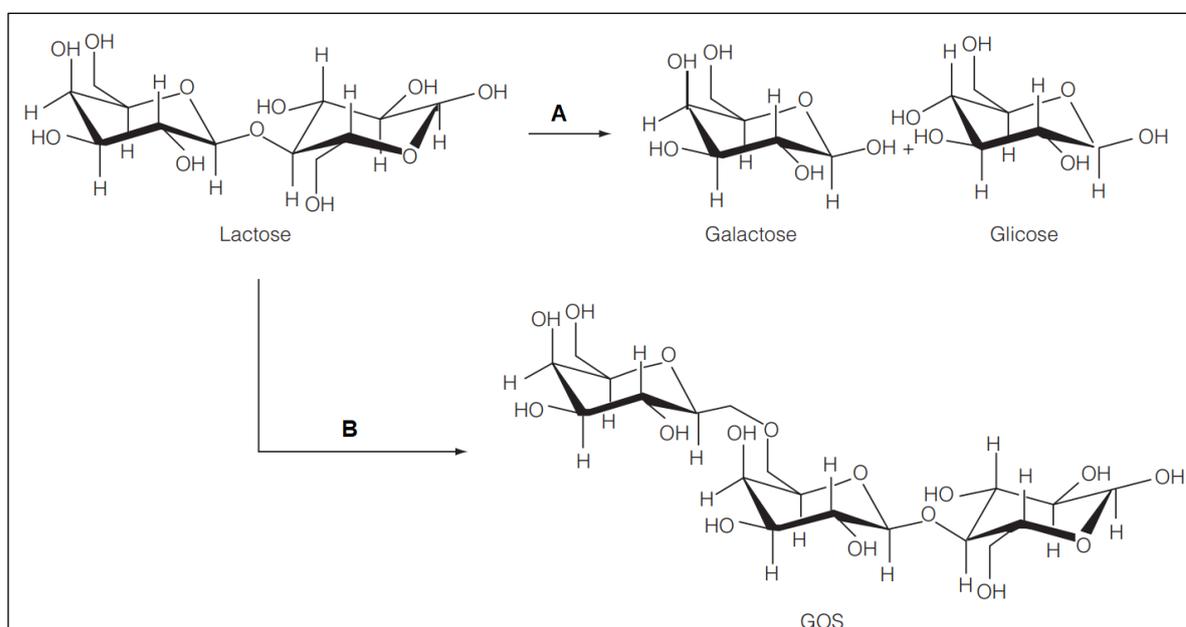
Apesar do Brasil ter uma média participação no mercado de prebióticos a nível global, como demonstra a Figura 2, o país detém a maior participação na receita entre toda a região sul-americana. As três principais razões para o desenvolvimento da indústria da saúde e do bem-estar no Brasil consistem na alta dominância de pacientes diabéticos e com problemas cardiovasculares, o aumento da vida ativa entre a população, e a alta incidência de bebês de baixo peso que necessitam de alternativas ao leite (como os prebióticos) para ajudá-los a ter um crescimento sustentado e saudável (Mordor Intelligence, 2021).

### 2.2.1 Galacto-oligossacarídeos

Os galacto-oligossacarídeos (GOS) fazem parte do grupo de oligossacarídeos compostos por moléculas de galactose ligadas à lactose. Eles são formados por tri a hexassacarídeos com 2-5 unidades de galactose (Sako, Matsumoto, Tanaka, 1999), sendo produzidos a partir de lactose por atividade de transgalactosilação da enzima b-D-galactosídeo galactohidrolase (E.C.3.2.1.23), designada usualmente como

$\beta$ -galactosidase. De acordo com Jurado *et al.* (2002), a enzima  $\beta$ -galactosidase apresenta capacidade de hidrolisar a lactose e de transgalactosilar a galactose em seu sítio ativo, sendo a hidrólise da lactose favorecida em substratos com baixa concentração de lactose, como mostra a Figura 3. Já para a transgalactosilação, existem três fatores que podem favorecer a reação: a alta concentração de lactose, temperatura elevada e baixa atividade de água no meio reacional (Valero, 2009).

**Figura 3** - Rotas enzimáticas de conversão de lactose por  $\beta$ -galactosidase. A: baixa concentração de lactose (hidrólise); B: alta concentração de lactose (transgalactosilação).



Fonte: Martins, Burkert, 2009 (adaptado).

Além de possuírem as propriedades benéficas dos ingredientes prebióticos citadas, há estudos que comprovam a relação da suplementação com GOS (7% p/p) com a redução da absorção de gordura e dos níveis de colesterol (Mistry *et al.*, 2020), assim como a suplementação de GOS (5% p/p) com o fortalecimento do sistema imunológico e a diminuição da inflamação sistêmica (Ghosh *et al.*, 2019). Assim, é possível afirmar que os GOS são ingredientes prebióticos de alto valor agregado com diversos benefícios à saúde humana (Kothari, Patel, Goyal, 2014).

Os galacto-oligosacarídeos existem naturalmente nos alimentos, porém em baixas quantidades. Para surtir efeitos e melhorar a flora bacteriana, a recomendação

usual de FOS, GOS, ou inulina são 2,0 a 3,0 g / dia. Já no caso de indivíduos com diabetes e índice elevado de gordura no sangue (colesterol e triglicerídeos), as quantidades aumentam para 8 a 20 g / dia (Carabin, Flamm, 1999).

Dessa maneira, observa-se a necessidade da produção desses prebióticos em escala industrial para atender à demanda crescente desse prebiótico, que deve continuar aumentando na próxima década (Scott, Vera, Conejeros, 2016). Em parâmetros mercadológicos, o relatório *Galacto-oligossacarídeo (GOS) - Trajetória de mercado global e empresa analítica*, (Research and Markets, 2022), ressaltou que a comercialização de GOS em 2020 foi de aproximadamente US\$ 566,3 milhões. A expectativa de crescimento é US\$ 291,2 milhões entre 2020 e 2027, com taxa de crescimento anual de 6,1%.

**Figura 4** – Projeção de crescimento do mercado de GOS para 2027



Fonte: Research and Markets, 2022.

Comercialmente, os GOS estão à venda na forma líquida ou em pó, sendo uma mistura de diferentes espécies de oligossacarídeos, como lactose, glicose e galactose (Tomal *et al.*, 2010). Na Tabela 1, encontram-se os GOS disponíveis no mercado, assim como o fornecedor, o país fabricante e o seu grau de pureza.

**Tabela 1 - Galacto-oligossacarídeos comerciais**

<b>Produto</b>	<b>Empresa</b>	<b>País</b>	<b>Grau de pureza</b>
Oligomate 55 N	Yakult Honsha Co. Ltd.	Japão	55%
TOS-100	Yakult Honsha Co. Ltd.	Japão	99%
Cup-Oligo H-70	Nissin Sugar Manufacturing Co. Ltd.	Japão	70%
Vivinal GOS	Friesland Campina Domo	Holanda	57%
TO-syrup	Borculo Whey Products	Holanda	60%
Purimune	Corn Products International Incorporation Inc.	Estados Unidos	90%
Bimuno GOS	Classado Biosciences	Reino Unido	46-60%

Fonte: Tomal *et al.*, 2010; Torres *et al.*, 2010; Lamsal, 2012; Van-Leusen *et al.*, 2014; Panesar *et al.*, 2018.

A principal aplicação do ingrediente prebiótico (GOS) em alimentos é em fórmulas infantis, na qual estão presentes em concentrações de 6,0 – 7,2 g.L<sup>-1</sup> combinados a 0,6 – 0,8 g.L<sup>-1</sup> de FOS (Charalampopoulos, Rastall, 2012; Torres *et al.*, 2010; Vulevic *et al.*, 2008).

Devido às suas propriedades tecnológicas, à sua estabilidade ao processamento e por não afetarem as características organolépticas (Charalampopoulos, Rastall, 2012; Wang, Langrish, 2009), a indústria alimentícia vem estudado a adição de oligossacarídeos prébióticos em diversos alimentos (Sangwan *et al.*, 2011). A aplicação de GOS, por sua vez, mostra-se interessante em:

- Produtos de panificação: Devido à sua alta capacidade de retenção de umidade, os GOS podem ser aplicados em produtos de panificação, impedindo a secagem excessiva (Charalampopoulos, Rastall, 2012; Torres *et al.*, 2010; Vulevic *et al.*, 2008). Além disso, durante a fermentação com a levedura e o cozimento, os GOS não são degradados, auxiliando no sabor e na textura (Tomal *et al.*, 2010);

- **Produtos lácteos:** A adição de ingredientes prebióticos aos produtos lácteos probióticos já existentes no mercado é interessante, pois pode tornar esses produtos com a alegação funcional de serem simbióticos. Ademais, devido sua elevada solubilidade e semelhança aos oligossacarídeos presentes no leite, os GOS são facilmente dissolvidos no leite e em outros produtos lácteos, podendo ser utilizado para melhorar propriedades texturais desses produtos (Cardelle-Cobas *et al.*, 2011; Playne, Crittenden, 2009; Sangwan *et al.*, 2011). Há estudos que mostram a diminuição da sinérese (de 41% a 28%) e, conseqüentemente, aumento da consistência de iogurtes desnatados após a adição de 13,6% de GOS (Ng *et al.*, 2018). Ao comparar a adição de outros prebióticos no iogurte (xilo-oligossacarídeo, polidextrose, fruto-oligossacarídeo e inulina), apenas o acréscimo de GOS (2,5 g.mL<sup>-1</sup>) resultou em maior viscosidade aparente e resistente do iogurte, devido a formação de uma forte rede de proteínas (Costa *et al.*, 2019);
- **Produtos doces:** Uma vez que os GOS possuem sabor levemente doce e baixo valor calórico (menor que 50%, comparado à sacarose), eles podem ser acrescentados como substitutos do açúcar (Cardelle-Cobas *et al.*, 2011; Playne, Crittenden, 2009; Sangwan *et al.*, 2011), gerando produtos com menor valor calórico.

### 2.2.2 Legislação

Como mencionado anteriormente, hoje, os galacto-oligossacarídeos estão presentes em fórmulas infantis. Na legislação brasileira, os GOS são encontrados na RDC nº 48, de 25 de Setembro de 2014, que dispõe sobre o regulamento técnico para fórmulas infantis para lactentes destinadas a necessidades dietoterápicas específicas e fórmulas infantis de seguimento para lactentes e crianças de primeira infância destinadas a necessidades dietoterápicas específicas.

O Artigo 2º da Resolução explicita que a adição de GOS ou outros nutrientes opcionais nesses produtos devem ter suas quantidades declaradas na informação nutricional. Ainda, a combinação de 90% de galacto-oligossacarídeos e 10% de fruto-

oligossacarídeos não pode ultrapassar o limite de 0,8 g/100 mL, a não ser que sejam comprovados cientificamente como seguros e adequados para o crescimento e desenvolvimento dos lactentes e das crianças de primeira infância, preferencialmente, por meio de revisão sistemática de ensaios clínicos publicada em revistas científicas indexadas.

A solicitação para obtenção de alegações de propriedade funcional e de saúde pela ANVISA deve ser baseada em ensaios clínicos conduzidos com metodologia adequada ou em estudos epidemiológicos, onde os resultados precisam demonstrar, de forma consistente, a associação entre o alimento ou seu constituinte e o efeito benéfico à saúde, com pouca ou nenhuma evidência em contrário.

Os fruto-oligossacarídeos são semelhantes aos galacto-oligossacarídeos, uma vez que ambos são oligossacarídeos não digeríveis, resistentes às enzimas digestivas do intestino, tendo efeitos similares ao da fibra insolúvel (Mello, 2008). Os FOS já possuem alegação aprovada pela ANVISA (Figura 5), enquanto os GOS não estão presentes nessa alegação. Dado a potencialidade do ingrediente evidenciada no exterior, acredita-se que sua alegação deverá ser aprovada nos próximos anos.

**Figura 5 – Alegação de propriedade funcional de FOS**

<b>FRUTOOLIGOSSACARÍDEO – FOS</b>
<b>Alegação</b>
“Os frutooligossacarídeos – FOS (prebiótico) contribuem para o equilíbrio da flora intestinal. Seu consumo deve estar associado a uma alimentação equilibrada e hábitos de vida saudáveis”.
<b>Requisitos específicos</b>
Esta alegação pode ser utilizada desde que a recomendação de consumo diário do produto pronto para consumo forneça no mínimo 5 g de FOS. A porção deve fornecer no mínimo 2,5 g de FOS.
Na tabela de informação nutricional deve ser declarada a quantidade de “frutooligossacarídeos (FOS)”, abaixo de fibras alimentares.
O uso do ingrediente não deve ultrapassar 30g na recomendação diária do produto pronto para consumo, conforme indicação do fabricante.
Quando apresentada isolada em cápsulas, tabletes, comprimidos, pós e similares, deve constar no rótulo do produto a seguinte informação, em destaque e em negrito:
<b>“O consumo deste produto deve ser acompanhado da ingestão de líquidos”.</b>

Fonte: ANVISA, 2019.

