



**INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA
DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO – IFRJ**

Programa De Pós-Graduação Em Ciência e Tecnologia De Alimentos

Campus Rio de Janeiro

Ludmila Salerno Leddomado

**EFEITO DA ADIÇÃO DE FIBRAS PREBIÓTICAS PARA CONFECCÃO DE DOCE
DE LEITE**

Rio de Janeiro- RJ

2020

Ludmila Salerno Leddomado

**EFEITO DA ADIÇÃO DE FIBRAS PREBIÓTICAS PARA CONFECCÃO DE DOCE
DE LEITE**

Dissertação apresentada como parte dos requisitos necessários para a obtenção do título de mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientador: Prof. Dr. Adriano Gomes da Cruz

Rio de Janeiro- RJ

2020

Ludmila Salerno Leddomado

**EFEITO DA ADIÇÃO DE FIBRAS PREBIÓTICAS PARA CONFECCÃO DE DOCE
DE LEITE**

Dissertação apresentada como parte dos requisitos necessários para a obtenção do título de mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Data da aprovação: 08/05/2020

Prof. Dr. Adriano Gomes da Cruz
Instituto Federal do Estado do Rio de Janeiro

Dr. Jonas Toledo Guimarães
Universidade Federal Fluminense

Dr. Celso Fasura Balthazar
Universidade Estadual de Campinas

Prof. Dra. Marcia Cristina Silva
Instituto Federal do Estado do Rio de Janeiro

Rio de Janeiro- RJ

2020

Aos meus pais, Victor e Judiley Leddomado, que sempre valorizaram e incentivaram a minha educação formal. Todas as minhas conquistas são de vocês.

AGRADECIMENTOS

A todos os professores participantes do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos do Instituto Federal do Rio de Janeiro (Campus Rio de Janeiro) por todos os ensinamentos passados, que certamente contribuíram para que eu me tornasse uma profissional mais capacitada.

Ao Prof. Dr. Adriano Gomes da Cruz, por toda orientação e incentivo durante a execução do projeto, tendo sido a sua ajuda e participação indispensáveis para a conclusão dessa dissertação.

Ao Msc. Ramon Silva, por ter se disposto a me ajudar com a fabricação das amostras, sendo fundamental para o desenvolvimento com êxito dos doces de leite adicionado das fibras prebióticas, objetivo principal desse estudo.

Ao Núcleo Avançado de Tecnologia de Alimentos (NATA), pela atenção recebida e por terem me cedido o espaço, bem como seus estagiários, para a elaboração das amostras do doce de leite.

Ao Msc. Ramon Rocha, por ter me ajudado, juntamente com os técnicos do NATA e seus estagiários, na elaboração do doce de leite no projeto piloto, etapa fundamental do estudo que serviu para nortear a correta execução das amostras.

Ao professor Dr. Rodrigo da Cunha Bisaggio, pela paciência e captura das mais de duas mil imagens para a avaliação dos cristais de lactose.

Ao Dr. Jonas Guimarães, por ter se disposto a colaborar com as análises de cor e de textura.

Ao professor Dr. Paulo Henrique Silva, por ter se disposto a colaborar com as análises de composição centesimal e de Hidroximetilfurfural.

Ao professor Dr. Erick Almeida Esmerino, por ter ajudado a desenvolver o projeto de pesquisa do presente trabalho.

Ao meu companheiro Phillipe Bauer, meu maior incentivador profissional, cujos conselhos sempre nortearam a minha jornada. O seu apoio, certamente, foi fundamental para o início e conclusão dessa etapa.

Ledomado, L.S.; Silva, R.; Balthazar, C. F.; Guimarães J.T.; Esmerino, E. A.; Freitas, M. Q.; Pimentel, T. C.; Cruz, A. G.

RESUMO

O efeito da adição de ingredientes prebióticos (inulina ou xylo-oligossacarídeo, XOS, 2,5g/100g) no Doce de leite (DL) foi avaliado quanto aos seguintes parâmetros de qualidade: composição química, indicadores térmicos (hidroximetilfurfural - HMF), perfil de textura (TPA), parâmetros de cor, mobilidade de água (TD-NMR), perfil de ácidos graxos e tamanho de cristais (microscopia óptica e modelo preditivo). Os DL apresentaram composição química adequada e valor calórico entre 253,10-316,47 kcal/g. Doces de leite integrais adicionados de inulina foram mais coesos, enquanto doces de leite desnatados adicionados de inulina apresentaram perfil de textura mais próximo ao produto integral (firmeza, coesividade, adesividade e gomosidade), demonstrando a capacidade de substituição de gordura da inulina. Doces de leite com prebióticos apresentaram menor teor de HMF e coloração mais intensa, não havendo impacto negativo no perfil de ácidos graxos e índices de saúde. TD-NMR demonstrou que inulina contribuiu para a diminuição de T_1 quando comparado ao XOS, resultando em uma estrutura mais heterogênea. A adição de prebiótico foi capaz de atrasar a formação de cristais ao longo do tempo da validade comercial. Conclui-se, então, que a adição de inulina ou XOS mostrou-se uma alternativa interessante a ser utilizada na formulação de doce de leite, induzindo mudanças estruturais positivas, possibilitando a produção de um doce de leite com potencial funcional, sem descaracterizar os aspectos físico-químicos e de textura.

Palavras-chave: doce de leite, inulina, xilo-oligossacarídeo, alimentos funcionais.

Leddomado, L.S.; Silva, R.; Balthazar, C. F.; Guimarães J.T.; Esmerino, E. A.; Freitas, M. Q.; Pimentel, T. C.; Cruz, A. G.

ABSTRACT

The addition of prebiotic ingredients (inulin or xylooligosaccharide, XOS, 2.5g/100g) on the quality parameters of *Dulce de Leche* (DL) was evaluated. Gross composition, hydroxymethylfurfural values, texture profile (TPA), color parameters, water mobility (TD-NMR), fatty acid profile, crystal size (optical microscopy and predictive modeling) were performed. DL samples exhibited an appropriate physicochemical composition and energy value ranging from 253.10 to 316.47 kcal/g. The addition of inulin improved the cohesiveness for full fat milk samples while XOS led to a firmer, adhesive, and gummy texture, regardless of the fat content of the products. Regardless of the prebiotic ingredient, lower HMF values and more intense optical parameters were observed, without negative impact on the fatty acid profile. TD-NMR showed the inulin contributed to a decreased in T_1 when compared to XOS, resulting a more heterogeneous structure. Finally, the prebiotic addition was able to delay the crystal along the storage time. Therefore, the addition of inulin or XOS to *Dulce de Leche* formulations proved to be an interesting alternative, inducing positive structural changes, which made it possible to produce a dulce de leche with functional potential, without detracting the physical-chemical and texture aspects.

Key-words: dulce de leche, inulin, xylooligosaccharide, processing

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 Relaxação longitudinal dos domínios (T_1 , A) e distribuição das curvas transversas de relaxamento dos domínios (T_2 ,B) do TD-NMR de Doce de leite adicionado de inulina e xylooligossacarídeo. W (doce de leite integral controle); W-I (doce de leite integral + inulina); W-X (doce de leite integral + XOS); S (doce de leite desnatado controle); S-I (doce de leite desnatado + inulina); S-X (doce de leite desnatado + XOS). (Figure 1. Longitudinal Relaxations domains (T_1 , A) and Distribution curves of transverse relaxation domains (T_2 ,B) of TD-NMR of Dulce of leche added with inulin and xylooligosaccharide. W-I: full-fat dulce de leche + inulin. W-X: full-fat dulce de leche + XOS. S: skimmed dulce de leche. S-I: skimmed dulce de leche + inulin. S-X: skimmed dulce de leche + XOS). 47

Figura 2 Microscopia óptica do cristal de lactose típico. W (doce de leite integral controle); W-I (doce de leite integral + inulina); W-X (doce de leite integral + XOS); S (doce de leite desnatado controle); S-I (doce de leite desnatado + inulina); S-X (doce de leite desnatado + XOS). (Figure 2. Optical microscopy of typical lactose crystal of Dulce of leche added with inulin and xylooligosaccharide. W: full-fat dulce de leche. W-I: full-fat dulce de leche + inulin. W-X: full-fat dulce de leche + XOS. S: skimmed dulce de leche. S-I: skimmed dulce de leche + inulin. S-X: skimmed dulce de leche + XOS). 48

Figura 3 Tamanho do cristal em função do tempo nas formulações de doce de leite. W (doce de leite integral controle); W-I (doce de leite integral + inulina); W-X (doce de leite integral + XOS); S (doce de leite desnatado controle); S-I (doce de leite desnatado + inulina); S-X (doce de leite desnatado + XOS). (Crystal size as a function of time in dulce de leche formulations. A: full-fat formulations. B: skimmed formulations. W: full-fat dulce de leche. W-I: full-fat dulce de leche + inulin. W-X: full-fat dulce de leche + XOS. S: skimmed dulce de leche. S-I: skimmed dulce de leche + inulin. S-X: skimmed dulce de leche + XOS). 49

Figura 4 Modelo preditivo de crescimento do cristal de lactose durante os 60 dias de prazo comercial. W (doce de leite integral controle); W-I (doce de leite integral + inulina); W-X (doce de leite integral + XOS); S (doce de leite desnatado controle); S-I (doce de leite desnatado + inulina); S-X (doce de leite desnatado + XOS). (Predictive modelling of growth of lactose crystals during the 60 days storage time. Dotted lines and symbols display measured data and data adjusted by the Gompertz model are displayed by full curve. W: full-fat dulce de leche. W-I: full-fat dulce de leche + inulin. W-X: full-fat dulce de leche + XOS. S: skimmed

dulce de leche. S-I: skimmed dulce de leche + inulin. S-X: skimmed dulce de leche + XOS

		51
Figura 5	Primeira folha do pedido de patente.	74
Figura 6	Segunda folha do pedido de patente.	75

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** Composição química (g/100g) e valor calórico (kcal/g) das formulações dos doces de leite funcionais. (*Table 1. Chemical composition (g/100g) and caloric value (kcal/g) of the functional dulce de leche formulations^{a)}*) 41
- Tabela 2** Características físico-químicas das formulações dos doces de leite funcionais. (*Table 2. Physical and chemical characteristics of the functional dulce de leche formulations^{a)}*) 44
- Tabela 3** Perfil de ácidos graxos (g/100g de lipídeos) das formulações de doces de leite funcionais. (*Table 3 Fatty acid profile (g/100g of fat) of the functional dulce de leche formulations^{a)}*) . 45
- Tabela 4** Parâmetros cinéticos obtidos pelo método reparamétrico de Gompertz para o tamanho do cristal de lactose ajustado para as formulações de doce de leite. (*Table 4 Kinetic parameters obtained by reparameterized Gompertz model for lactose crystal size when adjusting the dulce de leche formulation*) 52

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AGS	Ácidos graxos saturados
AI	Índice aterogênico
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
DFA	<i>Desired fatty acids</i> (Ácidos graxos desejados)
ECL	<i>Equivalent chain length</i> (Comprimento equivalente de cadeia)
FIL	<i>International Dairy Federation</i> (Federação internacional de derivados lácteos)
FOS	Fruto-oligossacarídeos
GOS	Galacto-oligossacarídeo
HMF	Hidroximetilfurfural
HSFA	<i>Hypercholesterolemic saturated fatty acids</i> (Ácidos graxos saturados hipercolesterolêmicos)
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
MUFA	<i>Monounsaturated fatty acids</i> (Ácidos graxos monoinsaturados)
PUFAs	<i>Polyunsaturated fatty acids</i> (Ácidos graxos poli-insaturado)
RPM	Rotação por minuto
RTIQ	Regulamento Técnico de Fixação de Identidade e Qualidade do Doce de Leite
SFA	<i>Saturated fatty acid</i> (Ácido graxo saturado)
TD-NMR	<i>Time-Domain Nuclear Magnetic Resonance</i> (Ressonância Magnética Nuclear no domínio do tempo)
TPA	<i>Texture profile analysis</i> (Análise do perfil de textura)
TI	Índice trombogênico
UHT	<i>Ultra High Temperature</i> (Ultra alta temperatura)
XOS	Xylo-oligossacarídeo

LISTA DE SÍMBOLOS

®	Marca Registrada
a*	Cor vermelha
b*	Cor amarela
C*	Saturação (<i>Chroma</i>)
L*	Luminosidade
h*	Matiz (<i>Hue angle</i>)

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 REFERENCIAL TEÓRICO	16
2.1 DOCE DE LEITE	16
2.2 ALIMENTOS FUNCIONAIS	19
2.2.1 Fibras Prebióticas	20
2.2.1.1 Inulina	23
2.2.1.2 Xylo-oligossacarídeo	24
3. ARTIGO 1	25
4 ARTIGO 2	32
5 CONCLUSÃO	59
REFERÊNCIAS	60
ANEXO	74

1 INTRODUÇÃO

O doce de leite é uma sobremesa típica da América Latina e por se tratar de um dos principais produtos lácteos comercializados na Argentina, Brasil, Paraguai, Uruguai e Chile, desperta grande interesse das indústrias e da comunidade científica. Trata-se de um produto obtido através da redução do leite pela ação do calor acrescido de sacarose (STEPHANIE *et al.*, 2019), produzido a pressão normal ou reduzida (ZARPELON *et al.*, 2016), podendo ser adicionado de ingredientes opcionais, tais como creme, amido, cacau, chocolate, coco, amendoim, cereais e/ou outros produtos alimentícios isolados ou misturados em uma proporção de 5% a 30% m/m do produto final (BRASIL, 1997). A cor e o sabor típicos do doce de leite são oriundos da Reação de Maillard, um conjunto de reações químicas resultante do processamento térmico utilizado (STEPHANIE *et al.*, 2019).

Minas Gerais é o estado brasileiro responsável pela metade da produção de doce de leite no país, além de possuir o maior número de indústrias de laticínios, contendo cerca de 34,4% do total das empresas registradas (OLIVEIRA *et al.*, 2017). Segundo dados divulgados pela Agência Minas (2016), o estado mineiro é líder na exportação de doce de leite, tendo como principais destinos Estados Unidos, Reino Unido, Angola e Bolívia, representando um volume de exportação equivalente a 106 mil dólares nos sete primeiros meses de 2016.

A procura por alimentos saudáveis, modificados nutricionalmente, como por exemplo, os reduzidos em teor de gordura e adicionados de fibras (MORAIS, 2014; BIMBO *et al.*, 2017), aumentou significativamente nas últimas décadas. Esse fato está relacionado com o aumento do conhecimento da ligação entre saúde e hábitos alimentares, bem como do risco de desenvolvimento de doenças relacionadas à má alimentação, como desordens cardiovasculares e obesidade, resultando no crescimento do interesse das pessoas pelos ingredientes dos alimentos (AIDOO *et al.*, 2016).

A presença de um ingrediente que traz benefício à saúde influencia na compra dos consumidores que desejam realizar escolhas saudáveis, se predispondo, inclusive, em pagarem um preço mais elevado por esse tipo de produto (BIMBO *et al.*, 2017). Os consumidores preferem ingerir o ingrediente funcional como parte integrante da formulação de um alimento, em vez de ingeri-lo sozinho. Essa preferência tem norteado as pesquisas científicas, bem como o desenvolvimento de novas formulações pelas indústrias (KONAR *et al.*, 2016).