Entretanto, por serem fibras insolúveis, os GOS podem ser considerados como fibras alimentares. Ao fornecer 2,5 g de GOS por porção do alimento, pode-se utilizar a alegação no rótulo: “As fibras alimentares auxiliam o funcionamento do intestino. Seu consumo deve estar associado a uma alimentação equilibrada e hábitos de vida saudáveis”, conforme indicado na Figura 6.

**Figura 6** - Alegação de propriedade funcional de Fibras Alimentares

<b>FIBRAS ALIMENTARES</b>	
<b>FIBRAS ALIMENTARES</b>	
<b>Alegação</b>	
"As fibras alimentares auxiliam o funcionamento do intestino. Seu consumo deve estar associado a uma alimentação equilibrada e hábitos de vida saudáveis".	
<b>Requisitos específicos</b>	
Esta alegação pode ser utilizada desde que a porção do produto pronto para consumo forneça no mínimo 2,5 g de fibras, sem considerar a contribuição dos ingredientes utilizados na sua preparação.	
Na tabela de informação nutricional deve ser declarada a quantidade de fibras alimentares.	
No caso de produtos nas formas de cápsulas, tabletes, comprimidos e similares, os requisitos acima devem ser atendidos na recomendação diária do produto pronto para o consumo, conforme indicação do fabricante.	
Quando apresentada isolada em cápsulas, tabletes, comprimidos, pós e similares, a seguinte informação, em destaque e em negrito, deve constar no rótulo do produto:	
<b>"O consumo deste produto deve ser acompanhado da ingestão de líquidos"</b> .	

Fonte: ANVISA, 2019.

Ainda que os GOS não sejam classificados como prebióticos pela legislação brasileira, no exterior esses componentes já são alegados dessa forma. Assim, enquanto a alegação de propriedade funcional de GOS como prebiótico na legislação brasileira não é formalizada, uma alternativa é utilizar a alegação funcional de "fibra alimentar", ressaltando sua ingestão ao auxílio do funcionamento do intestino.

### 2.3 PRODUÇÃO ENZIMÁTICA DE GOS

Os fatores que podem afetar a produção de GOS são: pH, temperatura e concentração de lactose. Com esses parâmetros definidos, a produção de GOS é realizada através das seguintes etapas (Scott, Vera, Conejeros, 2016):

1. Condicionamento da lactose: Nessa etapa, a fonte de lactose é dissolvida em altas temperaturas, entre 60 e 80°C. Após a homogeneização, a solução é resfriada até a temperatura da reação.

2. Reação enzimática: Com a escolha da fonte enzimática de  *$\beta$ -galactosidase*, a mesma é adicionada ao substrato nas condições específicas do processo.

3. Inativação térmica: Após decorrer o tempo suficiente estimado para produção de GOS, escolhe-se um método de parada de reação da enzima. Entre os métodos mais conhecidos, pode-se citar: remoção de proteína, inativação térmica e adição de ácido.

4. Concentração: De forma a concentrar o produto final, a remoção da água é realizada por evaporação.

5. Purificação: Várias estratégias são relatadas para purificação de GOS, que incluem adsorção em carvão ativado, diafiltração, nanofiltração, fracionamento de troca iônica, cromatografia de exclusão molecular, cromatografia em leito móvel, extração supercrítica e fermentação seletiva. Entretanto, todos esses processos requerem um elevado investimento e, por conseguinte, encarecem o produto final obtido.

A Tabela 2 apresenta os métodos e as tecnologias utilizadas para a elaboração dos GOS comerciais (Tabela 1).

**Tabela 2** - Características do Processo de Produção de GOS comerciais

	<b>Bimuno GOS</b>	<b>Vivinal GOS</b>	<b>Oligomate 55 N</b>
Grau de pureza	46-60%	57%	55%
Substrato	Lactose de grau alimentício	Lactose de grau alimentício	Lactose de grau alimentício
Fonte enzimática	<i>Bifidobacterium bifidum</i>	<i>Bacillus circulans</i>	<i>Sporobolomyces singularis</i>
Método de inativação térmica	Remoção da proteína	Adição de ácido cítrico	Inativação térmica
Concentração	Evaporação	Evaporação	Evaporação Hidrólise de lactose,
Purificação	Ultrafiltração (10kDa membrana)	Adsorção de proteína e remoção de cor com carvão ativado	descoloração com carvão ativado, ultrafiltração, desmineralização com resinas de troca de íons e microfiltração

Fonte: Scott, Vera, Conejeros, 2016.

### 2.3.1 Substratos para produção de GOS

A formação de GOS ocorre a partir de um substrato rico em lactose, como a lactose pura ou o soro de leite / permeado de soro de leite. Por conta da redução da atividade de água, a taxa de conversão de lactose aumenta com a concentração inicial do substrato (Pessela *et al.*, 2003).

De acordo com o relatório da Mintel (2022) – “*Tendências Globais de Consumo 2023*”, após a vulnerabilidade das cadeias de suprimentos ocasionados na guerra da Ucrânia, observa-se uma tendência em que as marcas priorizarem matérias-primas domésticas, ou seja, está ocorrendo um movimento de reavaliação das cadeias de suprimentos e das dependências com outros países. Aliado a isso,

sabe-se que o Brasil é um dos maiores produtores de laticínios do mundo, sendo que as regiões Sul e Sudeste se destacam nesta área, abrangendo 34,7% e 34,6% da produção de leite *in natura* no país, respectivamente (Lima, Perez, Chaves, 2017).

No segmento de fabricação de queijos, para cada quilo de queijo, são gerados 9 litros de soro. Dessa forma, o soro de leite mostra-se aliado à tendência apontada, como uma matéria-prima abundante e doméstica, disponível em grandes volumes para o comércio local. O soro de leite é constituído de grande fração dos sólidos, da lactose, das proteínas do soro (20% da proteína total), dos sais minerais e das vitaminas solúveis encontrados no leite (Atra *et al.*, 2005; Baldasso, Barros, Tessaro, 2011), o que demonstra o seu elevado valor nutricional para ser processado e transformado em produtos de alto valor agregado (Teixeira, Fonseca, 2008).

A partir de processos de ultrafiltração do soro de leite, é gerado o permeado de soro de leite ou soro desproteinado (Wong, Lacroix, McDonough, 1978), sendo também um substrato com alto teor de lactose e sais minerais (Smith, 2008), uma vez que quase toda a lactose presente no soro é transmitida para o permeado.

### **2.3.2 Enzima $\beta$ -galactosidase a partir de *Bacillus circulans***

A enzima  $\beta$ -galactosidase ( $\beta$ -D-galactoside galactohidrolase, EC 3.2.1.23) pode ser obtida a partir de microorganismos, plantas e animais (Panesar, Kumari, Panesar, 2010), sendo que, de acordo com a fonte, as características e propriedades da enzima variam (German, 1997; Mahoney, 1998). A obtenção de  $\beta$ -galactosidase derivada de microorganismos, por sua vez, possui aspectos interessantes para aplicação tecnológica, como fácil manuseio, maior taxa de multiplicação e alto rendimento de produção.

Para uma síntese efetiva de galacto-oligossacarídeos, além das condições ambientais como temperatura, pH e concentração do substrato, é importante a escolha ou preparação de  $\beta$ -galactosidases termicamente estáveis e com alta atividade de transgalactosilação (Mahoney, 1998). Como a enzima  $\beta$ -galactosidase a partir de *Bacillus circulans* possui uma elevada taxa de transgalactolisação, ela foi a fonte escolhida para o desenvolvimento desse trabalho.

### 2.3.3 Liofilização

A liofilização é um processo de secagem que reduz a atividade de água dos alimentos através da sublimação, onde passam pelas etapas de congelamento, secagem primária e dessorção (Marques, 2008).

Na primeira fase do processo, o alimento deve ser congelado de forma rápida para a formação de microcristais de gelo, uma vez que os poros do alimento são distribuídos de acordo com o seu tamanho e da localização dos cristais de gelo (Neto, 2008). Caso haja geração de cristais de gelo maiores e, por conseguinte, a formação de uma rede cristalina, a estrutura torna-se porosa.

Com aumento gradativo da temperatura sob vácuo, a secagem primária ocorre (Terrori *et al.*, 2011). Transformando a água congelada em vapor de água, as paredes celulares do alimento não são alteradas (Boss, 2007; Cleef *et al.*, 2010). As pequenas trocas estruturais do processo de sublimação geram encolhimento mínimo das partículas.

A dessorção ocorre após a eliminação total do gelo do alimento. Como o alimento continua retendo água, deve-se reduzir o conteúdo de umidade através da pressão 1 mmHg para o conteúdo de 2 a 8% de umidade para obtenção de um produto estável seco. No final do processo, deve-se introduzir gás inerte para rompimento do vácuo. Caso haja entrada de ar na câmara, os produtos absorvem umidade, o que é indesejável (Ordóñez, 2005).

Uma das principais vantagens da liofilização são as alterações mínimas geradas quanto aos aspectos nutricionais e sensoriais, uma vez que retém cerca de 80% dos compostos voláteis e do aroma do alimento. Além disso, por conta da estrutura porosa gerada no alimento, a reidratação é realizada de forma rápida (Evangelista, 2008; Fellows, 2008). Por esses fatores, o uso da liofilização é considerado adequado à indústria, gerando produtos de alto valor agregado (Celestino, 2010).

### 3 MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1 MATERIAIS

Foram utilizados nesse trabalho:  $\beta$ -galactosidase de *Bacillus circulans* (Biolacta, Espanha), O-nitrofenil- $\beta$ -D-galactopiranosídeo (ONPG) e os açúcares glicose, galactose, lactose, rafinose e estaquiose (Sigma-Aldrich - St. Louis, USA), permeado de soro de leite em pó e soro de leite em pó (SOORO RENNER NUTRIÇÃO S/A, SP) e água ultrapura obtida no sistema Milli-Q.

A coluna da cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) usada nos testes foi uma Aminex HPX-87C. Todos solventes e produtos químicos eram de grau analítico.

#### 3.2 MÉTODOS

##### 3.2.1 Atividade da $\beta$ -galactosidase livre

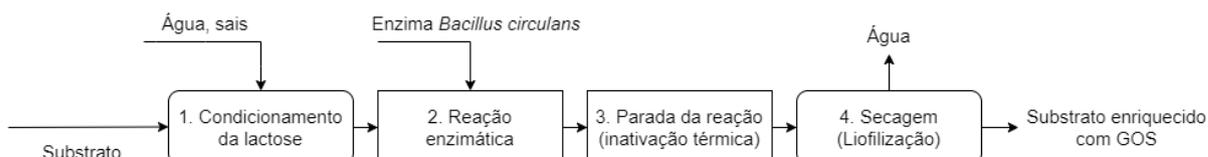
A atividade da enzima  $\beta$ -galactosidase de *Bacillus circulans* livre foi medida através da reação de o-nitrofenil- $\beta$ -D-galactopiranosídeo (ONPG) como seu substrato. Para isso, 50  $\mu$ L de enzima diluída ( $1.250^{-1}$ ) foi adicionada em 270  $\mu$ L de tampão de atividade (0,1 M, pH 7) contendo ONPG (28 mM). A reação foi controlada durante o tempo de 2 minutos a 40°C em um banho termostático. Para parar a reação, foi adicionado o tampão bicarbonato de sódio (0,1 M, pH 10). O produto da reação foi o-nitrofenol (ONP), o qual foi medido por espectrofotometria a 415 nm.

##### 3.2.2 Desenvolvimento do ingrediente prebiótico

Considerando as justificativas levantadas durante a pesquisa bibliográfica, o desenvolvimento do ingrediente prebiótico (GOS) foi realizado em três substratos diferentes (lactose pura, soro de leite e permeado de soro de leite) a partir da enzima  $\beta$ -galactosidase de *Bacillus circulans*, sendo, posteriormente, utilizado o método de

secagem liofilização, conforme o diagrama das Figura 7 explicita. A etapa de purificação não foi realizada devido ao seu custo elevado, uma vez que um dos objetivos do trabalho é desenvolver ingredientes prebióticos mais acessíveis às indústrias locais.

**Figura 7 - Diagrama para produção de GOS a partir de substrato**



Fonte: Autora, 2023.

### 3.2.2.1 Síntese de Galacto-oligossacarídeos

A síntese de galacto-oligossacarídeos foi realizada em pH 7 e a 45°C em banho termostático e sob agitação durante 6 horas. Foi realizada a síntese em três substratos diferentes: lactose pura, permeado de soro de leite e soro de leite. Para cada substrato, foram testadas duas diferentes concentrações, sendo:

- Lactose pura (30 e 40% m/v)
- Permeado de soro de leite (33 e 44% m/v)
- Soro de leite (41,7 e 55,4% m/v)

As concentrações das amostras foram ajustadas de modo a obter 300 g.L<sup>-1</sup> de lactose para o permeado de soro de leite 330 g.L<sup>-1</sup> e para o soro de leite 417 g.L<sup>-1</sup>, e 400 g.L<sup>-1</sup> de lactose para o permeado de soro de leite 440 g.L<sup>-1</sup> e para o soro de leite 554 g.L<sup>-1</sup>.

A enzima livre diluída, com atividade média de 17,31 U.ml<sup>-1</sup>, foi adicionada em 5 mL de cada substrato. A cada 1 hora, foi retirada uma alíquota do substrato. As alíquotas foram fervidas durante 5 minutos, de modo a parar a reação de transgalactolisação.

### 3.2.2.2 Liofilização

Foi realizada a síntese de GOS em cada substrato durante 6 horas nas mesmas condições anteriores (pH 7 e temperatura 45°C) em banho termostático e sob agitação. De forma a parar a reação de transgalactosilação, foi escolhido o método de inativação térmica, sendo as amostras fervidas durante 5 minutos.

As amostras preparadas foram lactose pura (30 e 40% m/v), permeado de soro de leite (33 e 44% m/v) e soro de leite (41,7 e 55,4% m/v) no volume de 20 mL cada. Posteriormente, foram colocadas no equipamento liofilizador de bancada (marca E-C MODULYO®, Apparatus Inc., EUA), que consiste em uma câmara de secagem acrílica cilíndrica e transparente, onde no seu interior há o acoplamento com o sistema à vácuo e permaneceram por 3 dias. Após estarem liofilizadas, as amostras foram diluídas para serem analisadas em Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC).

### 3.2.2.3 Análise de Açúcares por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC)

Os produtos da reação de transgalactosilação (glicose, galactose e galactooligosacarídeos), assim como a lactose foram analisados no equipamento de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC) (Shimadzu, Tokyo, Japan) equipado com detector de índice de refração (RID) e coluna Aminex HPX-87C (300 mm x 7,8 mm) modo isocrático. O solvente de eluição utilizado na análise foi água Milli-Q com fluxo de 0,6 mL.min<sup>-1</sup> e temperatura de forno de 85°C (Klein, 2014).

A concentração dos sacarídeos foi calculada através de curvas padrões de lactose, glicose, galactose, rafinose e estaquiase. As concentrações de GOS foram calculadas como equivalente de rafinose e estaquiase. O rendimento (%) da síntese de GOS foi definido como a porcentagem de GOS produzida em comparação com o peso inicial de substrato no meio de reação.

### 3.2.3 Pesquisa Qualitativa

A pesquisa desenvolvida foi classificada como exploratória-descritiva, e teve como objetivo captar a opinião de responsáveis técnicos que trabalham em indústrias de chocolates, produtos lácteos e pães na região Sul do Brasil. Os contatos dos responsáveis técnicos desses segmentos foram adquiridos por meio dos professores e por colegas da Universidade.

A partir de dados e informações obtidas na pesquisa bibliográfica, foram elaboradas 6 questões abertas para obtenção de novas ideias / hipóteses sobre a aplicação do ingrediente prebiótico em chocolates, produtos lácteos e pães.

No primeiro contato com o responsável técnico da indústria, foi enviado um material resumido (ANEXO 1, 2 e 3) sobre o objetivo da pesquisa. Em um segundo momento, foi marcada uma entrevista individual para dar sequência às perguntas elaboradas descritas a seguir:

- O ingrediente em questão é permeado de soro de leite enriquecido com GOS. Você acha que empresas do setor teriam interesse em utilizar esse ingrediente para o desenvolvimento de produtos com atributos de saudabilidade de interesse do mercado consumidor?
- Tendo em vista o desenvolvimento do mercado, quais características você acha mais pertinentes nesse ingrediente?
- Como ainda não foram feitos testes de desenvolvimento em produtos, pode ser que o uso do ingrediente tenha um pequeno impacto em características sensoriais do iogurte. Se esse impacto for positivo ou neutro, você acha interessante o uso de GOS no sentido de desenvolver linhas de produtos que agreguem mais benefícios à saúde do consumidor?
- Considerando o posicionamento da sua empresa, existiria o interesse da utilização desse ingrediente, caso o impacto no custo do produto final não seja significativo (inferior a 5%)?
- O uso de ingredientes ligados à saudabilidade agregam à imagem da empresa?

- Você considera que uma linha de produtos mais saudáveis com o uso de GOS teria uma boa aceitação? Agregaria valor para o consumidor? Aumentaria market share da empresa?

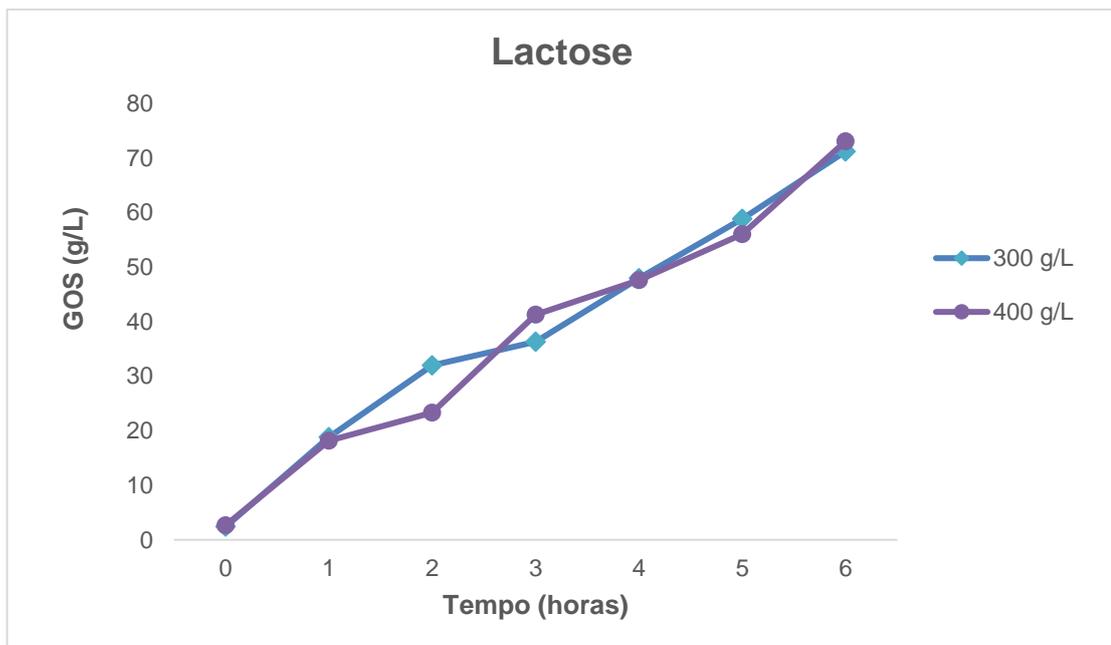
As entrevistas foram gravadas, de modo a ter o maior detalhamento possível para a coleta de informações para análise dos resultados e posterior discussão.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

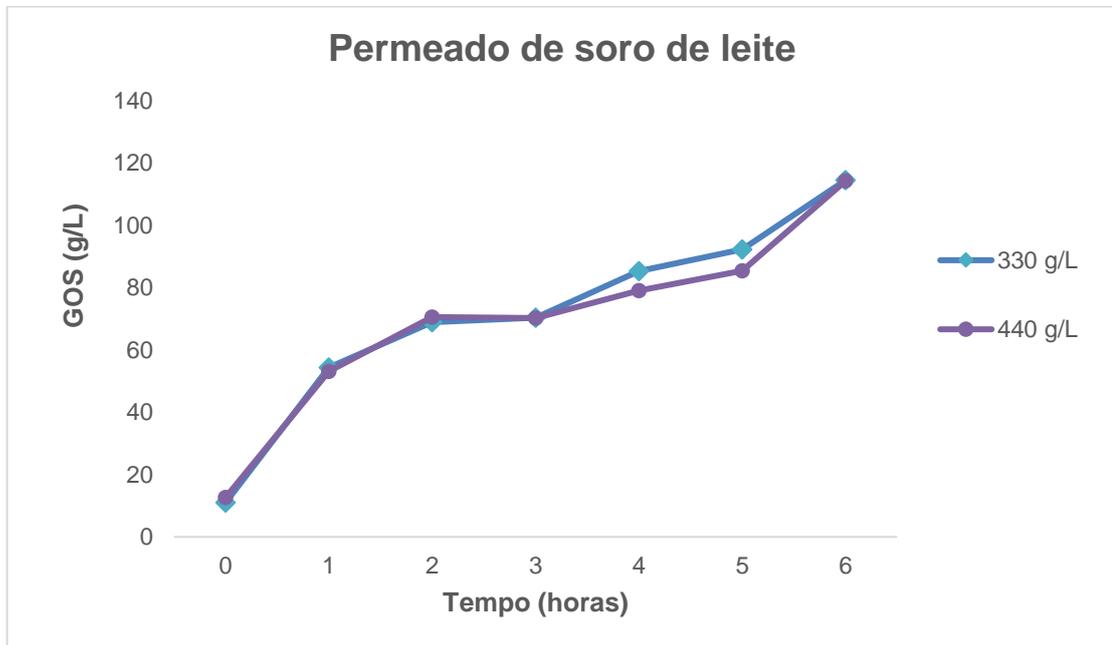
### 4.1 Síntese de Galacto-oligossacarídeos

Os resultados obtidos dos experimentos são demonstrados a seguir. As Figuras 8, 9 e 10 apresentam o perfil cinético da síntese dos galacto-oligossacarídeos ao longo do tempo em pH 7 a 45°C, para os três substratos: lactose pura, permeado de soro de leite e soro de leite em diferentes concentrações iniciais de lactose, realizados em duplicata.

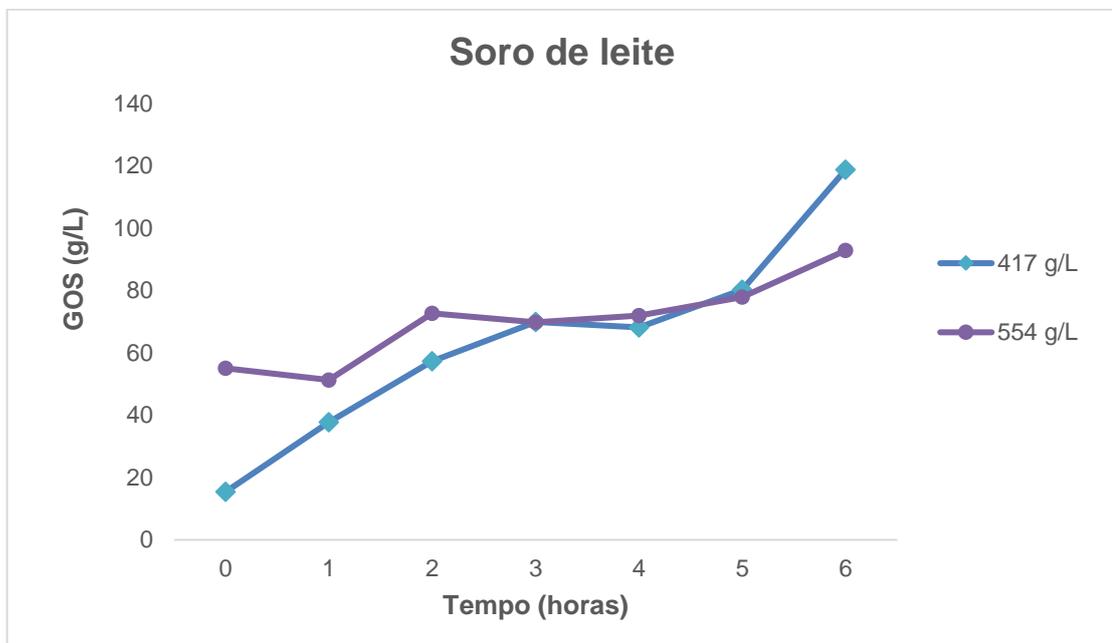
**Figura 8** - Perfil cinético da produção de galacto-oligossacarídeos (GOS) em lactose pura a pH 7 e 45°C em diferentes concentrações iniciais



**Figura 9** - Perfil cinético da produção de galacto-oligossacarídeos (GOS) em permeado de soro de leite a pH 7 e 45°C em diferentes concentrações iniciais



**Figura 10** - Perfil cinético da produção de galacto-oligossacarídeos (GOS) em soro de leite a pH 7 e 45°C em diferentes concentrações iniciais



A síntese de GOS foi crescente ao longo do tempo e a máxima obtenção ocorreu no tempo máximo avaliado, 6 horas. Dessa forma, uma das alternativas para

testes futuros é o aumento do tempo de reação, podendo resultar em sínteses ainda maiores.