Prebióticos podem fazer parte da formulação de um alimento, conferindo benefícios à saúde do consumidor, como modulação da microbiota intestinal (GIBSON *et al.*, 2017). Além disso, podem ser utilizados como substituto de gordura em derivados lácteos por conferirem vantagens estruturais (STAFFOLO *et al.*, 2004). Devido ao seu valor nutricional e pela sua capacidade em promover mudanças sensoriais, prebióticos tem sido utilizados na reformulação de alimentos (WANG, 2009).

Nesse sentido, as indústrias de lácteos, em um cenário cada vez mais competitivo, têm buscado desenvolver novos produtos que atendam a atual demanda dos consumidores, elaborando formulações que melhorem o valor nutricional e funcionalidade do alimento (FERRÃO *et al.*, 2016). A fabricação de derivados lácteos funcionais é uma tendência para as indústrias desse segmento (FERRÃO *et al.*, 2016). A utilização de fibras prebióticas como inulina, oligofrutose e xilo-oligossacarídeo tem sido considerada vantajosa, pois esses componentes possuem a capacidade de conferir benefícios fisiológicos, tais como fortalecimento do sistema imunológico, diminuição do risco de ocorrência de doenças crônicas, diminuição do risco de câncer, melhora da saúde gastrointestinal, aumento da absorção de minerais, além de possuírem propriedades anti-inflamatórias (AL SHERAJI, 2013). Adicionalmente, justificam-se por sua influência positiva sobre as características sensoriais dos produtos, como intensificação de aroma, sabor e melhorias na textura (CRUZ *et al.*, 2010).

Diversos tipos de derivados lácteos já foram desenvolvidos utilizando fibras prebióticas, dentre eles: iogurte (COSTA *et al.*, 2019), queijo (SPERANZA *et al.*, 2018; FERRÃO *et al.*, 2017), sorvete (BALTHAZAR *et al.*, 2016), leite fermentado (BATISTA *et al.*, 2017), e proteína do soro do leite (*whey protein*) (GUIMARÃES *et al.*, 2018; SOUZA *et al.*, 2019).

De acordo com o Relatório de Inteligência Setorial sobre o Doce de Leite (SEBRAE, 2015b), esse alimento tem sido objeto de modificações a fim de atender às novas necessidades dos consumidores, já existindo, por exemplo, as versões *light* e *diet, light* funcional com café, sem lactose, entre outros. Entretanto, há escassos relatos na literatura sobre a elaboração de doces de leite enriquecidos com fibras prebióticas.

A escolha do doce de leite como um produto a ser reformulado se fundamenta por ser um alimento de grande comercialização e boa aceitação entre os consumidores, conhecido por seu sabor único e singular (BIMBO *et al.*, 2017). Dessa forma, além de existir a necessidade de se criar alimentos que tragam benefícios à saúde, a escolha de prebiótico como ingrediente se justifica por ele possibilitar melhorias tecnológicas ao doce de leite, sendo importante destacar que não há estudos até o momento que avaliem o efeito simultâneo da redução de gordura e

adição de prebióticos no doce de leite. A eliminação ou a redução de gordura em derivados lácteos pode resultar em mudanças estruturais, como alteração de cor, sabor e, principalmente, textura (GONZÁLES-TOMÁS *et al.*, 2007)

Um defeito sensorial e tecnológico de ocorrência comum no doce de leite é a presença de “arenosidade”, formada pela precipitação da lactose (HOUGH *et al.*, 1990), tornando um desafio a manutenção da textura fina característica do produto (PERRONE *et al.*, 2011). Isso ocorre porque o doce de leite constitui uma solução supersaturada de lactose, podendo precipitar-se após o seu resfriamento (PERRONE *et al.*, 2011). Com o objetivo de minimizar a ocorrência da cristalização e a consequente “arenosidade”, a adição de prebióticos pode contribuir positivamente para a melhoria desse problema, uma vez que possuem a capacidade de se ligar a água, aumentando a umidade do alimento, deixando-o menos saturado (BALTHAZAR *et al.*, 2016).

Dessa forma, o estudo em questão teve como objetivo elaborar doces de leite convencionais e *light* suplementadas com diferentes fibras prebióticas (inulina e xylo-oligossacarídeo), avaliando o efeito da adição dessas fibras sobre seus parâmetros de qualidade.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 DOCE DE LEITE

O doce de leite é um derivado lácteo típico da América Latina, produzido e amplamente consumido principalmente no Brasil e Argentina (FRANCISQUINI *et al.*, 2016), sendo um doce resultante da cocção do leite fluido com açúcar até a obtenção da concentração desejada, produzido em condições de pressão normal ou reduzida. A sua composição típica é composta por cerca de 70% de carboidrato, 6% de lipídeos e 2% de minerais (RANALLI *et al.*, 2017b; STEPHANIE *et al.*, 2019), possuindo alto valor calórico (>300 kcal/g), devido aos valores elevados de açúcar e gordura (RIBEIRO *et al.*, 2009). Essa composição centesimal deve estar de acordo com o Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade do Doce de Leite (BRASIL, 1997), que informa que o DL deverá conter no máximo 30% de umidade, de 6 a 9% de matéria gorda, mínimo de 5% de proteína e no máximo 2% de teor de cinzas.

O doce de leite pode ser consumido na forma de pasta, possuindo consistência cremosa, textura uniforme e sem cristais perceptíveis (PERRONE *et al.*, 2011). Este doce pastoso é confeccionado com o objetivo de ser consumido puro ou para elaboração de outras sobremesas, tais como sorvetes, alfajores, biscoitos (SILVA *et al.*, 2015), tortas, rocamboles e “canudinhos” (PERRONE *et al.*, 2011), tendo, portanto, dois grupos de consumidores: indústrias alimentícias e comércio/consumidores finais (GAZE *et al.*, 2015a). Outra forma de apresentação do doce de leite é na forma de barra, em que o doce se apresenta cristalizado, fato esse justificado pelo alto teor de sacarose e lactose, o que induz à cristalização. Comumente este é consumido diretamente como sobremesa, em forma de pedaços (PERRONE *et al.*, 2011).

Sensorialmente o doce de leite é caracterizado por ter consistência cremosa e homogênea, cor marrom, sabor típico e sem cristais perceptíveis ao paladar (SILVA *et al.*, 2015). A textura do doce de leite, na sua forma pastosa, é um dos principais atributos apreciados pelos consumidores (RANALLI *et al.*, 2011), tornando-se de extrema importância a determinação dos seus parâmetros, já que tem a capacidade de afetar a percepção e aceitação dos consumidores (REZAEI *et al.*, 2011). A textura é o resultado da interação entre carboidrato, proteína e gordura, sendo essa interação que determina as propriedades reológicas e estruturais do doce de leite. (RANALLI *et al.*, 2011). Francisquini e sua equipe (2016) realizaram um estudo envolvendo doze marcas comerciais de doce de leite e os resultados revelaram alta

correlação entre atividade de água, umidade e atributos reológicos (gomosidade, elasticidade, dureza, adesividade e mastigabilidade).

A “arenosidade” é um dos defeitos mais comuns de ocorrer no doce de leite. (HOUGH *et al.*, 1990). Esse fato ocorre devido ao doce de leite constituir uma solução supersaturada de lactose, a qual se cristaliza após o seu resfriamento (PERRONE *et al.*, 2011). Por esse motivo a manutenção da textura característica do doce de leite representa um desafio à fabricação desse produto (PERRONE *et al.*, 2011). Vale destacar que a arenosidade limita a duração do prazo comercial do doce de leite (GIMENEZ *et al.*, 2008), além de ter efeito negativo sensorialmente no doce, pois os consumidores tendem a rejeitá-lo (HOUGH *et al.*, 1990; GIMENEZ *et al.*, 2008). A percepção dos cristais pelos consumidores está relacionada à quantidade, ao tamanho e, principalmente, à aglomeração desses cristais (GIMENEZ *et al.*, 2008). Esses fatos ratificam a importância de se evitar a ocorrência desse erro (GIMENEZ *et al.*, 2008). A adição de prebióticos pode contribuir para minimizar a cristalização da lactose no doce de leite, já que possuem a capacidade de interagir com a água, aumentando a sua retenção e conseqüentemente, a umidade, contribuindo para deixar o doce menos saturado (BALTHAZAR *et al.*, 2016). Silva e sua equipe (2015) constataram que a adição de amido no doce de leite diminuiu a formação de cristais de lactose, devido a capacidade de retenção de água do amido.

O bicarbonato de sódio pode fazer parte da formulação do doce de leite, como um coadjuvante de tecnologia (BRASIL, 1997), a fim de favorecer e acelerar a Reação de Maillard, um conjunto de reações químicas responsáveis em originar polímeros complexos de cor marrom (PERRONE *et al.*, 2011), além de outras alterações importantes em relação às características sensoriais próprias desse tipo de alimento, como sabor e textura (FRANCISQUINI *et al.*, 2016). O 5-Hidromiximetilfurfural (HMF) é um composto intermediário proveniente da Reação de Maillard e indicador de intensidade de tratamento térmico. Apesar de essa reação ser responsável em conferir as características sensoriais típicas do doce de leite, ela pode ter efeito nutricional negativo, pois pode diminuir a concentração de aminoácidos essenciais, como por exemplo a da lisina (STEPHANI *et al.*, 2019.). Além da redução do valor nutritivo, esse composto furânico também está relacionado com outros efeitos negativos, como redução da absorção e da digestibilidade de proteínas, inibição do crescimento celular, hipertrofia de órgãos e diminuição das atividades enzimáticas (SHIBAO e BASTOS, 2011). Portanto, o HMF é um indicador de tratamento térmico importante em ser mensurado.

A cor do doce de leite, assim como a textura, é um dos principais atributos apreciados pelos consumidores (PENCI e MARÍN, 2016) e possui a tendência de ser vermelho e amarelo,

com predominância do amarelo (SILVA *et al.*, 2015). Como já mencionado anteriormente, a cor é originada através da Reação de Maillard, no entanto, os parâmetros de cor variam de acordo com os ingredientes que constituem o doce, bem como a proporção de cada um deles (RANAL *et al.*, 2011). A adição de amido tornou mais clara a cor do doce de leite (SILVA *et al.*, 2015). Em um estudo realizado por Balthazar e colaboradores (2016), foi constatado que a adição de prebióticos como substituto de gordura em sorvete de leite de ovelha resultou em um aumento da brancura e luminosidade do produto.

A presença de gordura no doce de leite, assim como em todos os produtos lácteos, desempenha papel importante nas suas propriedades reológicas, bem como nos aspectos sensoriais, principalmente sabor e textura (GONZALEZ-TOMAS *et al.*, 2008). Entretanto, o consumo de gorduras saturadas tem sido relacionado com aumento no risco de desenvolvimento de doenças cardiovasculares, diabetes tipo 2, câncer de próstata, entre outras, sendo sugerido que o seu consumo seja limitado a 10% da energia diária e que seja substituída por gorduras não saturadas e carboidratos com fibras (SVENDSEN, ARNESEN e RETTERSTOL, 2017). No entanto, a substituição da gordura por outros componentes em produtos alimentícios é um desafio para as indústrias, pois a gordura do leite desempenha função importante no desenvolvimento de textura, sabor e cor de produtos lácteos, sendo que a sua redução pode causar alguns efeitos negativos como perda de sabor, de consistência ou falta de textura (MCCARTHY, LOPETCHARAT e DRAKE, 2017). A diminuição da gordura no doce leite pode resultar em mudanças das suas propriedades físico-químicas, dos parâmetros de textura e perfil de sabor (RANALLI *et al.*, 2017a). Por esses motivos têm sido utilizados substitutos de gordura como amido, celulose, pectina, inulina, goma xantana e goma carragena, pois são carboidratos com propriedades físico-químicas positivas, além de não terem os efeitos negativos na saúde da gordura saturada (BAYARRI *et al.* 2010). Os prebióticos têm sido bastante utilizados como substituto de lipídeos na formulação de alimentos com redução de gordura, devido a sua propriedade gelificante (RANALLI *et al.*, 2017b), além de poderem conferir funcionalidade ao alimento.

Portanto, quanto aos lipídeos, é importante verificar o efeito tanto da utilização de inulina e XOS como substitutos de gordura, como também verificar o efeito da utilização desses prebióticos como ingrediente adicional ao doce de leite integral: 1) no perfil de textura; 2) nos parâmetros de cor; 3) e no perfil de ácidos graxos e indicadores de saúde: índices aterogênico (AI, BATISTA *et al.*, 2017), trombogênico (TI, BATISTA *et al.*, 2017), de ácidos graxos

desejados (DFA, BARLOWSKA *et al.*, 2018) e de ácidos graxos saturados hipercolesterolêmicos (HSFA, BARLOWSKA *et al.*, 2018).

A produção de doce de leite no Brasil é formada basicamente por diversos pequenos produtores, originando produtos com diferentes propriedades físico-químicas e sensoriais (GAZE *et al.*, 2015a), enquanto que na Argentina esse mesmo produto é fabricado em grandes indústrias em sistema de produção contínuo, resultando em produtos com um padrão de qualidade uniforme (OLIVEIRA *et al.*, 2017). Os regulamentos brasileiros a respeito das características físico-químicas e microbiológicas estão de acordo com os outros países do Mercosul, objetivando-se padronizar e controlar a produção do doce de leite (BRASIL, 1997). Entretanto, ainda há a necessidade de se padronizar os atributos sensoriais, como aparência, textura e sabor, os quais são bastante heterogêneos entre uma marca brasileira e outra, fato esse relacionado a não existência de um padrão estabelecido de tratamento térmico, bem como sua formulação. (GAZE *et al.*, 2015a,b)

Gaze e colaboradores (2015a) realizaram um estudo envolvendo sete diferentes marcas comerciais brasileiras, com a finalidade de descobrir quais são os atributos sensoriais relevantes no doce de leite que influenciam a aceitação dos consumidores, a fim de fornecer informações para as indústrias desse segmento. Os resultados desse estudo revelaram que o doce de leite ideal deve reunir valores elevados para os seguintes principais atributos: sabor e aroma de caramelo, sabor doce, cor, luminosidade; e valores baixos para: viscosidade, sabor enjoativo, sabor de gordura e percepção de cristais. Nesse sentido, a utilização de prebióticos na formulação do doce de leite pode contribuir positivamente para as suas propriedades físicas e sensoriais, além de adicionar funcionalidade ao produto.

2.2 ALIMENTOS FUNCIONAIS

Atualmente, grande parte da população tem buscado um alimento não somente pela função primordial no fornecimento de nutrientes essenciais, mas também pelo seu crescente papel em promover o bem-estar físico e mental (KAUR e SINGH, 2017). Os alimentos denominados funcionais, além de serem responsáveis pela nutrição básica, devem possuir efeitos benéficos à saúde, sejam eles metabólicos ou fisiológicos. O seu consumo deve ser comprovadamente seguro para o homem (ANIVSA, 2016), assim como não pode haver a necessidade de acompanhamento médico (ANVISA, 1999). Dentre eles existem: (1) os naturalmente funcionais, que são aqueles que possuem como constituinte da sua matriz

alimentar o ingrediente funcional (KAUR e SINGH, 2017); (2) os que possuem um aumento da concentração de um determinado ingrediente naturalmente presente, os fortificados; (3) aqueles que foram acrescidos de macro ou micronutriente não presente originalmente na sua matriz alimentar, os enriquecidos (KAUR e SINGH, 2017; ROBERFROID, 2000); (4) e os que obtiveram modificação na sua formulação através da substituição de um componente considerado prejudicial à saúde (gordura saturada, por exemplo) por um ingrediente funcional (fibras, por exemplo) (ROBERFROID, 2000). Vale destacar que nesta classe de alimento funcional o segmento de produtos lácteos tem sido alvo para desenvolvimento de diversos novos produtos, representando aproximadamente 43% do total de alimentos desenvolvidos dentre os modificados nutricionalmente, além de ser considerado pelos consumidores uma classe de alimentos com credibilidade para veicular ingredientes funcionais (BIMBO *et al.*, 2017).