A Tabela 3 sintetiza o melhor resultado em relação à concentração de GOS obtida para cada substrato, juntamente com o rendimento de GOS para o valor referido. Em dados da literatura, o rendimento (%) da síntese de GOS é definido como a porcentagem de GOS produzida em comparação com o peso inicial de lactose no meio de reação (Klein, 2014). Entretanto, o objetivo do experimento foi analisar o rendimento do ingrediente desenvolvido. Dessa forma, para esse trabalho, o rendimento (%) da síntese de GOS foi definido como a porcentagem de GOS produzida em comparação com o peso inicial de substrato no meio de reação.

O rendimento calculado em comparação ao peso inicial do substrato é menor que o rendimento calculado em comparação ao peso inicial de lactose, uma vez que a quantidade de lactose presente no soro de leite e no permeado de soro de leite é menor à quantidade total de substrato presente. Assim, para fins comparativos, é possível realizar a análise e a discussão de resultados dessa forma.

**Tabela 3** – Parâmetros das concentrações máximas de GOS obtidas

<b>Substrato</b>	<b>Concentração do substrato (g.L<sup>-1</sup>)</b>	<b>Concentração máxima de GOS (g.L<sup>-1</sup>)</b>	<b>Rendimento de GOS (%)</b>
Lactose	300	71,21	23,73
	400	73,05	18,26
Permeado de soro de leite	330*	114,44	34,67
	440*	114,23	25,96
Soro de leite	417*	118,74	28,47
	554*	92,85	16,75

As concentrações das amostras foram ajustadas de modo a obter 300 g.L<sup>-1</sup> de lactose para o permeado de soro de leite 330 g.L<sup>-1</sup> e para o soro de leite 417 g.L<sup>-1</sup>, e 400 g.L<sup>-1</sup> de lactose para o permeado de soro de leite 440 g.L<sup>-1</sup> e para o soro de leite 554 g.L<sup>-1</sup>.

Para o substrato de lactose pura, a concentração de 300 g.L<sup>-1</sup> obteve-se 71,21 g.L<sup>-1</sup> de GOS com rendimento de 23,73%. Para o permeado de soro de leite, a

concentração de 330 g.L<sup>-1</sup> sintetizou 114,44 g.L<sup>-1</sup> de GOS, em um rendimento de 34,67%. Para o soro de leite, entre as concentrações de 417 g.L<sup>-1</sup> e a de 554 g.L<sup>-1</sup>, a concentração de 417 g.L<sup>-1</sup> resultou em melhor rendimento, com 118,74 g.L<sup>-1</sup> de GOS produzidos e um rendimento de 28,47%.

O soro de leite é constituído de uma grande fração de sólidos, da lactose, das proteínas do soro (20% da proteína total), dos sais minerais e das vitaminas solúveis encontrados no leite (Atra *et al.*, 2005; Baldasso, Barros, Tessaro, 2011). O permeado de soro de leite, por sua vez, também é um substrato com alto teor de lactose e sais minerais (Smith, 2008). Com uma maior quantidade de sais presentes que a lactose, ocorre maior redução da atividade de água, aumentando a taxa de conversão de lactose (Pessela *et al.*, 2003), o que justifica as maiores conversões de GOS do soro de leite e do permeado de soro de leite quando comparados à lactose pura.

Rossetto (2009) obteve sua máxima produção de GOS em 6 horas de reação com a enzima  $\beta$ -galactosidase de *Kluyveromyces lactis* (40 °C e pH 6,5) com 40% de lactose, formando 71,45 g.L<sup>-1</sup> de GOS e um rendimento de 23,82%. Já Lisboa *et al.* (2012) teve seu melhor resultado em 4 horas de processo, produzindo 119,8 g.L<sup>-1</sup> de GOS com rendimento de 29,9% a partir de lactose 400 g.L<sup>-1</sup>. Quando a enzima  $\beta$ -galactosidase de *Bacillus circulans* foi imobilizada em suportes de quitosana (50°C e pH 7), Hackenhaar (2018) obteve 162,9 g.L<sup>-1</sup> de GOS e um rendimento de 41% com permeado de soro de leite 400 g.L<sup>-1</sup>. Já para o soro de leite 400 g.L<sup>-1</sup>, sintetizou 159,4 g.L<sup>-1</sup> de GOS com um rendimento de 40%, ambos em 6 horas de reação.

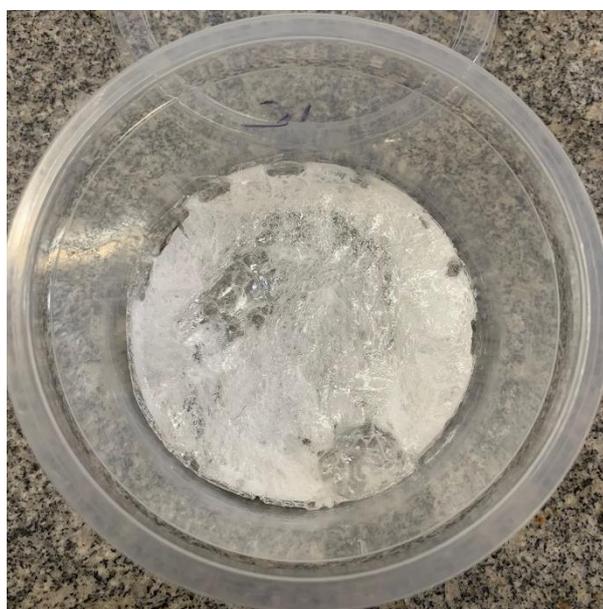
Pode-se observar que os resultados das sínteses de GOS tiveram rendimentos semelhantes e satisfatórios comparados aos encontrados na literatura. Ao comparar resultados da síntese a partir de enzima imobilizada, percebe-se que o resultado pode ser otimizado, obtendo uma maior concentração de GOS como produto final. Ainda, para experimentos futuros, o maior tempo de reação poderá resultar em maiores sínteses de galacto-oligossacarídeos.

## 4.2 Liofilização

As Figuras 11, 12 e 13 mostram os resultados das amostras dos três substratos após passarem pelo processo de liofilização. Segundo Alves (2007), a

liofilização transforma a estrutura dos carboidratos em grau de amorfismo, tornando-os higroscópicos, ou seja, com grande facilidade para absorção de água da atmosfera (Alves, 2007). Há dois estados que os carboidratos podem ficar: o amorfo instável e o cristalino. Em um estado amorfo instável, os carboidratos podem cristalizar ou podem formar soluções supersaturadas sólidas com aspecto vítreo. Caso cristalizem, podem formar xaropes (Bobbio, Bobbio, 2001). É no estado cristalino que o produto torna-se estável (Alves, 2007).

**Figura 11** – Substrato lactose liofilizado



**Figura 12 - Substrato permeado de soro de leite liofilizado**



**Figura 13 - Substrato soro de leite liofilizado**



Após retiradas do liofilizador, as amostras foram trituradas para obtenção do produto em pó.

**Figura 14** – Obtenção das amostras em pó após trituração

Com o formato em pó, as amostras foram diluídas e analisadas no HPLC para comparação da concentração de GOS após o processo de secagem por liofilização.

**Tabela 4** – Efeito da Liofilização na Concentração de GOS

<b>Substrato</b>	<b>Concentração (g.L<sup>-1</sup>)</b>	<b>GOS após a liofilização (g.kg<sup>-1</sup>)</b>
Lactose	300	216,85
	400	223,68
Permeado de soro de leite	330	331,33
	440	227,98
Soro de leite	417	187,18
	554	154,73

O processo de secagem por liofilização resulta na obtenção de produtos estáveis secos, com o teor de 2 a 8% de umidade (Ordóñez, 2005). Sabe-se que a partir da redução do teor de água, há o aumento da concentração de solutos, nesse caso, de GOS. O resultado é perceptível pelo aumento na concentração de GOS em todos os substratos após o processo de secagem. Após o processo de secagem, obteve-se o ingrediente lactose enriquecida com 223,68 g.kg<sup>-1</sup> de GOS (22,7% de

GOS), permeado de soro de leite enriquecido com 331,33 g.kg<sup>-1</sup> de GOS (33,1% de GOS) e soro de leite enriquecido com 187,18 g.kg<sup>-1</sup> de GOS (18,7% de GOS).

Para os resultados de soro de leite 417 g.L<sup>-1</sup> e 554 g.L<sup>-1</sup> e de permeado de soro de leite 440 g.L<sup>-1</sup>, observou-se a tendência de absorção da água do ar ambiente, transformando a lactose amorfa em lactose cristalina, e gerando um produto não higroscópico (Hynd, 1980), com aglomerados e fácil adesão (Schuck *et al.*, 2004), o que é indesejável. O produto obtido reteve umidade e, por conta disso, a concentração de GOS não foi tão efetiva quando comparada à lactose 300 g.L<sup>-1</sup> e 400 g.L<sup>-1</sup>, assim como o permeado de soro de leite 330 g.L<sup>-1</sup>.

Como perspectivas futuras do trabalho, a produção de GOS em maior escala através de biorreatores permitirá o uso do equipamento de *spray dryer*, o qual tem a capacidade de transformar os produtos de soro concentrado entre 42% e 45% m/m de sólidos totais, em produtos em pó com 3% m/m e 4% m/m de umidade final (Masters, 2002), o que poderá ser efetivo devido à maior redução de umidade e, conseqüentemente, maior concentração de GOS no produto final.

#### 4.3 Alegação de propriedade funcional

Para a alegação de propriedade funcional para “fibras alimentares” segundo a ANVISA, são necessários 2,5 g de GOS por porção. Para esse cálculo, foi considerado o permeado de soro de leite enriquecido com 331,33 g.kg<sup>-1</sup> de GOS (33,1% de GOS), visto que foi o melhor resultado obtido. Assim, para possuir 2,5 g de GOS, é necessário a adição de 7,6 g do ingrediente permeado de soro de leite (33,1% de GOS) em questão.

Cada produto alimentício possui tamanho de porção variada para a declaração da rotulagem nutricional. Assim, foi necessário consultar a Instrução Normativa (IN) n° 75, de 8 de Outubro de 2020, para viabilizar a quantidade de permeado de soro de leite enriquecido com GOS (33,1% de GOS) a ser adicionado a cada porção de chocolate, iogurte / bebida láctea / leites fermentados e pães (embalados fatiados ou não, com ou sem recheio).

**Tabela 5** – Porcentagem de permeado de soro de leite enriquecido com GOS (33,1% de GOS) necessário por porção para alegação de propriedade funcional

<b>Produto</b>	<b>Tamanho da porção (g ou mL) de acordo com IN n° 75</b>	<b>Adição necessária (g) de permeado de soro de leite enriquecido com GOS</b>	<b>Porcentagem do permeado de soro de leite enriquecido com GOS na porção</b>
Chocolate	25	7,6	30,4
Iogurte / bebida láctea / leites fermentados	200	7,6	3,8
Pães embalados fatiados ou não, com ou sem recheio	50	7,6	15,2

Fonte: Instrução Normativa n°75, de 8 de Outubro de 2020, ANVISA.

O chocolate possui a porção de 25 g, logo, para que uma porção de chocolate tivesse 2,5 g de GOS presentes, seria necessária a adição de permeado de soro de leite enriquecido com GOS (33,1% de GOS) na proporção 30,4% (m/m). O mesmo raciocínio é válido para iogurtes / bebidas lácteas / leites fermentados, onde a proporção necessária seria de 3,8% (m/m). Já para pães embalados fatiados ou não, com ou sem recheio, seria necessária 15,2% (m/m) do permeado de soro de leite enriquecido com GOS (33,1% de GOS) na formulação do pão.

#### 4.4 Pesquisa Qualitativa

##### 4.4.1 Chocolates

Para a realização da pesquisa qualitativa do setor de chocolates, foram entrevistados dois profissionais da indústria de chocolates. Em relação à

potencialidade da aplicação do ingrediente enriquecido com GOS, ambos entrevistados acharam interessante a proposta, e ressaltaram que é uma tendência da indústria de alimentos inovar em produtos que trazem benefícios ao consumidor, pois chamam a atenção do público. Realmente, Tidd e Bessant (2015) destacaram que ao oferecer aos consumidores algo que outras empresas não conseguem, como o desenvolvimento de um novo produto, cria vantagem competitiva sobre seus concorrentes. No segmento de chocolates, os entrevistados já haviam visto produtos enriquecidos com colágeno e, também, com melatonina.

Um dos profissionais, inclusive, desenvolveu um chocolate com *whey* proteico, sendo um dos seus produtos com bom giro de vendas. Quando questionado sobre o aumento de *market share* ao lançar um produto com adição de GOS, o dono da empresa afirmou que o produto chocolate com *whey* proteico já traz esses resultados, logo acredita que o desenvolvimento com ingrediente prebiótico traria também a diferenciação de marca ao consumidor que busca produtos com atributos à saudabilidade. Relacionado ao custo final, o profissional afirmou que 5% de impacto no custo final não seria significativo, uma vez que seria gerado um produto de alto valor agregado com consumidores dispostos a investir nele.

Já a outra profissional, do setor de Qualidade, trouxe a importância da escolha entre o substrato soro de leite e o permeado de soro de leite. Na empresa que trabalha, a proposta faria sentido apenas para o ingrediente soro de leite enriquecido com GOS, uma vez que eles já utilizam o soro de leite em pó em seus produtos na concentração de 2%. Assim, o ingrediente soro de leite enriquecido com GOS poderia ser um substituto do soro de leite em pó em uma futura formulação de chocolates enriquecidos com galacto-oligossacarídeos. O permeado, em questão, não é a preferência na elaboração, pois reduz a qualidade dos chocolates. Quando questionada sobre o desenvolvimento de linhas de chocolates com atributo à saudabilidade, acredita que seria viável para empresas que possuem a estratégia de linhas de produtos atrelados à saudabilidade. A empresa em que trabalha possui maior foco em vendas de produtos tradicionais, mas caso o impacto no custo final fosse inferior à 5%, afirma que seria possível utilizar o ingrediente prebiótico como substituto do soro de leite já utilizado em formulações.

Dessa forma, a aplicação do ingrediente enriquecido com GOS em chocolates se mostrou viável, sendo que o impacto no custo final não é significativo para as marcas que já possuem linhas de produtos atrelados à saudabilidade, enquanto para marcas que não investem no setor, o custo é mais significativo. O soro de leite mostrou-se mais atraente do que o permeado de soro de leite para manter a qualidade do chocolate. Atualmente, em uma das empresas utiliza-se 2% (m/m) de soro de leite por formulação. Entretanto, para a alegação de propriedade funcional em uma porção de chocolate, seria necessária a adição de 30,4% (m/m) de permeado de soro de leite enriquecido com GOS desenvolvido nesse trabalho. Assim, seriam feitos testes no setor de Pesquisa & Desenvolvimento para viabilidade desses produtos, principalmente na qualidade e no impacto no custo final.

#### **4.4.2 Pães**

A pesquisa foi realizada com 3 profissionais que trabalham na área de Pesquisa & Desenvolvimento de indústrias de pães. As entrevistadas afirmaram ver potencial de aplicação do ingrediente enriquecido com GOS, dado as propriedades físicas e os benefícios à saúde proporcionados pela sua adição. Em específico, o auxílio na retenção da umidade é uma das propriedades mais desejadas em indústrias de panificação, pois a maior absorção de água gera maior rendimento do pão, além de melhorar as características sensoriais do produto. Dessa forma, uma das profissionais sugere o uso do ingrediente permeado de soro de leite enriquecido com GOS (33,1% de GOS) como substituto de aditivos com funções semelhantes, somando a propriedade funcional com a propriedade física do ingrediente. Entretanto, seria necessário a adição em maior quantidade do que utilizada para os aditivos.

Um dos pontos ressaltados foi a importância do ingrediente ser fluido na incorporação da massa do pão, de forma que ele não seja aderido aos equipamentos. Segundo Hardy, Scher, Banon (2001), para produtos lácteos desidratados, as propriedades de fluidez, de estabilidade ao armazenamento e de solubilização são dependentes do modo interações químicas da água com outros constituintes. Assim, no desenvolvimento do ingrediente enriquecido com GOS, a propriedade de fluidez,

assim como da solubilização e da estabilidade devem ser priorizadas de forma a gerar maior qualidade no produto final.

Testes de formulações de pães com FOS e inulina (prebióticos semelhantes ao GOS) já haviam sido feitos por uma das entrevistadas, mas não foram bem-sucedidos devido à falta de resistência dessas substâncias ao processo de forneamento / fermentação do pão. Dessa forma, a profissional considerou muito positivo a resistência dos GOS a altas temperaturas, assim como não ser degradado durante a fermentação do pão (Tomal *et al.*, 2010), e afirmou ter interesse para o desenvolvimento de produtos com o ingrediente enriquecido com GOS. Para a formulação de pães de leite, Valduga *et al.* (2009) desenvolveram um pão com 25% de soro de leite desidratado, que apresentou aceitação geral do público em 69%. Como o soro de leite possui características físico-químicas semelhantes ao permeado de soro de leite, esse resultado mostra potencialidade em utilizar o permeado de soro de leite enriquecido com GOS (33,1% de GOS) na proporção de 15.2% (m/m) – quantidade mínima necessária para a alegação de propriedade funcional para uma porção de pão. Entretanto, vale ressaltar que testes de Pesquisa & Desenvolvimento devem ser realizados para análise da interação do permeado de soro de leite em pães.

As respostas sobre o impacto do custo no valor final (cerca de 5%) e o aumento do *market share* com o desenvolvimento da linha de produtos enriquecidos com GOS variaram de acordo com a realidade das empresas. Em uma das indústrias, 80% do faturamento está na venda de pão francês. Apesar do aumento da procura do consumidor por produtos com maior saudabilidade, o público-alvo da empresa não atende a essa demanda, uma vez que a marca lançou um produto com alto valor nutricional, e foi necessário retirar de venda dos mercados, pois o giro de vendas não compensava a sua produção. Dessa maneira, a profissional considera viável a aplicação do ingrediente para sua empresa como agente de absorção de água, sendo substituto de outros ingredientes já utilizados nas formulações.

Na segunda empresa, a maior fração das vendas está concentrada em pão de leite e bisnaguinha. Existe um segmento de produtos focados no bem-estar ao consumidor, proporcionando alternativas ao público que busca produtos atrelados a benefícios à saúde. O público comprador desse segmento é restrito e, abrange, em geral, mulheres mais novas. Mesmo não sendo os produtos principais da empresa, a

profissional acredita que a aplicação com margem de 5% seria interessante para gerar produtos diferenciados no mercado, e com propriedades tanto físicas para o produto quanto funcionais para o consumidor.

A última empresa é exportadora de ovos, e vende em grandes quantidades para outros países. Recentemente, vêm investindo na imagem da marca e, conseqüentemente, desenvolvendo produtos com apelo de saudabilidade. Já possuem pães proteicos vendidos em casas de produtos naturais, com custo mais elevado. Dessa forma, a profissional afirmou que o aumento de 5% no custo final não seria significativo, uma vez que os produtos já estão posicionados em lojas que as pessoas estão dispostas a pagar mais caro.

Durante as entrevistas, foram levantadas contribuições importantes para o desenvolvimento do projeto. Uma delas foi o fato do substrato ser um alergênico, dado que adicionar funcionalidade pode vir associado à eliminação de alergênicos, o que pode ser limitante para alguns segmentos, mas não todos. Também foi questionado sobre o quão os consumidores estariam prontos para ler no rótulo “galactooligosacarídeos” e associar a sua ingestão a benefícios à saúde.

A aplicação do ingrediente de permeado de soro de leite enriquecido com GOS em pães resultou em boa aceitação por parte das entrevistadas. As propriedades físicas proporcionadas pela sua adição geraram ótima aceitação, podendo além de atribuir funcionalidade ao produto, atuar como substituto de aditivos de funções semelhantes, o que faz com que o ingrediente possa ser amplamente aplicado. Percebeu-se que o impacto no custo final é insignificante para empresas que já possuem linhas no mesmo segmento, dado que os produtos com esses atributos estão posicionados em lojas em que o consumidor busca por essa função e estão dispostos a investir na compra. Já para as empresas que não possuem linhas de produtos atrelados à saudabilidade, o uso do ingrediente enriquecido com GOS é vantajoso devido às suas propriedades físicas, podendo ser substituto de coadjuvantes de tecnologia / aditivos. Para a alegação de propriedade funcional em uma porção de pão, é necessária a adição de 15,2% (m/m) do permeado de soro de leite enriquecido com GOS (33,1% de GOS) desenvolvido nesse trabalho. Como já foi desenvolvido produto com 25% de soro de leite em pães e sabendo da similiaridade

entre o soro de leite e o permeado de soro de leite, é possível que a adição seja bem sucedida, devendo passar por testes de Pesquisa & Desenvolvimento para analisar as interações do permeado de soro de leite com outros constituintes do pão.

#### **4.4.3 Produtos Lácteos**

Para o setor de produtos lácteos, foram entrevistados três profissionais da área de produtos lácteos. Todos consideraram interessante a aplicação do ingrediente permeado de soro de leite enriquecido com GOS (33,1% de GOS) para o desenvolvimento de novo produto com alto valor agregado, e acreditam na boa aceitação por parte dos consumidores. Como características mais ressaltadas, foi o fato do ingrediente trazer propriedades sensoriais aos produtos, além dos benefícios à saúde.

Foi atribuído que a linha de produtos seria financeiramente viável para empresas que possuem a estratégia de apelo à saudabilidade no lançamento de novos produtos, desde que a adição do ingrediente enriquecido com GOS não altere as propriedades físico-químicas do produto. Ressaltou-se a importância do GOS além de ser estável termicamente, seja estável em amplas faixas de pH, assim como é necessário o esclarecimento dos mecanismos de ação, biodisponibilidade e formas de emprego em alimentos.

Para o entrevistado que trabalha em indústria de bebida láctea, o soro de leite já é utilizado em seus produtos. Dessa forma, acredita que o soro de leite enriquecido com GOS poderia ser um substituto, gerando funcionalidade através da adição. Oliveira (2009) desenvolveu uma bebida láctea com 30% (m/m) de soro de leite, enquadrada em parâmetros físico-químicos estabelecidos, além de ter boa aceitação por parte de julgadores em análise sensorial. Dado às similaridades entre os produtos soro de leite e permeado de soro de leite, a adição de permeado de soro de leite enriquecido (31,3% de GOS) com, no mínimo 3,8% por porção, mostraria ser uma boa alternativa, onde a sua interação com outros componentes deve ser analisada em testes de Pesquisa & Desenvolvimento.

## 5 CONCLUSÃO

O trabalho teve o objetivo de desenvolver um Produto Viável Mínimo (PVM) de ingrediente enriquecido com GOS, assim como entender a potencialidade do uso do produto em indústrias de chocolate, pães e produtos lácteos.

A partir de revisão bibliográfica, foram escolhidas as condições para a síntese de GOS em lactose pura, permeado de soro de leite e soro de leite, com posterior uso do método de secagem por liofilização. Obteve-se como ingredientes enriquecidos com GOS: a lactose enriquecida com  $223,68 \text{ g.kg}^{-1}$ , o permeado de soro de leite enriquecido com  $331,33 \text{ g.kg}^{-1}$  de GOS e soro de leite enriquecido com  $187,18 \text{ g.kg}^{-1}$  de GOS. Foram calculadas as proporções de adição do permeado de soro de leite enriquecido com GOS (33,1% de GOS) nos produtos chocolates, pães e produtos lácteos, de forma que sua adição nesses produtos possa apresentar a alegação de propriedade funcional de “fibras alimentares”, de acordo com a IN N°75.