O conceito de alimento funcional surgiu pela primeira vez na década de oitenta pelos japoneses, quando o ministro da saúde do Japão decidiu regular o sistema de produção de alimentos que promoviam benefícios à saúde. O objetivo dessa ação era diminuir os gastos de saúde, além de promover a saúde geral da população (KAUR e SINGH, 2017).

Recentemente, houve um aumento do interesse de consumidores por alimentos funcionais, segundo as indústrias alimentícias e pesquisas científicas. Esse fato está relacionado a diversos fatores, tais como, o conhecimento de que a alimentação equilibrada está relacionada à manutenção e preservação da saúde (KAUR e SINGH, 2017). Além disso, o risco de doenças crônicas, como obesidade e doenças cardiovasculares, tem levantado o interesse dos consumidores pelos constituintes dos alimentos, valorizando aqueles que possuem ingredientes funcionais na sua fórmula (KONAR *et al.*, 2016).

Nesse contexto, identificar as propriedades físico-químicas do doce de leite proposto nesse estudo pode facilitar o desenvolvimento de uma sobremesa láctea funcional, tornando possível o surgimento de um o doce de leite aliado às características benéficas de ingredientes funcionais com características prebióticas.

2.2.1 Fibras Prebióticas

O conceito de prebiótico foi introduzido na comunidade científica por Gibson e Roberfroid em 1995 em um artigo a respeito da modulação da microbiota intestinal através do consumo de prebiótico (CHARAMPOPOULOS, RASTAL, 2012). A microbiota intestinal possui um papel fundamental na manutenção da saúde das pessoas e aumentar a população de

bactérias do gênero *Bifidobacterium* e *Lactobacillus* promove efeitos benéficos à saúde (GIBSON e ROBERFROID, 1995). Essas bactérias utilizam principalmente oligossacarídeos como fonte energética e são consideradas, até o momento, como as principais em promover benefícios à saúde dos hospedeiros (ALSHERAJI, 2013).

Até recentemente, prebiótico era um ingrediente alimentar com propriedades funcionais, sendo classificado com um carboidrato não digerível pelo trato gastrointestinal de humanos, afetando positivamente a microbiota normal residente no cólon (KENEDY, 2015). Entretanto, devido aos avanços nos estudos sobre as microbiotas e os fatores que as influenciam, esse conceito foi atualizado para uma maior abrangência de componentes, sendo classificado como um substrato não digerível que serve como nutriente para as bactérias benéficas residentes no hospedeiro (GIBSON *et al.*, 2017).

Gibson e seus colaboradores, através da Associação Científica Internacional de Prebióticos e Probióticos, chegaram ao consenso de que prebiótico não se limita apenas à classe de carboidrato, incluindo adicionalmente polifenóis e lipídeos ácidos poli-insaturados ao conceito. Verificaram também que o efeito do prebiótico não se limita às bactérias intestinais, podendo influenciar qualquer microbiota extraintestinal residente no hospedeiro, como por exemplo a da pele; e ainda, que para se obter os efeitos positivos dos prebióticos, estes não precisam ser, necessariamente, administrados via oral, podendo ser aplicado diretamente no sítio que se deseja obter resultados benéficos.

É importante destacar que o cólon contém a microbiota mais diversa e abundante no corpo humano, sendo atualmente reconhecido pela comunidade científica que a sua composição e interação constituem um fator importante para a saúde. Está claro também que a composição das bactérias do cólon está relacionada aos alimentos ingeridos, podendo, portanto, ser alterada através de mudanças na alimentação. Isso tem tornado os prebióticos como um dos principais ingredientes alimentares de modulação positiva dessa microbiota, estimulando-as de forma seletiva o seu crescimento (KENEDY, 2015; COSTABILE *et al.*, 2016).

De acordo com Charampopoulos e Rastal (2012), os prebióticos têm sido associados a diversos benefícios à saúde, tais como diminuição da gravidade e incidência de gastroenterites, aumento da biodisponibilidade de minerais, principalmente do cálcio, bem como a regulação de distúrbios metabólicos, como por exemplo, a obesidade. Diversos estudos, clínicos e epidemiológicos, têm demonstrado relação entre alimentação e estado de saúde, tendo sido revelado que os alimentos funcionais possuem capacidades preventivas contra diversas

doenças, como diabetes, desordens cardiovasculares, diminuição do risco de câncer, além de melhorar a resposta imunológica (SAHIDI, 2004).

Os oligossacarídeos não digeríveis são os prebióticos mais estudados até o momento, além de serem os mais utilizados na elaboração de novos alimentos (CRUZ *et al.*, 2010). Dentre os principais prebióticos, destacam-se a galacto-oligossacarídeo (GOS), a fruto-oligossacarídeos (FOS), a lactulose e a inulina. Os produtos da fermentação desses carboidratos são ácidos graxos de cadeia curta, como o ácido acético, propiônico e butírico, os quais são usados como fonte energética pela microbiota presente no trato intestinal, o que estimula o seu desenvolvimento e crescimento. Esses carboidratos com características funcionais podem ser encontrados naturalmente em alimentos como a chicória, aspargo, alho e cebola, por exemplo (ALSHERAJI, 2013).

No entanto, para esses carboidratos não digeríveis serem considerados como prebióticos é necessário que cheguem viáveis para a fermentação pelas bactérias no intestino, devendo, portanto, resistir às ações enzimáticas e ao ambiente ácido do trato gastrointestinal (ALSHERAJI, 2013).

Devido à propriedade gelificante dos prebióticos, eles são comumente utilizados como substituto de lipídeos na formulação de alimentos com redução de gordura (RANALLI *et al.*, 2017b), sem alterar negativamente a sua característica sensorial (ALSHERAJI, 2013). O uso de oligossacarídeos em derivados lácteos ocasiona diversas mudanças do ponto de vista tecnológico e nas características sensoriais do alimento (BALTHAZAR *et al.*, 2016). O uso de ingrediente funcional como substituto de gordura reforça as ligações entre os componentes já existentes do produto, aumentando a cremosidade e influenciando positivamente a sua textura (CRUZ. *et al.*, 2010)

Cardoso e colaboradores (2018) desenvolveram um doce de leite de cabra com redução do teor de gordura, tendo sido empregado inulina (10%). Os resultados revelaram que o produto desnatado adicionado de inulina apresentou pH e acidez titulável semelhantes ao produto integral e maior rendimento. Entretanto, apresentou alterações nos parâmetros de cor (escurecimento e perda de cor amarela e vermelha) de forma semelhante ao produto desnatado e promoveu aumento nos parâmetros de textura (firmeza, gomosidade, elasticidade e adesividade).

Dessa forma, o desenvolvimento de um produto funcional é um processo complexo, devendo vir acompanhado de investigações que determinem o efeito e impacto da reformulação desses alimentos sobre o ponto de vista físico-químico e sensorial (CADENA *et al.*, 2014).

2.2.1.1 Inulina

A inulina é um oligossacarídeo (KENAN e RESCONI, 2014), polímero de frutose, amplamente distribuído na natureza na forma de estoque de carboidrato em vegetais, possuindo um grau de polimerização de 2 a 60 subunidades (AKALIN e ERIS, 2008). Esse oligossacarídeo é comumente encontrado em fontes naturais, como a chicória, alcachofra aspargos, batata yacon, alho, alho poró, cebola, alho e banana (SHOAIB *et al.*, 2016; BORNET, 2008, ROBERFROID, 2007)

Constitui um dos prebióticos mais estudados e utilizados em alimentos até o momento (CRUZ *et al.*, 2010; SAJILATA *et al.*, 2006; WALIGORA-DUPRIET, 2006), devido aos seus atributos tecnológicos e funcionais, pois além de ser uma fibra prebiótica, com baixo teor de açúcar e gordura (FRANCK, 2002), possui a capacidade de formar um gel, que altera a textura do produto (TUNGLAND e MEYER, 2002). A adição de inulina altera positivamente a textura de um produto, esse fato está relacionado à capacidade de a inulina reforçar a interação entre os componentes existentes e, quando utilizado como substituto da gordura, é capaz de conferir maciez e cremosidade ao produto (CRUZ *et al.*, 2010). As moléculas de inulina ficam dispersas nas micelas de caseína, assim como as de gordura, interferindo na matriz proteica e resultando na formação do gel (PASEEPHOL, 2008). Por esse motivo a inulina é amplamente utilizado pelas indústrias de alimentos como substituto de gordura. Ela ainda possui poder edulcorante de aproximadamente 10% da sacarose. (SHOAIB *et al.*, 2016) e valor calórico de 1,5 calorias/grama de açúcar, sendo, portanto, também utilizada como substituto do açúcar (NYMAM, 2002).

O iogurte é o derivado lácteo mais estudado quanto ao efeito da adição da inulina e demais prebióticos, tendo sido constatado resultados positivos. A inulina se mostrou eficaz como substituta da gordura na produção de iogurte, que apresentou valores de firmeza, coesividade, gomosidade e adesividade similar ao do produto integral (PIMENTEL *et al.*, 2012). Em um estudo realizado por Oliveira e colaboradores (2011), a inulina foi capaz de aumentar a firmeza em iogurtes elaborados com diferentes culturas de probióticos. Iogurtes suplementados com inulina obtiveram preferência em relação ao grupo controle (ALGGEYER, MILLER & LEE, 2010).

Desse modo, produtos lácteos funcionais têm sido desenvolvidos utilizando-se a inulina, pois, além de inserir o seu efeito prebiótico no alimento, é capaz de reduzir o teor de açúcar e de gordura na reformulação do produto original, sem alterar significativamente a aceitação

pelos consumidores (ARCIA, COSTELL e TÁRREGA, 2011). Portanto, faltam estudos que avaliem o efeito da adição da inulina em outros derivados lácteos, como no doce de leite.

2.2.1.2 Xylo-oligossacarídeo

A xilo-oligossacarídeo (XOS) é um prebiótico emergente, encontrado naturalmente em frutas, vegetais, mel e leite (SINGH *et al.*, 2015), sendo um pequeno carboidrato formado por 2 a 7 unidades de monômero de xylose, unidas por ligações beta (JAIN *et al.*, 2015).

A vantagem desse prebiótico em relação aos demais é que o seu custo de produção é mais barato (MILESSI *et al.*, 2015), além de possuir a capacidade de ser estável em altas temperaturas (100°C) e à ampla faixa de variação de pH (2-5 a 8) (JAIN *et al.*, 2015; JAGTAP *et al.*, 2017). Por esse motivo, ele se mostrou vantajoso em relação à inulina na sua utilização em alimentos processados, justamente devido a sua resistência à acidez e ao calor (SINGH *et al.*, 2015; VASQUEZ *et al.*, 2000).

XOS tem o potencial para ser utilizado como substituto de gordura, assim como a inulina, devido a sua capacidade em formar gel e de retenção de água em produtos lácteos (SERDAROGLU *et al.*, 2016). O uso de XOS na elaboração de requeijão cremoso aumentou a viscosidade e elasticidade, além de aumentar o gosto salgado e ácido (FERRÃO *et al.*, 2017). A adição de XOS também aumentou a viscosidade na proteína do soro do leite (*whey protein*) (SOUZA *et al.*, 2019).

Esse pequeno carboidrato possui grande potencial para ser incorporado a diversos tipos de alimentos, sendo necessário ainda investigar mais minuciosamente a sua aplicabilidade e os efeitos da sua adição (AACHARY e PRAPULLA, 2010).

3 ARTIGO 1

O artigo intitulado como “Doce de leite como alimento funcional: adição de prebióticos e probióticos” foi publicado na Revista Indústria de Laticínios, nº 141, p. 80 a 80 em novembro de 2019, disponível no *link*: http://www.revistalaticinios.com.br/download/edicoes_anteriores/IL-141-final-site.pdf , cujo conteúdo segue abaixo.

Doce de leite como alimento funcional: adição de prebióticos e probióticos

Ludmila S. Leddomado¹, Celso F. Balthazar², Jonas T. Guimarães³, Ramon Silva^{1,3}, Erick A. Esmerino⁴, Mônica Q. Freitas³, Tatiana C. Pimentel⁵, Adriano G. da Cruz^{1*}

¹Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro (IFRJ), Departamento de Alimentos

²Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Departamento de Ciência de Alimentos;

³Universidade Federal Fluminense (UFF), Departamento de Tecnologia de Alimentos;

⁴Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), Departamento de Tecnologia de Alimentos.

⁵Instituto Federal do Paraná, Campus Paranavaí, Paranavaí, Brasil

Introdução

Os consumidores estão cada vez mais preocupados com a dieta e esperam ingerir alimentos que, além de saborosos e atrativos, sejam seguros e saudáveis. Procuram ainda, melhoria do bem-estar e da saúde, o que pode ser conseguido por meio da ingestão de alimentos adicionados de componentes funcionais, como os probióticos e prebióticos (QIANG, YONGLIE & QIANBING, 2009), ou com teor reduzido de açúcar e/ou gordura (CARDOSO et al., 2018a,b). O produto pode ser considerado *light* se apresentar uma redução superior a 25% em algum de seus componentes, tais como: proteína, açúcares, gorduras, colesterol ou valor energético total, enquanto para ser considerado *diet* deverá apresentar um teor máximo de 0,5% do componente (BRASIL, 1998).

O doce de leite é um produto lácteo produzido a partir da desidratação do leite fluido sob condições de temperatura e pressão que variam de acordo com o fabricante, e pela adição de sacarose (GAZE et al., 2015). Esse produto apresenta alto conteúdo de açúcar e gordura e alto valor calórico (> 300 kcal/g). O desenvolvimento de doce de leite *light* ou *diet* é muito complexo, pois a sacarose e a gordura são responsáveis pelo sabor, doçura, textura, aroma e cor do produto (RIBEIRO et al., 2009). Prebióticos são substratos seletivamente utilizados por micro-organismos hospedeiros e que conferem benefício à saúde do consumidor (GIBSON et al., 2017). Alguns desses componentes, além do efeito prebiótico, podem ter atuação como substitutos de açúcar (RIBEIRO et al., 2009; CARDOSO et al., 2018a) ou gordura (CARDOSO et al., 2018b) em doce de leite.

Probióticos são micro-organismos vivos que conferem efeito benéfico ao indivíduo, quando administrados em quantidades adequadas (HILL et al., 2014). O doce de leite é uma matriz de difícil inclusão de culturas probióticas, principalmente por possuir alta pressão osmótica, alta concentração de açúcares, baixa atividade de água e por seu processo tecnológico prever uma etapa de concentração a altas temperaturas (SUÁREZ, 2013).

Redução de açúcar

A obesidade e o sobrepeso vêm aumentando no Brasil. O sobrepeso em adultos passou de 51,1% em 2010 para 54,1% em 2014, enquanto a obesidade

passou de 17,8% em 2010 para 20% em 2014. Estima-se que 7,3% das crianças menores de cinco anos estão acima do peso, sendo as meninas as mais afetadas, 7,7% (FAO, 2017). Com relação ao diabetes, o número de brasileiros diagnosticados com diabetes cresceu 61,8% nos últimos 10 anos, passando de 5,5% da população em 2006 para 8,9% em 2016 (AGÊNCIA BRASIL, 2017).