Ao avaliar a potencialidade de uso do ingrediente enriquecido com GOS em indústrias de chocolates, pães e produtos lácteos, percebeu-se boa aceitação por parte dos entrevistados, que ficaram surpresos positivamente pelas propriedades funcionais, mas também propriedades físicas que o ingrediente enriquecido com GOS proporciona com a sua adição. Para cada produto, foram ressaltadas características importantes que devem ser consideradas nos testes de desenvolvimento. Para o iogurte, por exemplo, deve-se ser estável a amplas faixas de pH. Já em pães, é importante a fluidez na massa. Em chocolates, observou-se a preferência por soro de leite a permeado de soro de leite devido à maior qualidade no produto final. Essas considerações devem ser discutidas em testes de Pesquisa & Desenvolvimento futuros.

De um modo geral, a previsão de valor proposta para os entrevistados (5% de impacto no custo final) não se mostrou significativa para as empresas que já possuem linhas de produtos atrelados à saudabilidade do consumidor, principalmente por já possuírem um público-alvo familiarizado com os termos do mercado e dispostos a investir mais nesses produtos.

Considerando o menor impacto no custo final do produto, a opção mais viável para aplicação do ingrediente permeado de soro de leite enriquecido com GOS (33,1% de GOS) seria o uso em bebidas lácteas, uma vez que seria necessária a adição de 3,8% (m/m) do permeado de soro de leite enriquecido com GOS (33,1% de GOS) para a alegação de propriedade funcional de “fibras alimentares”.

Como perspectivas de trabalhos futuros, pode-se considerar:

- Otimização das sínteses de GOS. Com o produto ainda mais concentrado, a proporção de adição do ingrediente para a alegação de propriedade funcional diminui, o que faz com que o impacto no custo final seja menor e, consequentemente, mais viável.
- Utilizar biorreatores em processo contínuo para produção em maior escala do produto.
- Utilizar *spray dryer* como método de secagem, obtendo produto com teor de umidade ainda menor (3%) versus liofilização (até 8%).

## REFERÊNCIAS

AL-SHERAJI, Sadeq; ISMAIL, Amin; MANAP, Mohd; MUSFAFA, Shuhaimi; YUSOF, Rokiah; HASSAN, Fouad. Prebiotics as functional foods: A review. **Journal of Functional Foods**, Elsevier BV, v. 5, n. 4, p. 1542-1553, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2013.08.009>.

ALVES, C. C. O. **Pós obtidos da polpa de pequi (Cryocar brasiliense Camb.) liofilizada: higroscopicidade e microestrutura**. 2007. 143f. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2007.

ANVISA, Alegações de propriedade funcional aprovadas. Brasília: Governo Brasileiro, 2019. Disponível em: [https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inspecao/produtos-vegetal/legislacao-1/biblioteca-de-normas-vinhos-e-bebidas/alegacoes-de-propriedade-funcional-aprovadas\\_anvisa.pdf](https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inspecao/produtos-vegetal/legislacao-1/biblioteca-de-normas-vinhos-e-bebidas/alegacoes-de-propriedade-funcional-aprovadas_anvisa.pdf). Acesso em 18 mar. 2023.

ATRA, Ramadan; VATAI, Gyula; BEKASSY-MOLNAR; Erika; BALINT, Agnes Investigation of ultra and nanofiltration for utilization of whey protein and lactose. **Journal of Food Engineering**, Elsevier BV, v. 67, n. 3, p. 325-332, 2005. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2004.04.035>.

BALDASSO, C. ; BARROS, T. C.; TESSARO, I. C. Concentration and purification of whey proteins by ultrafiltration. **Desalination**, Elsevier BV, v. 278, n. 1-3, p. 381-386, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.desal.2011.05.055>.

BRASIL, **Instrução Normativa nº 75**, de 8 de Outubro de 2020. Estabelece os requisitos técnicos para declaração da rotulagem nutricional nos alimentos embalados. Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Brasília, DF, 2020.

BRASIL, **Portaria nº 398**, de 30 de Abril de 1999. Estabelece as diretrizes básicas para análise e comprovação de propriedades funcionais e ou saúde alegadas em rotulagem de alimentos. Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Brasília, DF, 1999.

BRASIL, **Resolução da Diretoria Colegiada - RDC nº 48**, de 25 de Setembro de 2014. Dispõe sobre o regulamento técnico para fórmulas infantis para lactentes destinadas a necessidades dietoterápicas específicas e fórmulas infantis de seguimento para lactentes e crianças de primeira infância destinadas a necessidades dietoterápicas específicas. Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Brasília, DF, 2014.

BRASÍLIA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Guia para avaliação de alegação de propriedade funcional e de saúde para substâncias bioativas presentes em alimentos e suplementos alimentares**, n. 55, v. 1, 2021.

BOBBIO, Paulo; BOBBIO, Florinda Orsatti. **Química do processamento de alimentos**. 3. Ed. São Paulo: Varela, 2001.

BOSS, Edinara Adelaide. **Modelagem e otimização do processo de liofilização: aplicação para leite desnatado e café solúvel**. 2007. 87f. Tese (Doutorado em Engenharia Química) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2007.

CANDELA, Marco; GUIDOTTI, Marco; FABBRI, Alessia; BRIGIDI, Patrizia; FRANCESCHI, Claudio; FIORENTINI, Carla. Human intestinal microbiota: Cross-talk with the host and its potential role in colorectal cancer. **Critical Reviews in Microbiology**, v. 37, n.1, p. 1–14, 2011.

CARABIN, Iona; FLAMM, Gary. Evaluation of safety of inulin and oligofructose as dietary fiber. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, Elsevier BV, v. 30, n. 3, p. 268-282, 1999. <https://doi.org/10.1006/rtp.1999.1349>.

CARDELLE-COBAS, Alejandra; CORZO, Nieves; OLANO, Agustin; PELAÉZ, Carmen; REQUENA, Teresa; ÁVILA, Marta. Galacto-oligosaccharides derived from lactose and lactulose: Influence of structure on Lactobacillus, Streptococcus and Bifidobacterium growth. **International Journal of Food Microbiology**, Elsevier BV, v. 149, n. 1, p. 81–87, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2011.05.026>.

CELESTINO, Sonia Maria Costa. **Princípios de Secagem de Alimentos**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, p. 33-46, 2010.

CHARALAMPOPOULOS, Dimitris; RASTALL, Robert.; Prebiotics in foods. **Current Opinion in Biotechnology**, Elsevier BV, v. 23, n. 2, p. 187 – 191, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2011.12.028>.

CHUNG, Wing; WALKER, Alan; LOUIS, Petra; PARKHILL, Julian; VERMEIREN, Joan; BOSSCHER, Douwina; DUNCAN, Sylvia, FLINT, Harry. Modulation of the human gut microbiota by dietary fibres occurs at the species level. **BMC biology**, v. 14, n. 3, 2016. <https://doi.org/10.1186/s12915-015-0224-3>.

CLEEF, Eric Haydt Castello Branco van; EZEQUIEL, Jane Maria Bertocco; GONÇALVES, Josemir de Souza; PASCOAL, Leonardo Augusto Fonseca. Determinação da matéria seca das fezes de ovinos e da carne de peito de frango

através do método tradicional e por liofilização. **REDVET. Revista electrónica de Veterinária**, v. 11, n. 3, p. 01-10, 2010.

COSTA, Marília; PIMENTEL, Tatiana; GUIMARAES, Jonas; BALTHAZAR, Celso; ROCHA, Ramon; CAVALCANTI, Rodrigo; ESMERINO, Erick; FREITAS, Mônica; RAICES, Renata; SILVA, Márcia; CRUZ, Adriano. Impact of prebiotics on the rheological characteristics and volatile compounds of Greek yogurt. **Food Science Technology**, Elsevier BV, v. 109, p. 371–376, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.02.007/>.

COSTA, Neuza; ROSA, Carla. **Alimentos Funcionais – Componentes Bioativos e Efeitos Fisiológicos**. 2. ed. Rio de Janeiro: Rubio, 2016.

DIAS, Monani; RAYCHAUDHURI, Aryama; GHOSH, Sadhan. Supply chain of bioethanol production from whey: a review. **Procedia Environmental Science**, Elsevier BV, v. 35, p. 833–846, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.proenv.2016.07.100>.

DAVANI-DAVARI, Dorna; NEGAHDARIPOUR, Manica; KARIMZADEH, Iman; SEIFAN, Mosfafa. Prebiotics: definition, types, sources, mechanisms, and clinical applications. **Multidisciplinary Digital Publishing Institute**, v. 8, n. 3, 2019.

DENJI, K.A.; MANSOUR, M.R.; AKRAMI, R.; GHOBADI, S.; JAFARPOUR, S.; MIRBEYGI, S. Effect of dietary prebiotic mannan oligosaccharide (mos) on growth performance, intestinal microflora, body composition, haematological and blood serum biochemical parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) juveniles. **Journal of Fisheries and Aquatic Science**, v. 10, n. 4, p. 255-265, 2015. [10.3923/jfas.2015.255.265](https://doi.org/10.3923/jfas.2015.255.265).

EVANGELISTA, José. **Tecnologia de alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2008.

FAI, Ana; PASTORE, Glaucia. Galacto-oligosaccharides: production, health benefits, application to foods and perspectives. **Scientia Agropecuaria**, v. 6, p. 69–81, 2015. <http://dx.doi.org/10.17268/sci.agropecu.2015.01.07>.

FARIAS, David; ARAÚJO, Fábio; NUMA, Iramaia; PASTORE, Glaucia. Prebiotics: trends in food, health and technological applications. **Trends in Food Science & Technology**, v. 93, n. 1, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.09.004>.

FELLOWS, P.J. **Tecnologia do processamento de alimentos: princípios e prática**. 2. Ed. Porto Alegre: Artmed, 2008.

FUNCTIONAL Food Market - Growth, Trends and Forecasts (2023 - 2028). **Mordor Intelligence**, 2021. Disponível em: <https://www.mordorintelligence.com/pt/industry-reports/global-functional-food-market>. Acesso em: 20 dez. 2022.

GABARDO, Sabrina; RECH, Rosane; ROSA, Carlos; AYUB, Marco. Dynamics of ethanol production from whey and whey permeate by immobilized strains of *Kluyveromyces marxianus* in batch and continuous bioreactors. **Renewable Energy**, v. 69, p. 89–96, 2014.

GALACTO-OLIGOSACCHARIDE (GOS) - Global Market Trajectory & Analytics. **Research and Markets: The World's Largest Market Research Store**, 2022. Disponível em: [https://www.researchandmarkets.com/reports/5302733/galactooligosaccharide-gos-global-market?utm\\_source=BW&utm\\_medium=PressRelease&utm\\_code=vsddsc&utm\\_campaign=1553909+-+Global+Galacto-oligosaccharide+\(GOS\)+Market+Research+Report+2021&utm\\_exec=chdo54prd](https://www.researchandmarkets.com/reports/5302733/galactooligosaccharide-gos-global-market?utm_source=BW&utm_medium=PressRelease&utm_code=vsddsc&utm_campaign=1553909+-+Global+Galacto-oligosaccharide+(GOS)+Market+Research+Report+2021&utm_exec=chdo54prd). Acesso em: 14 jan. 2023.

GERMAN, J. H. Applied enzymology of lactose hydrolysis. **Milk Powders for the Future**. p. 81–87, 1997.

GHOSH, Siddhartha; WANG, Jing; YANNIE, Paul; SANDHU, Yashnoor; KORZUN, William; GHOSH, Shobha, 2020. Dietary Supplementation with Galacto-oligosaccharides Attenuates High-Fat, High-Cholesterol Diet-Induced Glucose Intolerance and Disruption of Colonic Mucin Layer in C57BL/6 Mice and Reduces Atherosclerosis in Ldlr-/- Mice. **The Journal of Nutrition**, Elsevier BV, v. 150, n. 2, p. 285–293, 2019. <https://doi.org/10.1093/jn/nxz233>.

GIBSON, Glenn; HUTKINS, Robert; SANDERS, Marry; PRESCOTT, Susan; REIMER, Raylene; SALMINEN, Seppo; SCOTT, Karen; STANTON, Catherine; SWANSON, Kelly; CANI, Patrice; VERBEKE, Kristin; REID, Gregor. Expert consensus document: the International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of prebiotics. **Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology**, v. 14, p. 491–502, 2017. <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2017.75>.

GIBSON, Glenn; SCOTT, Karen; RASTALL, Robert; TUOHY, Kieran. Dietary prebiotics: current status and new definition. **Food Science and Technology**, v. 7, n. 1, p. 1-19, 2010. <https://doi.org/10.1616/1476-2137.15880>.