O consumo de alimentos com baixo teor de açúcar tem aumentado como consequência da maior consciência dos consumidores de que a ingestão de grandes quantidades dessas biomoléculas promove o risco de aparecimento de doenças, tais como doenças coronárias, hipertensão arterial, hipercolesterolemia, diabetes, obesidade e alguns tipos de câncer (AKESOWAN & CHOONHAHIRUN, 2013). Já os produtos com exclusão do açúcar são direcionados a indivíduos com restrições de ingestão destes componentes, principalmente os diabéticos (BRASIL, 1998).

A sacarose é o principal ingrediente utilizado na indústria de alimentos para promover o gosto doce, pode melhorar a consistência dos produtos e não apresenta gosto amargo ou residual. Os substitutos de sacarose mais utilizados são sacarina, acesulfame-K, aspartame e sucralose, todos edulcorantes artificiais (TANDEL, 2011). Nos últimos anos, houve aumento na demanda por produtos naturais e saudáveis, direcionando o desenvolvimento de produtos com edulcorantes naturais e/ou com ingredientes funcionais que tenham poder adoçante, tais como os prebióticos (MIELE et al., 2017).

Redução de gordura

O consumo de gorduras saturadas tem sido relacionado com aumento no risco de desenvolvimento de doenças cardiovasculares, diabetes tipo 2, câncer de próstata, entre outros. A sugestão é que o consumo de gordura saturada seja limitado a 10% da energia diária e que este componente seja substituído por gorduras não saturadas e carboidratos não refinados (SVENDSEN, ARNESEN & RETTERSTØL, 2017).

No entanto, a substituição da gordura por outros componentes em produtos alimentícios não é fácil. A gordura do leite tem importante papel no desenvolvimento de textura, sabor e cor de produtos lácteos sendo que a sua redução pode causar alguns defeitos como perda de sabor, de consistência ou falta de textura, levando as indústrias a optarem pela utilização de substitutos de gordura (MCCARTHY, LOPETCHARAT & DRAKE, 2017).

Prebióticos como substitutos de açúcar e gordura

Os prebióticos possuem baixo poder adoçante, sendo comumente utilizados em produtos *diet* em conjunto com outros edulcorantes (RIBEIRO et al., 2009) e, em produtos *light* substituindo parcialmente a sacarose (CARDOSO et al., 2018a). Em produtos *diet*, Litesse® e Lactitol® foram utilizados em conjunto com a sucralose em doces de leite tradicionais (RIBEIRO et al., 2009), e a polidextrose foi utilizada em conjunto com a sucralose em doces de leite com café (GUIMARÃES et al., 2012). No geral, a adição de Litesse® e Lactitol® resultou em produtos com composição química, características físico-químicas (pH e acidez titulável) e aceitação sensorial (aroma, sabor, doçura e textura) similares às do produto com sacarose. Além disso, melhorias na aceitação em alguns atributos (cor e impressão global) e na intenção de compra puderam ser observadas (RIBEIRO et al., 2009). A utilização de polidextrose promoveu aumento na umidade e no rendimento e redução nos teores de cinzas e sólidos solúveis (GUIMARÃES et al., 2012).

Em produtos *light*, a oligofrutose foi utilizada como substituto parcial da sacarose (50%) em doces de leite de búfala (CARDOSO et al., 2018a). No geral, a substituição resultou em produtos com composição química e características físico-químicas (pH e acidez titulável) semelhantes ao do produto com sacarose, além de maior rendimento (CARDOSO et al., 2018a). No entanto, alterações nos parâmetros de cor (menor luminosidade) e textura (maior firmeza, gomosidade e adesividade) puderam ser observados (CARDOSO et al., 2018a).

Componentes prebióticos podem ser utilizados como substitutos de gordura em doces de leite. Como substituto parcial, foi encontrado um estudo empregando inulina (10%) em doce de leite de cabra (CARDOSO et al., 2018b). No geral, o produto desnatado adicionado de inulina apresentou características físico-químicas (pH e acidez titulável) semelhantes ao produto integral e maior rendimento (CARDOSO et al., 2018b). No entanto, apresentou alterações nos parâmetros de cor (escurecimento e perda de cor amarela e vermelha) de forma semelhante ao produto desnatado e promoveu aumento nos parâmetros de textura (firmeza, gomosidade, elasticidade e adesividade) (CARDOSO et al., 2018b).

Probióticos

Probióticos são micro-organismos vivos que conferem efeito benéfico ao

indivíduo, quando administrados em quantidades adequadas (HILL et al., 2014). O principal desafio no desenvolvimento de produtos probióticos é fazer com que o micro-organismo mantenha a sua viabilidade e funcionalidade durante o processamento e vida útil do produto e no organismo humano. Para exercer impacto benéfico à saúde do consumidor, as culturas probióticas devem estar vivas no produto durante todo o prazo de validade ($>10^6$ UFC/mL) (DONKOR et al., 2007).

Estudos acerca da adição de culturas probióticas a doce de leite ainda são escassos e indicam que são necessárias medidas de proteção às culturas probióticas, como a microencapsulação, para que contagens adequadas possam ser observadas durante o processamento e vida útil do produto (SUÁREZ, 2013, SIMEONI, 2015). Suárez (2013) relatou que a adição de culturas probióticas (*L. casei* TY947, *L. reuteri* e *Pediococcus acidilactici* ITV26) a doces de leite de cabra após a etapa de concentração (temperaturas de 30 a 70 °C) resultou em contagens iniciais adequadas ($> 10^8$ ufc/g), não alteração da composição química ou características físico-químicas, e melhoria da aceitação sensorial (cor, aroma e sabor) dos produtos. No entanto, contagens suficientes ($> 10^6$ ufc/g) das culturas probióticas foram observadas somente até 7 dias de armazenamento a 25 °C e a adição dos probióticos resultou em produtos mais moles do que os convencionais. Simeoni (2015) adicionou a cultura probiótica *Enterococcus faecium* (na forma livre ou encapsulada em alginato de sódio com sobrecamada de concentrado proteico de soro de leite) a doce de leite *light* com inulina como substituto de gordura. O autor observou que a cultura probiótica só era resistente ao tratamento térmico (70 °C/30 min) e ao armazenamento ($> 10^7$ UFC/g, 90 dias a 4 °C) quando estava na forma microencapsulada. A adição da cultura probiótica não alterou o rendimento, composição química (exceto umidade), coesividade e gomosidade, mas resultou em produtos menos duros e amarelos.

Conclusão

O doce de leite pode ser transformado em alimento funcional pela adição de culturas probióticas e/ou componentes prebióticos. Estudos envolvendo o doce de leite funcional ainda são escassos e necessitando ser realizados pela indústria de produtos lácteos.

Referências

AGÊNCIA BRASIL. **Pesquisa revela que diabetes no Brasil cresceu 61,8% em dez anos.** 2017. Disponível em: <http://agenciabrasil.ebc.com.br/geral/noticia/2017-04/pesquisa-revela-que-diabetes-no-brasil-cresceu-618-em-dez-anos>. Acesso em: 14/08/2019.

AKESOWAN, A.; CHOONHAHIRUN, A. Quality assessment of reduced-calorie Thai mung bean marzipan made with erythritol-sucralose blend and soy milk. **Life Science Journal**, v.10, n.2, p.2129-2134, 2013.

BRASIL. Ministério da Saúde. PORTARIA Nº 29, DE 13 DE JANEIRO DE 1998. **Aprova o Regulamento técnico referente a alimentos para fins Especiais.** Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Disponível em: http://portal.anvisa.gov.br/documents/10181/2718376/%281%29PRT_SVS_29_1998_COMP.pdf/feffa45e-7dea-4c6d-9cf3-ef92d014490d

CARDOSO, A. E. M., CARDOSO, L. M., VERRUCK, S. et al. Emprego de prebiótico em doce de leite bubalino visando à redução da sacarose. In: **Revista do Congresso Sul Brasileiro de Engenharia de Alimentos.** 2018a.

CARDOSO, A. E. M., CARDOSO, L. M., CANELLA, M. H. M et al. Propriedades de doce de leite de cabra (*Capra aegragus*) adicionado de prebiótico visando a substituição da gordura. In: VERRUCK S., PRUDENCIO E.S. **Inovação na tecnologia de derivados do leite de cabra.** Ponta Grossa (PR): Atena Editora, 2018b.

DONKOR, O.N; NILMINI, S.L.I; STOLIC, P.; VASILJEVIC, T. & SHAH, N.P. Survival and activity of selected probiotic organisms in set-type yoghurt during cold storage. **International Dairy Journal**, v. 17, n. 6, p. 657-665, 2007.

FAO. Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura. **Sobrepeso e obesidade aumentam no Brasil segundo relatório da FAO e OPAS.** 2017. Disponível em: <http://www.fao.org/americas/noticias/ver/pt/c/466066/>. Acesso em: 14/08/2019.

GAZE, L. V., OLIVEIRA B.R., FERRAO, L. L. et al. Preference mapping of dulce de leche commercialized in Brazilian markets. **Journal of Dairy Science**, v. 98, n. 3, p. 1443-1454, 2015.

GIBSON, Glenn R. et al. 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, n. 8, p. 491, 2017.

GUIMARÃES, Í. C. O., LEÃO, M. H. M. R., PIMENTA, C. J. et al. Development and description of light functional dulce de leche with coffee. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 36, n. 2, p. 195-203, 2012.

HILL, C., GUARNER, F., REID, G. et al. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. **Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology**, v. 11, n. 8, p. 506-514, 2014.

MCCARTHY, K. S., LOPETCHARAT, K., DRAKE, M. A. Milk fat threshold determination and the effect of milk fat content on consumer preference for fluid milk. **Journal of Dairy Science**, v. 100, n. 3, p. 1702-1711, 2017.

MIELE, N.A., CABISIDAN, E.K., PLAZA, A.G., MASI, P., CAVELLA, S., DI MONACO, R. Carbohydrate sweetener reduction in beverages through the use of high potency sweeteners: Trends and new perspectives from a sensory point of view. **Trend in Food Science & Technology**, v.64, p.87-93, 2017.

RIBEIRO, N. M. Q., COSTA, E. C. M., MORAIS, A. S. et al. Avaliação das Características Físico-Químicas e Sensoriais de Doce de Leite Diet Fabricado com Sucralose, Litesse® e Lactitol®. **Journal of Health Sciences**, v. 11, n. 1, p. 21-25, 2015.

SIMEONI, C. P. **Elaboração de doce de leite light contendo probióticos microencapsulados**. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Maria. 2015.

SUÁREZ, Z. D. P. **Efecto de bacterias ácido lácticas probióticas sobre la estabilidad y las propiedades sensoriales de un dulce de leche de cabra**. Dissertação (Mestre em Ciências Alimentária), Universidade Veracruzana, Veracruz. 2013.

SVENDSEN, K., ARNESEN, E., RETTERSTØL, K. Saturated fat—a never ending story?. **Food & Nutrition Research**, v. 61, n. 1, p. 1377572, 2017.

QIANG, X.; YONGLIE, C.; QIANBING, W. Health benefit application of functional oligosaccharides. **Carbohydrate polymers**, v.77, p.435-441, 2009.

TANDEL, K.R. Sugar substitutes: Health controversy over perceived benefits. **Journal of Pharmacology and Pharmacotherapeutics**, v.2, p.236-243, 2011.

4 ARTIGO 2

O artigo científico intitulado como “*Benefits of using of using inulin and xylooligosaccharide in Dulce de leche*” foi submetido à revista *Food Hydrocolloids* no mês de abril de 2020, cujo conteúdo segue abaixo.

The addition of inulin and xylooligosaccharide in dulce of leche

Ludmila S. Leddomado^a, Ramon Silva^{a,b}, Jonas T. Guimarães^b, Mônica Q. Freitas^b, Maria Carmela K.H. Duarte^b, Roberto P.C. Neto^c, Maria Inês B. Tavares^c, Tatiana C. Pimentel^d, Paulo Henrique F. Silva^e, Renata S. L. Raices^a, Marcia Cristina Silva^a, Adriano G.Cruz^{a*}, Erick A. Esmerino^c

^a Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro (IFRJ), Departamento de Alimentos, 20270-021, Rio de Janeiro, Brazil.

^b Universidade Federal Fluminense (UFF), Faculdade de Medicina Veterinária, 24230-340, Niterói, Rio de Janeiro, Brazil.

^c Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), Instituto de Macromoléculas Eloisa Mano (IMA), 21941-598 Rio de Janeiro, Brazil

^d Instituto Federal do Paraná (IFPR), Campus Paranavaí, 87703-536, Paraná, Brazil.

^e University Federal de Juiz de Fora Juiz de Fora (UFJF), Departamento de Nutrição. 36036-900, Juiz de Fora, Minas Gerais, Brazil.

Running title: Dulce leche Inul. Xilo.

* email: food@globo.com (A. G. Cruz)

Abstract

The addition of prebiotic ingredients (inulin or xylooligosaccharide, XOS, 2.5g/100g) on the quality parameters of *Dulce de Leche* (DL) was evaluated. Gross composition, hydroxymethylfurfural values, rheological tests (texture profile, TPA), color parameters, water mobility (TD-NMR), fatty acid profile, crystal size (optical microscopy and predictive modeling) were performed. DL samples exhibited an appropriate physicochemical composition and energy value ranging from 253.10 to 316.47 kcal/g. The addition of inulin improved the cohesiveness for full fat milk samples while XOS led to a firmer, adhesive, and gummy texture, regardless of the fat content of the products. Regardless of the prebiotic ingredient, lower HMF values and more intense optical parameters were observed, without negative impact on the fatty acid profile.. TD-NMR showed the inulin contributed to a decreased in T_1 when compared to XOS, resulting a more heterogeneous structure. Finally, the prebiotic addition was able to delay the crystal along the storage time. Therefore, the addition of inulin or XOS to *Dulce de Leche* formulations proved to be an interesting alternative, inducing positive structural changes and providing improved functionality.

Key-words: dulce of leche, inulin, xylooligosaccharide, processing

1. Introduction

Dulce de Leche is one of the main dairy products marketed in various countries such as Argentina, Brazil, Paraguay, Uruguay, and Chile, and is currently exported to other countries, such as the United States and Spain (Francisquini et al., 2016, Ranalli, Andrés & Califano, 2017a). It is defined as a product resulting from the cooking of milk and sucrose under normal or reduced pressure until reaching the desired concentration (Gaze et al., 2015a). *Dulce de Leche* is characterized by a homogeneous and creamy consistency, light brown color, typical flavor, and absence of noticeable crystals in the mouth (Silva et al., 2015). In addition, it has high nutritional value, once it is composed of carbohydrates (<70%), proteins (> 6%), lipids (> 6%) and minerals (> 2%) (Ranalli, Andrés & Califano, 2017b, Stephanie et al., 2019).

In the last decades, there is an increased demand for healthy and nutritionally modified foods, such as those with reduced fat content or with the addition of prebiotics (Bimbo et al., 2017). In addition, the fat reduction in *Dulce de Leche* can lead to changes in the physicochemical characteristics, texture parameters, and flavor profile (Ranalli et al., 2017a), thus new ingredients have been used as fat substitutes, such as prebiotic components (Ranalli et al., 2017b).