GLOBAL Galacto-Oligosaccharide (GOS) Market is Expected to Reach USD 1,622.28 Million by 2026: Fior Markets. **GLOBENEWSWIRE**, 2019. Disponível em: <https://www.globenewswire.com/en/news-release/2019/07/08/1879622/0/en/Global-Galacto-Oligosaccharide-GOS-Market-is-Expected-to-Rreach-USD-1-622-28-Million-by-2026-Fior-Markets.html>. Acesso em 03 mar. 2023.

GOSLING, Aaron; STEVENS, Geoff; BARBER, Andrew; KENTISH, Sandra; GRAS, Sally. Effect of the substrate concentration and water activity on the yield and rate of the transfer reaction of  $\beta$ -galactosidase from *Bacillus circulans*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, n. 7, 3366-72, 2011. <https://doi.org/10.1021/jf104397w>.

GUIMARÃES, Pedro; TEIXEIRA, José; DOMINGUES, Lucília. Fermentation of lactose to bio-ethanol by yeasts as part of integrated solutions for the valorization of cheese whey. **Biotechnology Advances**, Elsevier BV, v. 28, n. 3, p. 375–384, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2010.02.002>.

HACKENHAAR, Camila Regina. **OBTENÇÃO ENZIMÁTICA DE GALACTO-OLIGOSSACARIDEOS UTILIZANDO SORO E PERMEADO DE SORO DE QUEIJO COMO SUBSTRATO**. 2018. 46 f. Trabalho de Conclusão de Curso - Curso de Engenharia de Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2018.

HARDY, Joel; SCHER, Joel; BANON, Sylvie. **Water activity and hydration of milk powders**. In: FIRST INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON SPRAY DRYING OF MILK PRODUCTS, 2001, Rennes, France.

HYND, J. Drying of whey. **Journal of The Society of Dairy Technology**, Wembley, v. 33, n. 2, p. 52-55, 1980.

JURADO, E.; CAMACHO, F.; LUZÓN, G.; VICARIA, J. M. A new kinetic model proposed for enzymatic hydrolysis of lactose by a  $\beta$ -galactosidase from *Kluyveromyces fragilis*. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 31, n. 3, p. 300-309, 2002. [http://dx.doi.org/10.1016/S0141-0229\(02\)00107-2](http://dx.doi.org/10.1016/S0141-0229(02)00107-2)

KLATT, Nichole; CANARY, Lauren; SUN, Xiaoyong; VINTON, Carol; FUNDERBURG, Nicholas; MORCOCK, David; QUIÑONES, Mariam; DEMING, Clayton; PERKINS, Molly; HAZUDA, Daria; MILLER, Michael; LEDERMAN, Michael; SEGRE, Julia; LIFSON, Jeffrey; HADDAD, Elias; ESTES, Jacob; BRENCHLEY, Jason. Probiotic/prebiotic supplementation of antiretrovirals improves gastrointestinal

immunity in siv-infected macaques. **Journal of Clinical Investigation**. v. 123, p. 903–907, 2013. <https://doi.org/10.1172/JCI66227>

KLEIN, Manuela. **HIDRÓLISE DA LACTOSE E SÍNTESE DE GALACTO-OLIGOSSACARÍDEOS UTILIZANDO  $\beta$ -GALACTOSIDASE IMOBILIZADA EM SUPORTES À BASE DE QUITOSANA**. 2014. 174 p. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos), Universidade Federal de Santa Catarina, Santa Catarina, 2014.

KOTHARI, Damini; PATEL, Seema; GOYAL, Arun. Therapeutic spectrum of nondigestible oligosaccharides: overview of current state and prospect. **Journal Food Science**. v. 79, n. 8, p. 1491–1498, 2014. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.12536>

LAMSAL, Buddhi. Production, health aspects and potential food uses of dairy prebiotic galacto-oligosaccharides. **Journal Science Food Agricultural**. v. 92, n. 10, p. 2020–2028, 2012. <https://doi.org/10.1002/jsfa.5712>

LANGEN, Mirjam.; DIELEMAN, Levinus. Prebiotics in chronic intestinal inflammation. **Inflamm Bowel Dis.**, v. 15, n. 3, p. 454–462, 2009. <https://doi.org/10.1002/ibd.20737>

LIMA, Luiz; PEREZ, Ronaldo; CHAVES, José. A indústria de laticínios no Brasil – Um estudo exploratório. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v. 35, n. 1, 2017.

LISBOA, Cristiane; MARTINEZ, Luciana; TRINDADE, Renata; COSTA, Fátima; BURKERT, Janaína; BURKERT, Carlos. Response surface methodology applied to the enzymatic synthesis of galacto-oligosaccharides from cheese whey. **Food Science and Biotechnology**, v. 21, p. 1519–1524, 2012. <https://doi.org/10.1007/s10068-012-0202-2>.

LETEXIER, Dominique; DIRAISON, Frédérique; BEYLOT, Michel. Addition of inulin to a moderately high-carbohydrate diet reduces hepatic lipogenesis and plasma triacylglycerol concentrations in humans. **The American Journal of Clinical Nutrition**, Elsevier BV, v. 77, n. 3, p. 559–564, 2003. <https://doi.org/10.1093/ajcn/77.3.559>.

LOUIS, Petra; FLINT, Harry; MICHEL, Catherine. How to Manipulate the Microbiota: Prebiotics. *Advances in experimental medicine and biology*. **Adv Exp Med Biol**, v. 902, p. 119–142, 2016. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-31248-4\\_9](https://doi.org/10.1007/978-3-319-31248-4_9)

MAHONEY, Raymond. Galactosyl-oligosaccharide formation during lactose hydrolysis: a review. **Food Chemistry**, v. 63, n. 2, p. 147-154, 1998.

MANZOOR, Sabeena; WANI, Shoib; MIR, Sajad; RIZWAN, Danish. Role of probiotics and prebiotics in mitigation of different diseases. **Nutrition**, v. 96, p. 111602, 2022. Elsevier BV. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2022.111602>.

MARTINS, André. BURKERT, Carlos. Galacto-oligosacarídeos (GOS) e seus efeitos prebióticos e bifidogênicos. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 12, n. 3, p. 230-240, 2009.

MARQUES, Luanda. **Liofilização de frutas tropicais**. 2008. 249f. Tese (Doutorado em Engenharia Química) – Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2008.

MASTERS, Keith. **Spray Drying in Practices**. Denmark: SprayDryConsult International ApS, 464 p., 2002.

MELLO, Naiara. SELEÇÃO DE NOVAS LINHAGESN PRODUTORAS DE PREBIÓTICOS: FRUTO-OLIGOSSACARÍDEOS (FOS) E GALACTO-OLIGOSSACARÍDEOS (GOS) . Unicamp, 2008. Disponível em: <https://www.prp.unicamp.br/pibic/congressos/xvicongresso/resumos/063300.pdf>. Acesso em 18 mar. 2023.

MINTEL. “Attitudes towards food, weight and diet”. USA: Mintel International Group, 2009. Disponível em: [http://academic.mintel.com/sinatra/oxygen\\_academic/search\\_results/show&&](http://academic.mintel.com/sinatra/oxygen_academic/search_results/show&&) Acesso em 03 jan. 2023.

MISTRY, Rima; LIU, Fan; BOREWICZ, Klaudyna; LOHUIS, Mirjam; SMIDT, Hauke; VERKADE, Henkjan; TIETGE, Uwe. 2020. Long-Term  $\beta$ -galacto-oligosaccharides supplementation decreases the development of obesity and insulin resistance in mice fed a western-type diet. **Molecular Nutrition Food Research**, v. 64, n. 12, p. 1900922, 2020. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201900922>.

NETO, Hermínio. **Obtenção do tomate seco através do uso de um sistema solar alternativo de baixo custo**. 2008. 42 f. Tese (Mestrado em Engenharia mecânica) – Programa de Pós-Graduação em Engenharia Mecânica - Universidade Federal do Rio grande de Norte, Natal, 2008.

NG, Sophia; NGUYEN, Phuong; BHANDARI, Bhesh; PRAKASH, Sangeeta. Influence of different functional ingredients on physical properties, rheology, tribology, and oral perceptions of no fat stirred yoghurt. **Journal of Texture Studies**, v. 49, n. 3, p. 274–285, 2017. <https://doi.org/10.1111/jtxs.12307>.

PANESAR, Parmjit; KUMARI, Shweta; PANESAR, Reeba. Potential Applications of Immobilized  $\beta$ -Galactosidase in Food Processing Industries. **Enzyme Res.**, 2010. <https://doi.org/10.4061/2010/473137>.

PANESAR, Parmjit; KAUR, Rupinder; SINGH, Ram; KENNEDY, John. Biocatalytic strategies in the production of galacto-oligosaccharides and its global status. **International Journal of Biological Macromolecules**, Elsevier BV, v. 111, p. 667–679, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.01.062>.

PESSELA, Benevides; MATEO, Cesar; FUENTES, Manuel; VIAN, Alejandro; GARCÍA, José; CARRASCOSA, Alfonso; GUISÁN, José; FERNÁNDEZ-LAFUENTE, Roberto. The immobilization of a thermophilic  $\beta$ -galactosidase on sepabeads supports decreases product inhibition: complete hydrolysis of lactose in dairy products. **Enzyme and Microbial Technology**, Oxford, v. 33, n. 2-3, p. 199-205, 2003. [https://doi.org/10.1016/S0141-0229\(03\)00120-0](https://doi.org/10.1016/S0141-0229(03)00120-0).

PLAYNE, M. J.; CRITTENDEN, R. G. Galacto-oligosaccharides and other products derived from lactose. 3. ed. Nova York: Advanced Dairy Chemistry, p 121–201, 2009. [https://doi.org/10.1007/978-0-387-84865-5\\_5](https://doi.org/10.1007/978-0-387-84865-5_5).

PREBIOTICS Ingredients Market: Growth, Trends, Impact of COVID-19 and Forecasts (2023-2028). **Mordor Intelligence**, 2021. Disponível em: <https://www.mordorintelligence.com/pt/industry-reports/prebiotic-ingredients-market>. Acesso em 16 dez. 2022.

POOL-ZOBEL, Beatrice. Inulin-type fructans and reduction in colon cancer risk: Review of experimental and human data. **British Journal of Nutrition**, v. 93, n. 1, p. 73–90, 2005. <https://doi.org/10.1079/BJN20041349>.

RAFTER, Joseph; BENNETT, Michael; CADERNI, Giovanna; CLUNE, Yvonne; HUGHES, Roi; KARLSSON, Pernilla; KLINDER, Annett; O'RIORDAN, Micheal; O'SULLIVAN, Gerald; POOL-ZOBEL, Beatrice; RECHKEMMER, Gerhard; ROLLER, Monika; ROWLAND, Ian; SALVADORI, Maddalena; THIJS, Herbert; VAN, Jan; WATZL, Bernhard; COLLINS, John. Dietary synbiotics reduce cancer risk factors in polypectomized and colon cancer patients. **The American Journal Clinical of Nutrition**, Elsevier BV, v. 85, n. 2, p. 488–496, 2007. <https://doi.org/10.1093/ajcn/85.2.488>.

RAIZEL, Raquel; SANTINI, Eliana; KOPPER, Andressa; FILHO, Adilson. Efeitos do consumo de probióticos, prebióticos e simbióticos para o organismo humano. **Revista ciência e saúde**, v. 4, n. 2, p. 66-74, 2011.

ROBERFROID, Marcel; GIBSON, Glenn; HOYLES, Lesley; McCARTNEY, Anne; RASTALL, Robert; ROWLAND, Ian; WOLVERS, Danielle; WATZL, Bernhard; SZAJEWSKA, Hania; STAHL, Bernd; GUARNER, Francisco; RESPONDEK, Frederique; WHELAN, Kevin; COXAM, Veronique; DAVICCO, Marie-Jeanne; LÉOTOING, Laurent; WITTRANT, Yohann; DELZENNE, Nathalie; CANI, Patrice; NEYRINCK, Audrey; MEHEUST, Agnes. Prebiotic effects: metabolic and health benefits. **British Journal of Nutrition**, v. 104, n. 2, p. 1-63, 2010. <https://doi.org/10.1017/S0007114510003363>.

ROSSETTO, Bruna. **SÍNTESE DE GALACTO-OLIGOSSACARÍDEOS A PARTIR DE SORO DE QUEIJO POR REAÇÃO ENZIMÁTICA**. 2009. Tese (Mestrado em Engenharia Química) - Curso de Engenharia Química – Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2009.