Prebiotics are non-viable food components that confer health benefits to the host and are associated with the modulation of the intestinal microbiota (Gibson et al., 2017). Prebiotics can improve functional and nutritional properties, besides a positive impact on the physicochemical and sensory characteristics of dairy products, such as intensification of aroma and flavor and improvements in texture (Heydari et al., 2018). Inulin-type fructans, galactooligosaccharides (GOS) and xylooligosaccharides (XOS) are the main prebiotics used for the food industry (Fonteles & Rodrigues, 2018; Farias,

Araújo, Neri-Neuma, & Pastore, 2020). The prebiotic can be obtained from plants or agro-industrial waste, such as inulin-type fructans (extracted from chicory roots) or XOS (produced from lignocellulosic materials) are preferred by consumers (Wilson & Whelan, 2017, Souza et al., 2019), with recognized benefits on the human health (Neri-Neuma & Pastore, 2020; Ahmed & Rashid, 2019).

Prebiotic components have been used in several dairy products, such as yogurts (Costa et al., 2019), cheese (Speranza et al., 2018), ice cream (Balthazar et al., 2017) and dairy beverages (Guimarães et al., 2018). To the best of our knowledge, there are no studies in which is evaluate the simultaneous fat reduction and addition of prebiotics to *Dulce de Leche*. Therefore, the aim of the present study was to evaluate the effect of the addition of prebiotic components (inulin or XOS) on the physicochemical characteristics, texture profile, and fatty acid profile of *Dulce de Leche* made with whole or skimmed milk.

2. Material and methods

2.1 Dulce de leche processing

Whole and skimmed UHT milk (Batavo®, Teutonia, Brazil), sugar (União®, Rio de Janeiro, Brazil), sodium bicarbonate (Synth®, Diadema, Brazil), inulin (SweetMix®, Sorocaba, Brazil), and xylooligosaccharide (XOS) (SweetMix®, Sorocaba, Brazil) were used in the experiments..

The *Dulce de leche* processing was performed as described by Silva et al. (2020) at Food Processing Laboratory in Federal Institute of Rio de Janeiro. The titratable acidity of milk was corrected for 13° Dornic through the addition of sodium bicarbonate. Then, the *Dulce de leche* was processed in a Thermomix® apparatus with a capacity of 1 kg of milk, equipped with a stirrer (3 rpm). For that, milk (1 kg), sucrose (0.120

kg), and the prebiotic components (0.025 kg) were placed in the jacketed pot. Then, the mixture was heated at 110 °C, with agitation until reaching the endpoint (approximately 71° Brix). The cooking time was 1h 35 min. The product was cooled (75-80 °C), packed in glass jars previously sterilized with UV light, and stored under refrigeration (5 ° C) until analysis (day 1).

Six *Dulce de leche* formulations were prepared, as follows: (W) *Dulce de leche* made with whole milk; (WI) whole milk + inulin; (WX) whole milk + XOS; (S) skimmed milk; (SI) skimmed milk + inulin; and (SX) skimmed milk + XOS. The amount of prebiotics (2.5g/100g) was based on the minimum value recommended per portion by the Brazilian legislation (ANVISA, 2019) and previous studies involving the consumption of prebiotic products (Finegold et al., 2014; Wilson & Whelan, 2017).

2.2 Gross composition, Optical parameters, HMF values and Rheological assays

Gross composition (moisture, protein, ash, lipids, and carbohydrates) was determined according to methodologies described by AOAC (2002). The energy value was calculated based on the Atwater conversion factors, which are 4 kcal/g for protein, 4 kcal/g for carbohydrate, and 9 kcal/g for lipids (Merril & Watt, 1973).

The color coordinates L*, a*, and b* were determined using the CIE scale, where L* represents the brightness, a* varies from green (-) to red (+) and b* from blue (-) to yellow (+), using the D65 illuminant and the 10° standard observer. The hue angle (°h) and Chroma (C*) was also determined (Equations 1 and 2). The measurements were performed using a portable colorimeter (CR-410, Konica Minolta Sensing, Inc., Tokyo, Japan).

$$h^{\circ} = \arctan(b^*/a^*) \quad (\text{Eq. 1})$$

$$C^* = (a^*)^2 + (b^*)^2 \quad (\text{Eq. 2})$$

The free hydroxymethylfurfural (HMF) levels were determined by spectrophotometric analysis in acidified medium, as reported by Neves, Silva & Oliveira (2016). For that, the samples were deproteinated with trichloroacetic acid, filtered, and thiobarbituric acid (chromogenic reagent) was added, followed by absorbance readings at 443 nm. The 5-hydroxymethylfurfural ($\mu\text{mol/kg}$) concentrations were calculated using an analytical curve constructed with different standard concentrations of 5-hydroxymethylfurfural *versus* absorbance (Neves et al., 2016).

The rheological analysis were covered by TPA profile (gumminess, hardness, adhesiveness, and cohesiveness) being performed using a TA-XT plus texture analyzer (Stable Micro Systems), with a P/36R cylindrical aluminum probe. The samples (20 mm length) were compressed to 80% of the original height using a compression speed of 1.0 mms^{-1} and 1N contact force.

2.3 Fatty acids profile

The fat extraction was performed as described by Florence et al. (2012). The fatty acid profile was determined by gas chromatography (Agilent Technologies® 5975C), according to Silveira et al. (2019) with adaptations. The gas flow rates were 1.4 mL/min, 30 mL/min, 30 mL/min, and 300 mL/min for the carrier gas (H_2), auxiliary gas (N_2), H_2 , and synthetic flame air, respectively. The sample split ratio was 1/80. The detector and injector temperatures were 235 °C. The column temperature was programmed at 65 °C for 4 min, followed by the first ramp of 16 °C/min until reaching 185 °C, thus remaining for 12 min. A second ramp was programmed from 20 °C/min

to 235 °C, remaining for 14 min. The peak areas were calculated using the Star software (Varian). The injection volumes were 2 uL. The identification of fatty acids was based on the comparison of retention times of standard methyl esters containing linoleic acid geometric isomers c9t11 and t10c12 (189-19 and O-5626, Sigma, USA), and on equivalent chain length (ECL). The atherogenic index (AI, Batista et al., 2017), thrombogenic index (TI, Batista, et al., 2017), desired fatty acids (DFA, Barlowska et al., 2018) and hypercholesterolemic saturated fatty acids (HSFA, Barlowska et al., 2018) were also calculated.

2.4 Time-Domain Nuclear Magnetic Resonance (TD-NMR)

The sequence of pulses SAFF was used in the analysis of the samples for rapid obtaining (single-shot) of the signs of longitudinal relaxation of ^1H (Cucinelli Neto et al., 2019). About 2 grams of sample were left to stand for 10 minutes at $T=20\text{-}25^\circ\text{C}$ in the equipment before each measurement for thermal stabilization

2.5 Predictive modelling for crystal size

The crystals size was determined according to Ares & Gimenez (2008), by capturing photographs of ten microscopic fields and measuring the diameter of ten crystals in each field. This was performed with ImageTool for Windows version 3.00 software, measuring 100 crystals in triplicate. Based on the average measurement of the size of four crystals for each formulation of *Dulce de leche*, diffuses were generated comparing the skimmed and full-fat formulations, accompanied by standard deviation during the storage time.

To evaluate the development of crystals over time, the reparametrized Gompertz model (Ares & Giménez, 2008) was applied to adjust the experimental data,

with the aid of the Solver supplement for Microsoft Excel., according to the equation 3.

$$f(t) = a - \left(\frac{a-f_0}{a}\right) \times e^{-\mu(t-\lambda)} \quad (\text{Eq. 3})$$

where f is the size of the crystals, a is the value of f when t tends to infinity (maximum crystal size), μ is the crystallization rate and λ is the induction time, associated with the lag phase.

2.6 Statistical analysis

The experiment was performed using a completely randomized design, with three repetitions, being the analyses performed in triplicate. Data were submitted to Analysis of Variance (ANOVA) and Tukey's test ($p < 0.05$) using the XLSTAT software 2019.1 for windows. The predictive model with obtained using the macro Solver in Microsoft Excel for Windows.

3. Results and discussion

3.1 Gross composition

Table 1 shows the results of the physicochemical characterization of *Dulce de leche* samples, which were (g/100 g): moisture (27.38-35.92), protein (6.37-7.06), lipids (0.65-6.41), ash (1.44-1.79), carbohydrates (54.43-59.10) and energy value of 253.10-316.47 kcal/g, corroborating previous studies (Gaze et al., 2015b, Francisquini et al., 2018). The fat reduction of *Dulce de leche* (formulation S) resulted in an increase in moisture and ash contents and a decrease in carbohydrate and fat levels, as well as a reduction in the energy value ($p < 0.05$, formulation W), probably due the different physicochemical composition of whole and skimmed milk (Pimentel, Garcia & Prudencio, 2012).

Concerning the *Dulce de leche* made with whole milk and the addition of XOS (formulation WX), no changes were observed in the physicochemical composition ($p > 0.05$). In contrast, the addition of inulin (formulation WI) led to an increase in moisture with a consequent decrease in carbohydrates and energy values ($p < 0.05$). Inulin and XOS are non-digestible oligosaccharides that have a high water absorption capacity (Pimentel et al., 2012). Probably, the prebiotic components absorbed water during the processing of whole *Dulce de leche*, while the addition of inulin contributed to the maintenance of higher moisture levels in the products, with a consequent decrease in the carbohydrate levels (Balthazar et al., 2017).

Dulce de leche manufactured with skimmed milk, the addition of prebiotic components (formulations SI and SX) led to a decrease in moisture and fat levels and an increase in carbohydrates and energy values ($p < 0.05$). Inulin and XOS are non-digestible oligosaccharides that contribute to the increase in total solids content due to the presence of mono and disaccharides, with a consequent decrease in moisture content and increase in carbohydrate levels (Costa et al., 2017). The use of prebiotics as fat substitutes has been associated with a reduction of fat content in the products (Menegas, Pimentel, Garcia & Prudencio, 2017).

Different effects of the prebiotic components were observed for the physicochemical characterization of whole or skimmed milk samples. In fat-free products, the water retention capacity of prebiotics, especially inulin, maintain the moisture levels. In contrast, in low-fat products, prebiotics has the ability to increase the total solids content, with a decrease in moisture, due to the interactions between the protein matrix and the *Dulce de leche* components (Pimentel et al., 2012). The use of skimmed milk in *Dulce de leche* formulations resulted in products with a fat content

87% lower when compared to the full-fat product, and the subsequent addition of inulin or XOS led to an additional 2.5% fat reduction.

Table 1. Chemical composition (g/100g) and caloric value (kcal/g) of the functional dulce de leche formulations^a

Parameter	Formulations ^b					
	W	W-I	W-X	S	S-I	S-X
Moisture	27.62 ± 0.22 ^d	29.96 ± 0.27 ^c	27.38 ± 0.52 ^d	35.92 ± 0.16 ^a	32.09 ± 0.23 ^b	31.51 ± 0.68 ^b
Ash	1.44 ± 0.03 ^b	1.50 ± 0.03 ^b	1.51 ± 0.06 ^b	1.79 ± 0.01 ^a	1.79 ± 0.01 ^a	1.77 ± 0.01 ^a
Proteins	6.37 ± 0.12 ^a	6.61 ± 0.19 ^a	6.65 ± 0.06 ^a	7.06 ± 0.17 ^a	6.87 ± 0.56 ^a	6.97 ± 0.08 ^a
Lipids	6.19 ± 0.08 ^a	6.30 ± 0.01 ^a	6.31 ± 0.07 ^a	0.79 ± 0.01 ^b	0.65 ± 0.01 ^c	0.65 ± 0.01 ^c
Carbohydrates	58.38 ± 0.21 ^a	55.63 ± 0.27 ^b	58.05 ± 0.62 ^a	54.43 ± 0.31 ^b	58.60 ± 0.32 ^a	59.10 ± 0.68 ^a
Caloric value	314.98 ± 1.05 ^a	305.63 ± 1.01 ^b	316.47 ± 1.93 ^a	253.10 ± 0.60 ^d	267.73 ± 1.01 ^c	270.13 ± 2.68 ^c

^aMeans ± standard deviation on the same line with different letters are significantly different ($p < 0.05$, $n = 9$).

^bFormulations: W (full-fat dulce de leche); W-I (full-fat dulce de leche + inulin); W-X (full-fat dulce de leche + XOS); S (skimmed dulce de leche); S-I (skimmed dulce de leche + inulin); S-X (skimmed dulce de leche + XOS);

3.2 Color measurements, HFM values

Table 2 shows the results of the color measurements of *Dulce de leche* formulations. The *Dulce de leche* samples exhibited a caramel brown color ($L^* = 44.02$ - 47.00 , $a^* = 12.62$ - 13.96 , and $b^* = 17.12$ - 19.43), due to the browning induced by the Maillard and caramelization reactions (Gaze et al., 2015b). The fat reduction (formulation S) resulted in a decrease in both brightness (L^*) and red color (a^*) of *Dulce de leche* ($p < 0.05$, formulation W). Low-fat products are generally darker, due to the lower brightness conferred by the presence of fat (Menegas et al., 2017).

The addition of inulin to *Dulce de leche* manufactured with whole milk (formulation WI) resulted in more yellowish products, as there was an increase in b^* and h^* parameters when compared to the product without the addition of prebiotics (formulation W, $p < 0.05$), while the addition of inulin to *Dulce de leche* made with skimmed milk (formulation SI) resulted in darker products (lower L^* and h^* , $p < 0.05$). The addition of XOS to the whole *Dulce de leche* (WX formulation) resulted in a more intense brown color (higher a^* , b^* , and C^* values) ($p < 0.05$), while the addition of

XOS to skimmed *Dulce de leche* (formulation SX) led to a more intense red color (higher a^* values) ($p < 0.05$). The presence of mono and disaccharides in inulin and XOS can favor the development of more intense coloring in *Dulce de leche* formulations (Penci & Marín, 2016). Therefore, the addition of the prebiotic components has changed the color parameters of the *Dulce de leche* formulations, leading to an intensification of color. Gaze et al. (2015a) reported that consumers have a preference for *Dulce de leche* with more intense coloring, thus suggesting a positive impact of the addition of prebiotic components on the color of those products.

Concerning the texture parameters, the *Dulce de leche* samples exhibited firmness values of 217.18-364.82 g sec, adhesiveness of 188.38-349.66 g sec, the cohesiveness of 0.79-0.80, and gumminess of 177.38-326.80 g sec (Table 2). The fat reduction (formulation S) led to an increase in firmness, adhesiveness, cohesiveness, and gumminess of *Dulce de leche* ($p < 0.05$, formulation W). Several authors have reported that fat reduction can contribute to the formation of a stronger protein network, once the protein matrix is more compact and has fewer spaces due to the absence of fat, resulting in products with a higher apparent viscosity and, consequently, firmer (Pimentel et al., 2012, Ferrão et al., 2018).

The addition of inulin to *Dulce de leche* made with whole milk (formulation WI) resulted in more cohesive products ($p < 0.05$). In the presence of fat and inulin, a greater number of intermolecular interactions can occur between the *Dulce de leche* components, leading to an increase in the cohesiveness of the products (Ferrão et al., 2018). In addition, the ability of inulin to trap water can lead to increased moisture (Table 1), which may have contributed to the higher viscosity, thus increasing cohesiveness (Francisquini et al., 2016). In contrast, the addition of inulin to *Dulce de*

leche made with skimmed milk (formulation SI) resulted in less firm, adhesive, cohesive, and gummy products ($p < 0.05$), making them more similar to the *Dulce de leche* made with whole milk (formulation W). Inulin molecules may have been dispersed among the ingredients, taking the place of fat globules, thus interfering with the texture, resulting in a softer product (Pimentel et al., 2012). Thus, the present study demonstrated the role of inulin as a fat substitute in *Dulce de leche*.