SAKO, Tomoyuki; MATSUMOTO, Keisuke; TANAKA, Ryuichiro. Recent progress on research and applications of non-digestible galacto-oligosaccharides. **International Dairy Journal**, Elsevier BV, v. 9, p. 69–80, 1999. [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(99\)00046-1](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(99)00046-1).

SAKO, Tomoyuki; TANAKA, Ryuichiro. **Prebiotics Types**. 2. ed. Academic Press: Encyclopedia of Dairy Sciences, 2011. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374407-4.00426-X>.

SANDERS, Mary; MERENSTEIN, Daniel; REID, Gregor; GIBSON, Glenn; RASTALL, Robert. Probiotics and prebiotics in intestinal health and disease: from biology to the clinic. **Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology**, v. 16, n. 10, p. 605-616, 2019. <https://doi.org/10.1038/s41575-019-0173-3>.

SANGWAN, Vikas; TOMAR, S.; SINGH, R. R. B.; SINGH, A. K.; ALI, Babar. Galacto-oligosaccharides: Novel components of designer foods. **Journal of Food Science**, v. 76, n. 4, p. 103-111, 2011. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2011.02131.x>.

SCHUCK, Pierre; BOUHALLAB, Said; DURUPT, Delphine; VAREILLE, Philippe; HUMBERT, Jean-Paul; MARIN, Michèle. Séchage des lactosérums et dérivés: rôle du lactose et de la dynamique de l'eau. **Le Lait**, Rennes, v. 84, p. 243-268, 2004.

SCOTT, Felipe; VERA, Carlos; CONEJEROS, Raúl. **Technical and Economic Analysis of Industrial Production of Lactose-Derived Prebiotics with Focus on**

**Galacto-Oligosaccharides.** Elsevier Inc: Lactose-Derived Prebiotics: A Process Perspective, 2016. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802724-0.00007-X>.

SCOTT, Karen; MARTIN, Jennifer; DUNCAN, Sylvia; FLINT, Harry. Prebiotic stimulation of human colonic butyrate-producing bacteria and bifidobacteria, in vitro. **FEMS microbiology ecology**, v. 87, n. 1, p. 30–40, 2014. <https://doi.org/10.1111/1574-6941.12186>.

SMITH, Karen. **Dried dairy ingredients.** Madison: Wisconsin Center for Dairy Research, 2008.

STEED, H; MACFARLANE, S. **Mechanisms of prebiotic impact on health.** Nova York: Prebiotics and Probiotics Science and Technology, 2009. [https://doi.org/10.1007/978-0-387-79058-9\\_5](https://doi.org/10.1007/978-0-387-79058-9_5).

STINSON, Lisa; PAYNE, Matthew; KEELAN, Jeffrey. Planting the seed: Origins, composition, and postnatal health significance of the fetal gastrointestinal microbiota. *Critical Reviews in Microbiology*, v. 43, n. 3, p. 352–369, 2017. <https://doi.org/10.1080/1040841X.2016.1211088>.

TIDD, Joe; BESSANT, John. *Gestão da inovação.* 5. ed. Porto Alegre: Bookmen, 2015.

TEIXEIRA, L; FONSECA, Leorges. Perfil físico-químico do soro de queijos mozzarella e minaspadrão produzidos em várias regiões do estado de Minas Gerais. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 60, n. 1, p. 243-250, 2008.

TENDÊNCIAS Globais de Consumo 2023. Mintel, 2022. Disponível em: <https://brasil.mintel.com/tendencias-globais-do-consumidor>. Acesso em 04 fev. 2023.

TOMAL, Adriana; CUNHA, Magna; BOSSO, Alessandra; YOUSSEF, Elza; SUGUIMOTO, Hélio. Avanços Tecnológicos na Obtenção, Purificação e Identificação de Galacto-oligosacarídeos e Estudo de suas Propriedades Prébióticas. **UNOPAR Cient. Ciências Biológicas da Saúde**, v. 12, n. 4, p. 41-49, 2010.

TORRES, Duarte; GONÇALVES, Maria; TEIXEIRA, José; RODRIGUES, Lígia. Galacto-Oligosaccharides: production, properties, applications, and significance as prebiotics. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 9, n. 5, p. 438–454, 2010. <https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2010.00119.x>.

VAN-LEUSEN, Ellen; TORRINGA, Erik; GROENINK, Paul; KORTLEVE, Pieter; GEENE, Renske; SCHOTERMAN, Margriet; KLARENBEK, Bert. **Industrial**

**applications of galacto-oligosaccharides.** Food Oligosaccharides: Production, Analysis and Bioactivity, p. 470–491, 2014. <https://doi.org/10.1002/9781118817360.ch25>.

VARZAKAS, Theodoros; KANDYLIS, Panagiotis; DIMITRELLOU, Dimitra; SALAMOURA, Chryssoula; ZAKYNTHINOS, George; PROESTOS, Charalampos. **Innovative and fortified food: Probiotics, prebiotics, gmos, and superfood.** Kalamata: Preparation and Processing of Religious and Cultural Foods, Elsevier BV, p. 67–129, 2018. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-101892-7.00006-7>.

VALDUGA, Eunice; PAVIANI, Losiane; MAZUR, Sheila; FINZER, José. Aplicação do soro de leite em pó na panificação. **Alimentos Nutricionais**, v. 17, n. 4, p. 393-400, 2006.

VALERO, Juan. **Production of galacto-oligosaccharides from lactose by immobilized  $\beta$ -galactosidase and posterior chromatographic separation.** 2009. Tese (Doutorado em Engenharia Química e Biomolecular) – Curso de Engenharia Química e Biomolecular - Ohio State University, Columbus, 2009.

VIALTA, Airton; COSTA, Antônio; SARANTÓPOULOS, Claire; LOPES, Ellen; RIBEIRO, Eliana; DONNA, Enzo; MACÊDO, Fernando; HONCZAR, Gregory; FERREIRA, Joaquim; GATTI, Jozeti; BARBOSA, Livia; MADI, Luis; TOLEDO, Maria; REGO, Raul; DANTAS, Tiago. **Brasil Food Trends 2020.** São Paulo: FIESP e ITAL – Instituto de Tecnologia de Alimentos, 2010.

VULEVIC, Jelena; DRAKOULARAKOU, Alexandra; YAGOOB, Parveen; TZORTZIS, George; GIBSON, Gleen. R. Modulation of the fecal microflora profile and immune function by a novel transgalactooligosaccharide mixture (B-GOS) in healthy elderly volunteers. **The American Journal of Clinical Nutrition**, Elsevier BV, v. 88, n. 5, p. 1438–1446, 2008. <https://doi.org/10.3945/ajcn.2008.26242>.

WANG, S.; LANGRISH, T. A review of process simulations and the use of additives in spray drying. **Food Research International**, Elsevier BV, v. 42, n. 1, p. 13 – 25, 2009. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2008.09.006>.

WONG, P.; LACROIX, E.; MCDONOUGH, E. Minerals in whey and whey fractions. **Journal of dairy science**, v. 61, n. 12, p. 1700-1703, 1978.

YOUNESI, Erfan; AYSELI, Mehmet. An integrated systems-based model for substantiation of health claims in functional food development. **Trends in Food**

**Science & Technology**, Elsevier BV, v. 41, n. 1, p. 95–10, 2015.  
<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2014.09.006>.

## ANEXO I – Material Prévio para responsável de indústria de Chocolates

### Ingrediente prebiótico (GOS) para chocolates

#### ■ Mercado Funcional de Alimentos

Dentro do mercado funcional de alimentos, existe a categoria de alimentos prebióticos (como os galacto-oligosacarídeos - GOS) reconhecidos por oferecer vários **benefícios à saúde**, além do seu alto valor nutritivo.

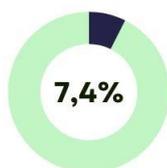


#### Principais benefícios para a saúde - Prebióticos

- Aumento da absorção de cálcio;
- Proteção contra o risco de câncer colorretal;
- Fortalecimento da imunidade;
- Diminuição do risco de doenças cardiovasculares;
- Manutenção da microbiota intestinal.

#### ■ Pães enriquecidos com prebióticos

Dados mercadológicos mostram um **mercado em ascensão**, principalmente pela crescente preocupação dos consumidores (após o COVID-19) em priorizar sua saúde.



#### CAGR DE 7.4% NA AMÉRICA DO SUL (2020 - 2025)

Previsão de crescimento de ingredientes prebióticos na América do Sul. Na Europa, o mercado de GOS (prebiótico) **creceu anualmente 9,4%** (2014 - 2020).

Fonte: Mordor Intelligence

#### TCC - Desenvolvimento de ing. prebiótico

No meu TCC, estou desenvolvendo um ingrediente prebiótico em pó (permeado de soro de leite enriquecido com GOS) para uso em chocolates, gerando produtos de alto valor agregado. Os GOS possuem sabor levemente doce e baixo valor calórico (menor que 50%, comparado à sacarose), podendo ser substitutos do açúcar. O objetivo da conversa é entender a potencialidade dessa aplicação na indústria.

## ANEXO II – Material Prévio para responsável da indústria de pães

### Ingrediente prebiótico (GOS) para pães

#### ■ Mercado Funcional de Alimentos

Dentro do mercado funcional de alimentos, existe a categoria de alimentos prebióticos (como os galacto-oligosacarídeos - GOS) reconhecidos por oferecer vários **benefícios à saúde**, além do seu alto valor nutritivo.

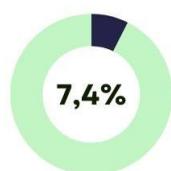


#### Principais benefícios para a saúde - Prebióticos

- Aumento da absorção de cálcio;
- Proteção contra o risco de câncer colorretal;
- Fortalecimento da imunidade;
- Diminuição do risco de doenças cardiovasculares;
- Manutenção da microbiota intestinal.

#### ■ Pães enriquecidos com prebióticos

Dados mercadológicos mostram um **mercado em ascensão**, principalmente pela crescente preocupação dos consumidores (após o COVID-19) em priorizar sua saúde.



#### CAGR DE 7.4% NA AMÉRICA DO SUL (2020 - 2025)

Previsão de crescimento de ingredientes prebióticos na América do Sul. Na Europa, o mercado de GOS (prebiótico) **creceu anualmente 9,4%** (2014 - 2020).

Fonte: Mordor Intelligence

#### TCC - Desenvolvimento de ing. prebiótico

No meu TCC, estou desenvolvendo um ingrediente prebiótico em pó (permeado de soro de leite enriquecido com GOS) para uso em pães, gerando produtos de alto valor agregado. Devido à sua alta capacidade de retenção de umidade, os GOS impedem a secagem excessiva. O objetivo da conversa é entender a potencialidade dessa aplicação na indústria.

## ANEXO III – Material Prévio para responsável da indústria de produtos lácteos

### Ingrediente prebiótico (GOS) para produtos lácteos

#### ■ Mercado Funcional de Alimentos

Dentro do mercado funcional de alimentos, existe a categoria de alimentos prebióticos (como os galacto-oligosacarídeos - GOS) reconhecidos por oferecer vários **benefícios à saúde**, além do seu alto valor nutritivo.

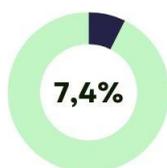


#### Principais benefícios para a saúde - Prebióticos

- Aumento da absorção de cálcio;
- Proteção contra o risco de câncer colorretal;
- Fortalecimento da imunidade;
- Diminuição do risco de doenças cardiovasculares;
- Manutenção da microbiota intestinal.

#### ■ Produtos lácteos enriquecidos com prebióticos

Dados mercadológicos mostram um **mercado em ascensão**, principalmente pela crescente preocupação dos consumidores (após o COVID-19) em priorizar sua saúde.



#### CAGR DE 7.4% NA AMÉRICA DO SUL (2020 - 2025)

Previsão de crescimento de ingredientes prebióticos na América do Sul. Na Europa, o mercado de GOS (prebiótico) **creceu anualmente 9,4%** (2014 - 2020).

Fonte: Mordor Intelligence

#### TCC - Desenvolvimento de ing. prebiótico

No meu TCC, estou desenvolvendo um ingrediente prebiótico em pó (permeado de soro de leite enriquecido com GOS) para uso em produtos lácteos, gerando produtos de alto valor agregado. Devido à sua solubilidade e semelhança aos oligossacarídeos presentes no leite, são facilmente dissolvidos em produtos lácteos, podendo melhorar suas características texturais. O objetivo da conversa é entender a potencialidade dessa aplicação na indústria.