Concerning the addition of XOS to the *Dulce de leche* made with whole milk (formulation WX), a firmer, adhesive, and gummy texture was observed ($p < 0.05$), which was also observed for the *Dulce de leche* made with skimmed milk (formulation SX), which also presented a cohesive texture ($p < 0.05$). Therefore, regardless of the fat content of the products, the XOS improved texture parameters. The presence of XOS can lead to the formation of a stronger protein network, as this component can complex with protein aggregates through hydrogen bonds or increase the product's viscosity due to its water retention capacity (Souza et al., 2019). Higher gumminess, adhesiveness, and firmness are undesirable characteristics in *Dulce de leche* for cooking or confectionery purposes. In the case of direct consumption, the increase in texture parameters is well accepted by consumers (Silva et al., 2015).

The *Dulce de leche* formulations of the present study showed HMF levels ranging from 44.89 to 57.22 $\mu\text{mol kg}^{-1}$ (Table 2), indicating the formation of compounds related to milk heating, for all treatments. The *Dulce de leche* formulations made with skimmed milk had higher HMF levels (57.22 $\mu\text{mol/kg}$) when compared to *Dulce de leche* made with whole milk (51.81 $\mu\text{mol/kg}$, $p < 0.05$). The addition of prebiotic components (inulin or XOS) led to a decrease in HMF levels ($p < 0.05$), suggesting that the use of prebiotics can result in a lower HMF concentration in *Dulce*

de leche, regardless of the fat content of the products. One possible reason to this is the capacity of the inulin and XOS established chemical ligations with water, decreasing the possibility of the occurrence of Maillard reaction as the water is a solvent for this reaction.

Table 2. Physical and chemical characteristics of the functional dulce de leche formulations^a

Parameter	Formulations ^b					
	W	W-I	W-X	S	S-I	S-X
L*	46.46 ± 0.11 ^{ab}	47.00 ± 0.15 ^a	46.0 ± 0.27 ^{bc}	45.48 ± 0.89 ^c	44.02 ± 0.72 ^d	45.81 ± 0.29 ^{bc}
a*	13.46 ± 0.01 ^b	13.53 ± 0.10 ^b	13.96 ± 0.15 ^a	12.81 ± 0.24 ^d	12.62 ± 0.19 ^d	13.11 ± 0.18 ^c
b*	18.34 ± 0.23 ^b	19.30 ± 0.26 ^a	19.43 ± 0.31 ^a	17.96 ± 0.59 ^{bc}	17.12 ± 0.65 ^c	17.95 ± 0.75 ^{bc}
C*	22.85 ± 0.30 ^{bc}	23.56 ± 0.27 ^{ab}	23.93 ± 0.33 ^a	22.06 ± 0.62 ^{cd}	21.28 ± 0.64 ^d	22.24 ± 0.71 ^c
h*	53.50 ± 0.08 ^c	54.95 ± 0.18 ^a	54.29 ± 0.15 ^{abc}	54.48 ± 0.40 ^{ab}	53.59 ± 0.64 ^c	53.83 ± 0.79 ^{bc}
Firmness (g sec)	223.90 ± 6.38 ^d	217.18 ± 3.18 ^d	321.70 ± 10.17 ^b	321.48 ± 14.55 ^b	259.92 ± 8.00 ^c	364.82 ± 12.26 ^a
Adhesiveness (g sec)	188.38 ± 4.94 ^d	198.05 ± 5.69 ^{cd}	291.47 ± 5.06 ^b	309.22 ± 15.18 ^b	228.75 ± 14.13 ^c	349.66 ± 15.54 ^a
Cohesiveness	0.79 ± 0.01 ^d	0.84 ± 0.01 ^{bc}	0.83 ± 0.02 ^{cd}	0.87 ± 0.01 ^b	0.82 ± 0.02 ^c	0.90 ± 0.01 ^a
Gumminess (g sec)	177.38 ± 4.67 ^d	182.81 ± 5.65 ^d	265.94 ± 4.08 ^b	278.05 ± 12.72 ^b	212.48 ± 11.90 ^c	326.80 ± 12.79 ^a
HMF (µmol/kg)	51.81 ± 0.51 ^b	48.04 ± 0.70 ^c	45.40 ± 0.45 ^d	57.22 ± 0.58 ^a	55.71 ± 0.55 ^b	44.89 ± 0.90 ^d

^aMeans ± standard deviation on the same line with different letters are significantly different ($p < 0.05$, $n = 9$). L* ranging from 0 (black) to 100 (white), a* ranging from red (+a*) to green (-a*) and b* ranging from yellow (+b*) to blue (-b*).

^bFormulations: W (full-fat dulce de leche); W-I (full-fat dulce de leche + inulin); W-X (full-fat dulce de leche + XOS); S (skimmed dulce de leche); S-I (skimmed dulce de leche + inulin); S-X (skimmed dulce de leche + XOS).

Hydroxymethylfurfural (HMF), in the chemical form of 5-hydroxymethylfurfural, is one of the main intermediate products of the Maillard reaction and an indicator of the intensity of thermal processing, being undesirable in some dairy products (Francisquini et al., 2016) Therefore, the addition of prebiotics can reduce the formation of this by-product of the Maillard reaction, which can preserve the nutritional value of *Dulce de*

leche besides alleviate the with negative effects on consumers' health due to its indirect mutagenicity, neoplastic transformation, nephrotoxicity, and allergic reactions (Lee et al., 2019).

3.3 Fatty acids profile

Table 3. Fatty acid profile (g/100g of fat) of the functional dulce de leche formulations^a

* Means \pm standard deviation on the same line with different letters are significantly different ($p < 0.05$, $n = 9$). AI = $(C12:0 + 4C14:0 + C16:0)/[\Sigma MUFA + \Sigma PUFA(n-6) \text{ and } (n-3)]$; TI = $(C14:0 + C16:0 + C18:0)/[0.5$

Fatty acid profile	Formulations ^b					
	W	W-I	W-X	S	S-I	S-X
Butanoic (C4:0)	5.61 \pm 1.05 ^a	4.19 \pm 0.03 ^a	4.13 \pm 0.23 ^a	0.81 \pm 0.30 ^b	0.97 \pm 0.04 ^b	0.99 \pm 0.25 ^b
Hexanoic (C6:0)	4.80 \pm 0.73 ^a	3.84 \pm 0.58 ^a	4.09 \pm 0.20 ^a	0.73 \pm 0.42 ^b	0.86 \pm 0.08 ^b	0.99 \pm 0.27 ^b
Octanoic (C8:0)	1.99 \pm 0.11 ^a	1.56 \pm 0.21 ^a	1.75 \pm 0.06 ^a	0.36 \pm 0.19 ^b	0.48 \pm 0.13 ^b	0.49 \pm 0.04 ^b
Decanic (C10:0)	5.70 \pm 0.74 ^a	4.25 \pm 0.35 ^a	5.16 \pm 0.07 ^a	1.26 \pm 0.33 ^b	1.26 \pm 0.27 ^b	1.56 \pm 0.28 ^b
Dodecanoic(C12:0)	4.05 \pm 0.24 ^a	2.70 \pm 0.13 ^b	3.06 \pm 0.50 ^{ab}	0.92 \pm 0.25 ^c	0.78 \pm 0.05 ^c	1.03 \pm 0.14 ^c
Myristic (C14:0)	12.49 \pm 1.21 ^a	10.52 \pm 0.20 ^a	12.19 \pm 0.21 ^a	3.58 \pm 0.44 ^b	3.50 \pm 0.37 ^b	3.83 \pm 0.50 ^b
Myristoleic (C14:1)	1.14 \pm 0.20 ^a	1.32 \pm 0.05 ^a	1.48 \pm 0.13 ^a	0.38 \pm 0.06 ^b	0.41 \pm 0.03 ^b	0.31 \pm 0.02 ^b
Palmitic (C16:0)	32.97 \pm 3.89 ^a	24.71 \pm 0.83 ^b	28.63 \pm 0.53 ^{ab}	8.98 \pm 0.91 ^c	8.11 \pm 0.91 ^c	9.51 \pm 1.04 ^c
Palmitoleic (C16:1)	2.97 \pm 0.11 ^a	1.66 \pm 0.05 ^b	1.60 \pm 0.03 ^b	0.55 \pm 0.06 ^c	0.65 \pm 0.07 ^c	0.81 \pm 0.02 ^c
Stearic (C18:0)	9.51 \pm 0.87 ^a	6.89 \pm 0.59 ^b	7.81 \pm 0.31 ^{ab}	2.52 \pm 0.96 ^c	2.21 \pm 0.11 ^c	2.41 \pm 0.15 ^c
Oleic (C18:1)	28.04 \pm 0.37 ^a	26.41 \pm 0.72 ^a	28.43 \pm 0.07 ^a	7.17 \pm 0.24 ^b	8.36 \pm 0.73 ^b	8.36 \pm 1.35 ^b
Linoleic (C18:2)	1.46 \pm 0.01 ^a	1.69 \pm 0.01 ^a	1.77 \pm 0.21 ^a	0.34 \pm 0.04 ^b	0.52 \pm 0.05 ^b	0.46 \pm 0.01 ^b
AI	1.45 \pm 0.13 ^a	1.25 \pm 0.06 ^a	1.35 \pm 0.04 ^a	1.59 \pm 0.15 ^a	1.30 \pm 0.23 ^a	1.41 \pm 0.36 ^a
TI	1.83 \pm 0.19 ^a	1.51 \pm 0.10 ^a	1.63 \pm 0.02 ^a	1.97 \pm 0.25 ^a	1.57 \pm 0.25 ^a	1.71 \pm 0.41 ^a
DFA	69.69 \pm 1.30 ^a	62.68 \pm 0.86 ^b	67.75 \pm 0.61 ^{ab}	17.78 \pm 1.31 ^c	19.98 \pm 1.47 ^c	21.13 \pm 2.35 ^c
HSFA	49.50 \pm 5.34 ^a	37.93 \pm 0.88 ^a	43.88 \pm 1.24 ^a	13.48 \pm 1.61 ^c	12.38 \pm 1.34 ^c	14.37 \pm 1.68 ^c

$x \Sigma MUFA + 0.5 x \Sigma PUFA(n-6) + 3 x \Sigma PUFA(n-3) + (n-3)/(n-6)$]; DFA = MUFA + PUFA + C18:0; HSFA = C12:0 + C14:0 + C16:0

**Formulations: W (full-fat dulce de leche); W-I (full-fat dulce de leche + inulin); W-X (full-fat dulce de leche + XOS); S (skimmed dulce de leche); S-I (skimmed dulce de leche + inulin); S-X (skimmed dulce de leche + XOS).

The fatty acid profile of the *Dulce de leche* formulations is shown in Table 3. The *Dulce de leche* showed higher saturated fatty acids (SFA) levels, represented by palmitic (8.11-32.97g/100g), myristic (3.50-12.49 g/100g) and stearic acids (2.21-9.51 g/100g). The monounsaturated fatty acids (MUFA) levels ranged from 8.10 to 32.15 g/100g, with a higher concentration of oleic acid (7.17-28.43 g/100g). In addition, linoleic acid (W6) was identified as polyunsaturated fatty acid (PUFA), with concentrations ranging from 0.34 to 1.77g/100g. All *Dulce de leche* formulations exhibited low AI (1.25-1.59) and TI (1.51-1.97), as well as intermediate HSFA (12.38-49.50) and DFA (17.78-69.69) levels.

The reduction of fat content led to a decrease in all fatty acids of the *Dulce de leche* formulations, with a consequent decrease in the health indexes (DFA and HSFA) ($p < 0.05$). The addition of inulin to the *Dulce de leche* formulation made with whole milk (formulation WI) resulted in a decrease in saturated (dodecanoic, palmitic, and stearic acids) and monounsaturated fatty acids (palmitoleic acid), with a consequent decrease in DFA ($p < 0.05$). The addition of XOS to *Dulce de leche* formulation made with whole milk (formulation WX) resulted in a product with lower palmitoleic acid levels ($p < 0.05$), with no impact on the health indexes ($p > 0.05$). In contrast, the addition of inulin or XOS to the *Dulce de leche* made with skimmed milk (formulation SI) did not affect the fatty acid profile or health indexes ($p > 0.05$). The present results showed that the addition of prebiotics had no negative impact on the fatty acid profile and health indexes of *Dulce de leche* formulations.

3.4 Time-Domain Nuclear Magnetic Resonance (TD-NMR)

Figure 1 shows the spin-lattice signal decay and the longitudinal relaxation domains distribution curves of Dulce of leche added with inulin and

xylooligosaccharide. It can be observed the simultaneous removal of fat and the addition of inulin in dulce of leche samples generated a more homogeneous system, with narrower domains and lower decrease in the relaxation times, suggesting that the presence of inulin promotes a formation of systems more organized than XOS. The XOS had a significant effect in the molecular mobility of the samples causing a formation of the systems with a heterogenous organization.

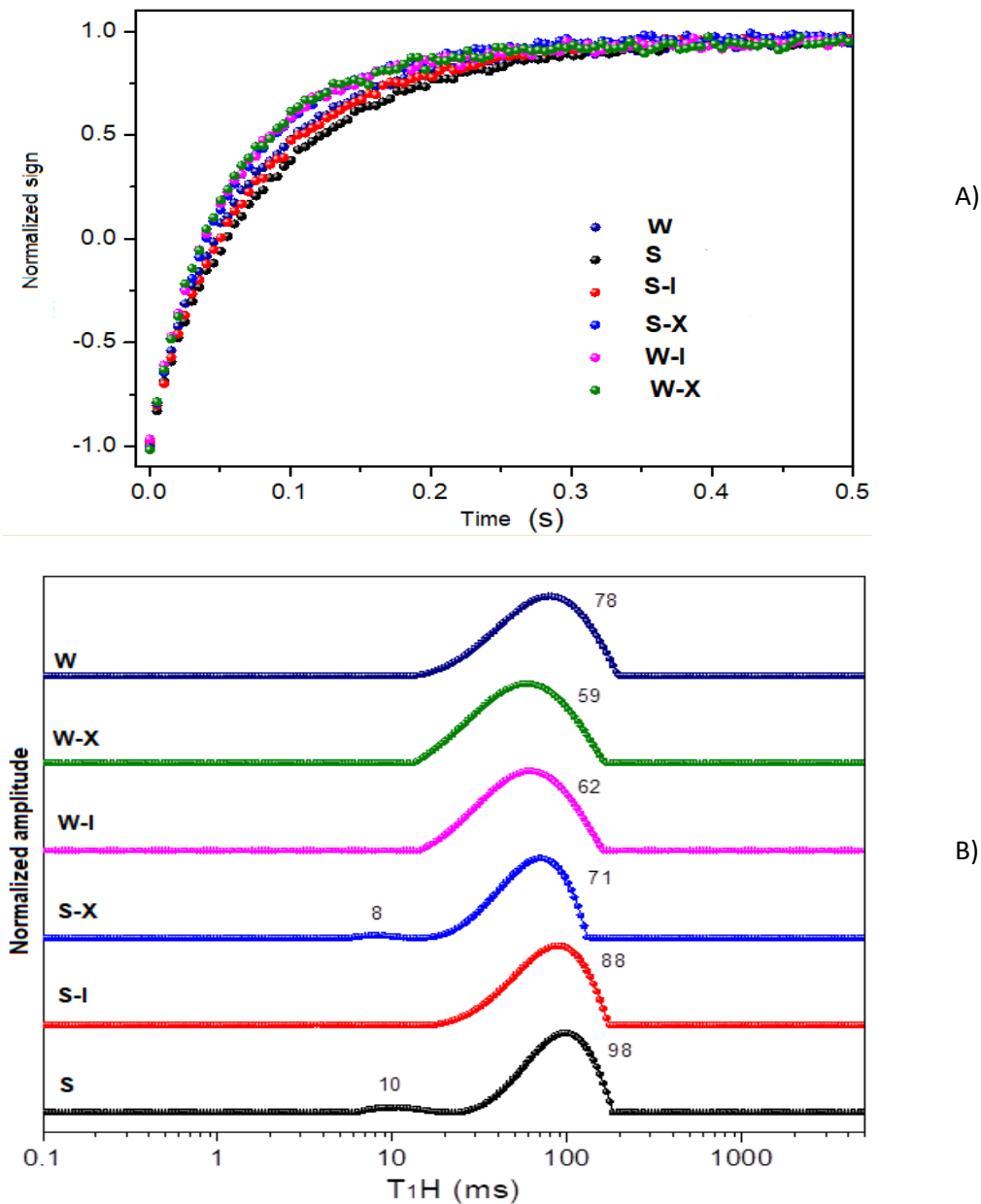


Figure 1. Longitudinal Relaxations domains (T_1 , A) and Distribution curves of transverse relaxation domains (T_2 , B) of TD-NMR of Dulce of leche added with inulin and xylooligosaccharide. W-I: full-fat

dulce de leche + inulin. W-X: full-fat dulce de leche + XOS. S: skimmed dulce de leche. S-I: skimmed dulce de leche + inulin. S-X: skimmed dulce de leche + XOS.

Those components when are added in dulce de leche promote a greater number of interactions with other compounds, causing changes in the molecular mobility of hydrogen populations, due to the changes in the collective movement of the protons in the system formed. It is known that the T_1 value for solid and semi-solid samples is indirectly proportional to the mobility of the system. Thus, TD-NMR can help in understanding the effect of addition of prebiotic ingredient in the dulce of leche samples being interesting for the evaluation of low fat products.

3.5 Crystal Size and Predictive model

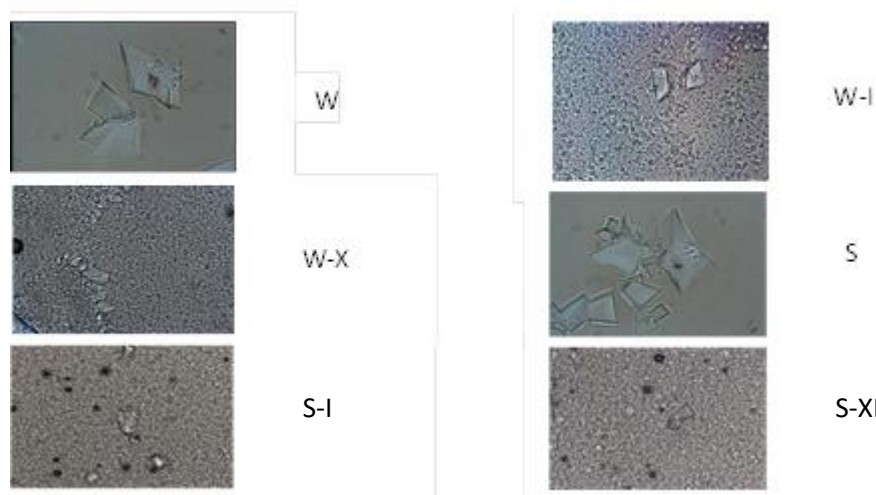


Figure 2. Typical lactose crystal at Dulce of Leche formulations at 60 days. W: full-fat dulce de leche. W-I: full-fat dulce de leche + inulin. W-X: full-fat dulce de leche + XOS. S: skimmed dulce de leche. S-I: skimmed dulce de leche + inulin. S-X: skimmed dulce de leche + XOS.

Figure 2 shows optical microscopy of the typical crystal of lactose in all DL formulations at 60 days of storage time. Sandiness is one of the most common defects observed in *Dulce de leche*, caused by the crystallization of lactose (Hough et al., 1990), causing rejection to the consumer. The formation of crystals is inevitable, even

if there is a reduction in the lactose content (Giménez et al., 2008). The formation of lactose crystals occurs due to supersaturation in *Dulce de leche*, because in this product the concentration of lactose is very high (10.4%, compared to about 4.7% in milk). Thus, the concentration of lactose in *Dulce de leche* exceeds the value of solubility in water, forming a super-saturated solution and causing the formation of crystals. Still, it is known that high concentrations of sugar decrease the solubility of lactose, further aggravating the problem, since the concentration of sugar in the product is extremely high (Ares et al., 2008).

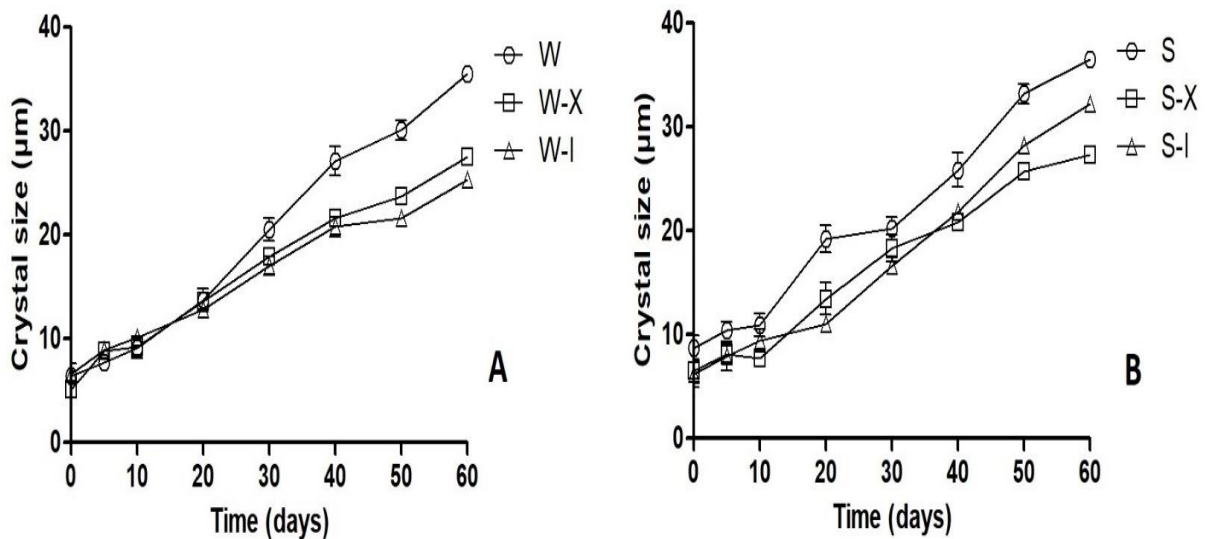


Figure 3. Crystal size as a function of storage time in dulce de leche formulations. Vertical bars correspond to 95% confidence intervals. A: full-fat formulations. B: skimmed formulations. W: full-fat dulce de leche. W-I: full-fat dulce de leche + inulin. W-X: full-fat dulce de leche + XOS. S: skimmed dulce de leche. S-I: skimmed dulce de leche + inulin. S-X: skimmed dulce de leche + XOS.

Figure 3 shows relation between the increase in the size of the crystals with the storage time of *Dulce de leche*. Until the first ten days of storage, there was little development of the crystals in all formulations. Among the full-fat formulations (figure 3A), the control (W) showed greater development of crystals, reaching an average of

36 μm at the end of the 60-day period. The formulations with XOS (WX) and inulin (WI) showed similar development (averages of 27 and 25 μm , respectively). In skimmed formulations (figure 3B), there was a behavior similar to integral formulations, with the control (S) presenting a larger size of crystals at the end of 60 days (mean of 37 μm). In this case, however, the formulation with inulin (SI) showed significantly larger crystals (32 μm) than the formulation with XOS (SX) (27 μm). Thus, all prebiotic formulations showed less development of crystals compared to controls, with an average reduction of 25% in crystal size after 60 days of storage in full-fat prebiotic DL formulations and 17% in skimmed prebiotic formulations.

Figure 4 shows mathematical parameters obtained when adjusting the Dulce de leche formulations data to the reparameterized Gompertz model (Eq. 3). The data adjusted relatively well to the model used, with low values of sum of squared residuals (SSR). The control formulations (W and S) showed the highest rates of crystal development (1.51 and 1.31 $\mu\text{m}/\text{day}$, respectively), indicating a final product of higher sensory quality in prebiotic formulations. The integral formulations showed considerably lower rates than the skimmed formulations, with W-I with less development (0.87 $\mu\text{m}/\text{day}$), justified by the rheological properties obtained in this study, where this formulation added with inulin showed higher viscosity.

In dulce de leche, the increase in viscosity does not prevent the development of crystals, but prevents them from developing to the point of being noticeable to the palate, as seen by the lower rate of development. An increase in viscosity was also observed in formulations added with XOS, justifying the lower rates compared to controls. However, in the S-I formulation the rate remained practically the same as in the control. As it was described in the rheological findings, the inulin added to the

skimmed DL formulation may have dispersed among the ingredients in substitution for the fat, causing a decrease in viscosity and thus a higher rate of development of lactose crystals.

The “a” values indicate the maximum crystal size that would be achieved, predicted by mathematical modeling. Considering the average size of the crystals measured in each formulation, the values were shown to be proportional to the determined development rates. The values of λ show the time required for a significant development in the size of the crystals to occur at the beginning of the storage period. In this case, there was no influence of the formulation.

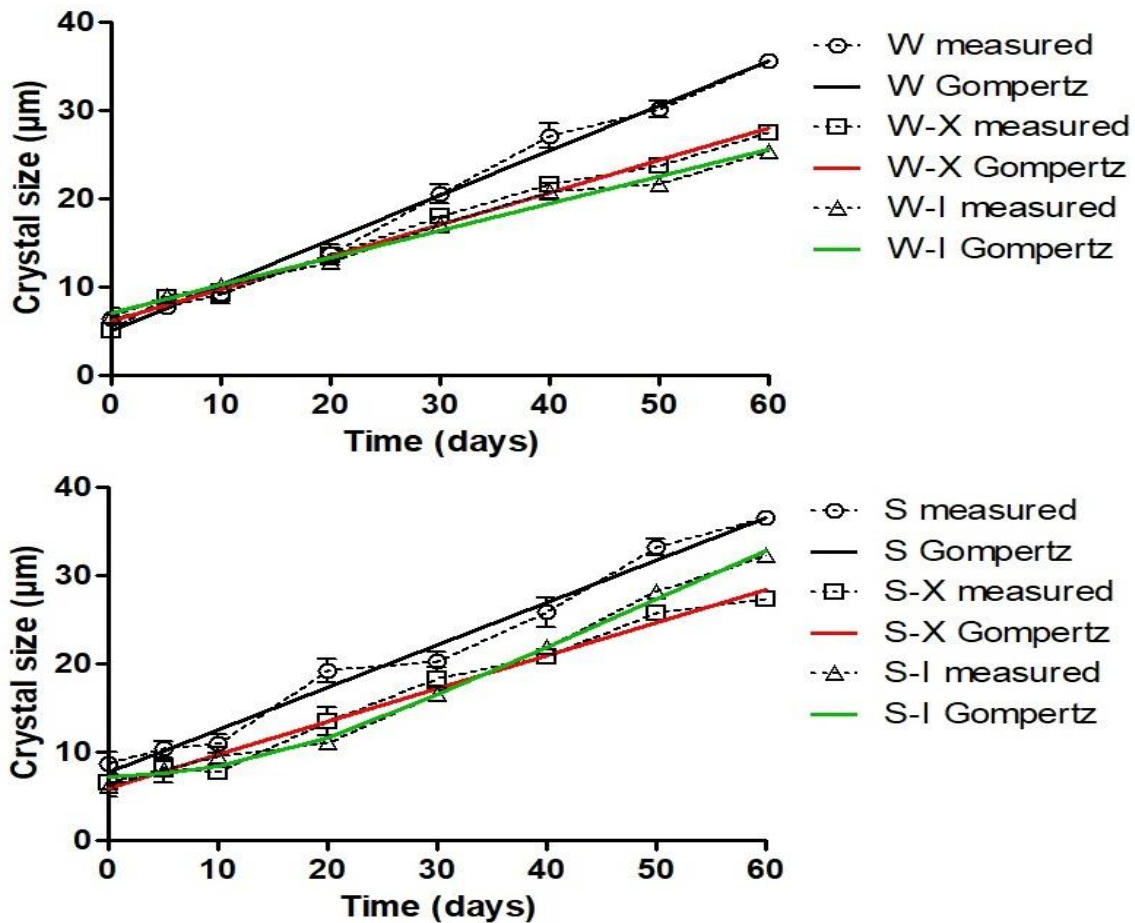


Figure 4. Crystal size as a function of time in dulce de leche formulations. Dotted lines and symbols display measured data and data adjusted by the Gompertz model are displayed by full curve. W: full-fat dulce de leche. W-I: full-fat dulce de leche + inulin. W-X: full-fat dulce de leche + XOS. S: skimmed dulce de leche. S-I: skimmed dulce de leche + inulin. S-X: skimmed dulce de leche + XOS.

Table 4. Kinetic parameters obtained by the reparameterized Gompertz model for lactose crystal size .when adjusting the dulce de leche formulations

Formulation	μ ($\mu\text{m}/\text{day}$)	a (μm)	λ (days)	SSR
W	1.51	40.98	8.96	2.78
W-X	1.02	31.18	1.23	4.68
W-I	0.87	28.30	2.96	3.43
S	1.31	48.91	7.62	4.86
S-X	1.15	30.17	7.33	4.14
S-I	1.30	48.73	11.87	2.62

* Results are expressed by Mean \pm standard deviation. μ : Maximum crystal growth rates. a : Maximum crystal size.

λ : induction time (lag). SSR: Sum of squared residuals. Formulations: W (full-fat dulce de leche); W-I (full-fat dulce de leche + inulin); W-X (full-fat dulce de leche + XOS); S (skimmed dulce de leche);

S-I (skimmed dulce de leche + inulin); S-X (skimmed dulce de leche + XOS)

4. Conclusion

Our findings showed that the use of inulin or XOS proved to be an interesting alternative to dulce of leche processing, inducing positive structural changes and providing functionality as well as produce a product with ingredients which recognized impact the consumer´s health in a positive manner. Indeed, useful improvements are obtained regards the rheological and color parameters besides similar fatty lipid profiles. The predictive models presented as innovative approach to evaluate the crystal size along the storage time, being observed the inclusion of these prebiotics can delay this parameter, which can constitute to an alternative to decrease the sandiness, which is a typical defect observed in dulce of leche.

Overall, our findings are of interest to the dairy industry, which aims to increase the functionality of dairy products, without negatively impacting the intrinsic parameters of the product.

References

- Ahmed, W. & Rashid, S. (2019) Functional and therapeutic potential of inulin comprehensive review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 59, 1-13.
- ANVISA. (2019). Alimentos com alegações de propriedades de propriedades funcionais e ou de saúde: lista de alegações de propriedade funcional aprovadas. *Atualizado em janeiro 2019*.
- AOAC International. (2002). Official Methods of Analysis. 17th ed. AOAC International, Gaithersburg, MD.
- Balthazar, C. F., Silva, H. A., Vieira, A. H., Neto, R. P. C., Cappato, L. P., Coimbra, P. T., ... & Freitas, M. Q. (2017). Assessing the effects of different prebiotic dietary oligosaccharides in sheep milk ice cream. *Food Research International*, 91, 38-46.
- Barłowska, J., Pastuszka, R., Rysiak, A., Król, J., Brodziak, A., Kędzierska-Matysek, M., ... & Litwińczuk, Z. (2018). Physicochemical and sensory properties of goat cheeses and their fatty acid profile in relation to the geographic region of production. *International Journal of Dairy Technology*, 71, 699-708.
- Batista, A.L.D., Silva, R., Cappato, L.P., Ferreira, M.V.S., Nascimento, K.O., Schmiele, M., Esmerino, E.A., Balthazar, C.F., Silva, H.L.A., Moraes, J., Pimentel, T.C., Freitas, M.Q., Raices, R.S.L., Silva, M.C. & Cruz, A.G. (2017). Developing a synbiotic fermented milk using probiotic bacteria and organic green banana flour. *Journal of Functional Foods*, 38, 242- 250.
- Bimbo, F., Bonanno, A., Nocella, G., Viscecchia, R., Nardone, G., De Devitiis, B., & Carlucci, D. (2017). Consumers' acceptance and preferences for nutrition-

- modified and functional dairy products: A systematic review. *Appetite*, *113*, 141-154.
- Costa, G. M., Paula, M. M., Barão, C. E., Klososki, S. J., Bonafé, E. G., Visentainer, J. V., ... & Pimentel, T. C. (2019). Yoghurt added with *Lactobacillus casei* and sweetened with natural sweeteners and/or prebiotics: Implications on quality parameters and probiotic survival. *International Dairy Journal*, *97*, 139-148.
- Costa, G. M., de Carvalho Silva, J. V., Mingotti, J. D., Barão, C. E., Klososki, S. J., & Pimentel, T. C. (2017). Effect of ascorbic acid or oligofructose supplementation on *L. paracasei* viability, physicochemical characteristics and acceptance of probiotic orange juice. *LWT-Food Science and Technology*, *75*, 195-201.
- Cucinelli Neto, R.P. Rodrigues, E.J.R., & Tavares, M.I.B.(2019). Single-shot measurement of solids and liquids T1 values by a small-angle flip-flop pulse sequence. *Magnetic Resonance in Chemistry*, *57*, 395-403.
- Farias, D.P., Araújo, F.A., Neri-Nuna, I.A. & Pastore, G.M. (2020). Prebiotics: Trends in food, health and technological applications. *Trends in Food Science and Technology*, *93*, 23-35.
- Ferrão, L. L., Ferreira, M. V. S., Cavalcanti, R. N., Carvalho, A. F. A., Pimentel, T. C., Silva, H. L., ... & Freitas, M. Q. (2018). The xylooligosaccharide addition and sodium reduction in requeijão cremoso processed cheese. *Food Research International*, *107*, 137-147.
- Finegold, S. M., Li, Z., Summanen, P. H., Downes, J., Thames, G., Corbett, K., ... & Heber, D. (2014). Xylooligosaccharide increases bifidobacteria but not lactobacilli in human gut microbiota. *Food & Function*, *5*, 436-445.

- Florence, A. C. R., Béal, C., Silva, R. C., Bogsan, C. S. B., Pilleggi, A. L. O. S., Gioielli, L. A., & Oliveira, M. N. (2012). Fatty acid profile, trans-octadecenoic, α -linolenic and conjugated linoleic acid contents differing in certified organic and conventional probiotic fermented milks. *Food Chemistry*, *135*, 2207-2214.
- Fonteles, T. V., & Rodrigues, S. (2018). Prebiotic in fruit juice: processing challenges, advances, and perspectives. *Current Opinion in Food Science*, *22*, 55-61.
- Silva, R., Rocha, R.S., Guimarães, J.T., Balthazar, C.F., Scudino, H., Ramos, G.L.A., Pimentel, T.C., Silva, M.C., Silva, P.H.F., Duarte, M.C.K.H., Freitas, M.Q., Cruz, A.G. & Esmerino, E.A. (2020). Dulce de leche submitted to ohmic heating treatment: Consumer sensory profile using preferred attribute elicitation (PAE) and temporal check-all-that-apply (TCATA). *Food Research International*, *134*, 109217
- Gaze, L. V., Oliveira, B. R., Ferrao, L. L., Granato, D., Cavalcanti, R. N., Júnior, C. C., ... & Freitas, M. Q. (2015). Preference mapping of dulce de leche commercialized in Brazilian markets. *Journal of Dairy Science*, *98*, 1443-1454.
- Gaze, L. V., Costa, M. P., Monteiro, M. L. G., Lavorato, J. A. A., Júnior, C. C., Raices, R. S. L., ... & Freitas, M. Q. (2015b). Dulce de Leche, a typical product of Latin America: Characterisation by physicochemical, optical and instrumental methods. *Food Chemistry*, *169*, 471-477.
- Gibson, G. R., Hutkins, R. W., Sanders, M. E., Prescott, S. L., Reimer, R. A., Salminen, S. J., ... & Verbeke, K. (2017). The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of prebiotics, *14*, 491-502.

- Guimarães, J. T., Silva, E. K., Costa, A. L. R., Cunha, R. L., Freitas, M. Q., Meireles, M. A. A., & Cruz, A. G. (2018). Manufacturing a prebiotic whey beverage exploring the influence of degree of inulin polymerization. *Food Hydrocolloids*, *77*, 787-795.
- Heydari, S., Amiri-Rigi, A., Ehsani, M. R., Mohammadifar, M. A., Khorshidian, N., Koushki, M. R., & Mortazavian, A. M. (2018). Rheological behaviour, sensory properties and syneresis of probiotic yoghurt supplemented with various prebiotics. *International Journal of Dairy Technology*, *71*, 175-184.
- Menegas, L. Z., Pimentel, T. C., Garcia, S., & Prudencio, S. H. (2017). Effect of adding inulin as a partial substitute for corn oil on the physicochemical and microbiological characteristics during processing of dry-fermented chicken sausage. *Journal of Food Processing and Preservation*, *41*, e13166.
- Neri-Numa, I. A. & Pastore, G.M. (2020). New insights into prebiotic properites in human health. *Food Research International*, *131*, 108973.
- Lee, C.H., Chen, K.-T., Lin, J.-A., Cheng, Y.-T., & Hsieh, C.-W. (2019). Recent advances in processing technology to reduce 5-hydroxymethylfurfural in foods. *Trends in Food Science and Technology*, *93*, 271-280.
- Merrill, A. L., & Watt, B. K. (1973). Energy value of foods: Basis and derivation (agriculture handbook no. 74). *Washington: US government printing office*.
- Neves, L. N., Silva, P. H. F. D., & de Oliveira, M. A. (2016). Spectrophotometric determination of wpni and hmf in uht milk through the principal components analysis. *Química Nova*, *39*, 741-747.
- Penci, M. C., & Marín, M. A. (2016). Dulce de Leche: Technology, Quality, and Consumer Aspects of the Traditional Milk Caramel of South America. In *Traditional Foods* (pp.

123-136). Springer, Boston, MA.

- Pimentel, T. C., Garcia, S., & Prudencio, S. H. (2012). Effect of long-chain inulin on the texture profile and survival of *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei* in set yoghurts during refrigerated storage. *International Journal of Dairy Technology*, *65*, 104-110.
- Ranalli, N., Andres, S. C., & Califano, A. N. (2017a). Dulce de leche-like product enriched with emulsified pecan oil: Assessment of physicochemical characteristics, quality attributes, and shelf-life. *European Journal of Lipid Science and Technology*, *119*, 1600377.
- Ranalli, N., Andrés, S. C., & Califano, A. N. (2017b). Rheological Behavior of Low-Fat Dulce De Leche with Added Xanthan Gum. *Journal of Food Processing and Preservation*, *41*, e13011.
- Silva, F. L., Ferreira, H. A. L., de Souza, A. B., de Freitas Almeida, D., Stephani, R., Pirozi, M. R., ... & Perrone, Í. T. (2015). Production of dulce de leche: the effect of starch addition. *LWT-Food Science and Technology*, *62*, 417-423.
- Silveira, M. R., Coutinho, N. M., Esmerino, E. A., Moraes, J., Fernandes, L. M., Pimentel, T. C., ... & Borges, F. O. (2019). Guava-flavored whey beverage processed by cold plasma technology: Bioactive compounds, fatty acid profile and volatile compounds. *Food Chemistry*, *279*, 120-127.
- Souza, F. P., Balthazar, C. F., Guimarães, J. T., Pimentel, T. C., Esmerino, E. A., Freitas, M. Q., ... & Cruz, A. G. (2019). The addition of xyloligosaccharide in strawberry-flavored whey beverage. *LWT-Food Science and Technology*, *109*, 118-122.
- Speranza, B., Campaniello, D., Monacis, N., Bevilacqua, A., Sinigaglia, M., & Corbo, M. R. (2018). Functional cream cheese supplemented with *Bifidobacterium animalis*

subsp. lactis DSM 10140 and Lactobacillus reuteri DSM 20016 and prebiotics. *Food Microbiology*, 72, 16-22.

Stephani, R., Francisquini, J., Perrone, Í. T., de Carvalho, A. F., & de Oliveira, L. F. C. (2019). Dulce de Leche—Chemistry and Processing Technology. In *Milk Production, Processing and Marketing*. IntechOpen.

Wilson, B., & Whelan, K. (2017). Prebiotic inulin-type fructans and galacto-oligosaccharides: definition, specificity, function, and application in gastrointestinal disorders. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 32, 64-68.

5 CONCLUSÃO

Os resultados encontrados demonstraram que o doce de leite pode ser transformado em um alimento potencialmente funcional pela adição de componentes prebióticos. O uso de inulina ou XOS se mostrou uma alternativa interessante ao processamento do doce de leite, induzindo mudanças estruturais positivas, além de possuir ingredientes que reconhecidamente impactam positivamente a saúde do consumidor. Foram observadas melhorias em relação aos parâmetros de textura, cor, HMF e formação de cristais de lactose, não causando impacto negativo no perfil de ácidos graxos. O modelo preditivo se mostrou como uma abordagem inovadora para avaliar o tamanho do cristal ao longo do tempo de armazenamento, sendo observado que a inclusão desses prebióticos atrasaram esse parâmetro, constituindo uma alternativa para diminuir a arenosidade, um defeito típico observado no doce de leite. Dessa forma, nossas descobertas são de interesse para a indústria de laticínios, visando aumentar a funcionalidade dos produtos lácteos, sem impactar negativamente os parâmetros intrínsecos do produto.

REFERÊNCIAS

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. (2002). Official Methods of Analysis of AOAC International (17th ed), Gaithersburg, MD.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. (2005). Official methods of analysis of AOAC International (18th ed.), Maryland.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. (2006). Official methods of analysis of AOAC International (18th ed.), Arlington, 1141p.

ANVISA (2019) Alimentos Com Alegações de Propriedades Funcionais e ou de Saúde Atualizado em 11/01/2019, disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/alimentos/alegacoes> , acessado em 01/03/2020.

Agência Minas Gerais (2016). Minas Gerais lidera a exportação de doce de leite. Matéria publicada em 08 set 2016, disponível em <http://www.agenciaminas.mg.gov.br/noticia/minas-gerais-lidera-exportacao-nacional-de-doce-de-leite> , acessado em 06 de set 2017.

BRASIL. Ministério da Saúde. Resolução - Res N° 18, de 30 de Abril De 1999. Regulamento Técnico que estabelece as diretrizes básicas para análise e comprovação de propriedades funcionais e ou de saúde alegadas em rotulagem de alimentos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, republicada em DOU n° 231, de 03 de dezembro de 1999.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento, Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária, Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal. Portaria n° 354, de 04 de setembro de 1997. Aprova o Regulamento técnico para fixação de identidade e qualidade de doce de leite. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, publicado em 08 de setembro de 1997.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento, Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Laboratório Nacional de Referência Animal. Instrução Normativa n° 68 de 12/12/2006. Métodos analíticos oficiais Físico- Químicos para Controle de Leite e Produtos Lácteos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, publicado em 14 de dezembro de 2006.

AACHARY, A. A.; PRAPULLA, S.G..Xylooligosaccharides (XOS) as an emerging prebiotic: microbial synthesis, utilization, structural characterization, bioactive properties, and applications. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 10, 2011.

ALLGEYER, L. C., MILLER, M. J., & LEE, S. Drivers of liking for yogurt drinks with prebiotics and probiotics. **Journal of Food Science**, v. 75, n, 4, p.212 a 219, 2010.

ARCIA, P. L., COSTELL, E., & TÁRREGA, A. Inulin blend as prebiotic and fat replacer in dairy desserts: Optimization by response surface methodology. **Journal of Dairy Science**, v. 94, n. 5,p. 2192 a 2200, 2011.

AIDOO, R.P, APPAH, E. DEWALLE, D.V.; AFOAKWA, E.O., DEWTTINCK, K. Functionality of inulin and polidextrose as sucrose replacer in sugar-free dark chocolate manufacture-effect of fat content and bulk mixtureconcentration on rheological, mechanical and melting properties. **Institute of Food Science and Technology**. Doi: 10.1111/ijfs.13281 , 2016

AKALIN, A.S., ERIS, D. Effects of inulin and oligofructose on the Rheological characteristics and Probiotic Culture survival in low-fat probiotic ice cream. **Journal Of Food Science**, v. 73, p. 4, 2008.

ALCAIRE, F.; ANTÚNEZA, L.; VIDALA, L.; ZORNA, S.; GIMÉNEZA, A.; CASTURAB, J. C; ARES, G. Comparison of static and dynamic sensory product characterizations based on check-all-that-apply questions with consumers. **Food Research International** , v. 97, p. 215 a 222, 2017.

ALLGEYER , L. C., MILLER, M. J, LEE. S.Y. Sensory and microbiological quality of yogurt drinks with prebiotics and probiotics. **American Dairy Science Association**, v. 93, p.4471 a 4479, 2010.

ALSHERADI, S. H. Prebiotics as functional foods: A review. **Journal of Funcional Foods**. Accepted 19 August, 2013.

ARES, G., GIMÉNEZ, A. Influence on accelerated lactose crystalization in dulce de leche. **International Journal of Dairy Technology**, v.61, n°3, 2008.

ARES, G.; JAEGER, S.R.; ANTÚNEZ, L.; VIDAL, L.; GIMÉNEZ, A.; COSTE, B.; PICALLO, A.; CASTURA, J. C. Comparison of TCATA and TDS for dynamic sensory characterization of food products. **Food Research International**, v. 78, p.148 a 158, 2015.

ARES, G.; ALCAIRE, F.; ANTÚNEZ, L.; VIDAL, L.; GIMÉNEZ, A.; CASTURA, J.C. Identification of drivers of (dis)liking based on dynamic sensory profiles: Comparison of Temporal Dominance of Sensations and Temporal Check-all-that-apply. **Food Research International**, v. 92, p.79 a 87, 2017.

BALTHAZAR, C.F.; SILVA, H.L.A.; VIEIRA, A.H.; NETO, R.P.C.; CAPPATO, L.P.; COIMBRA, P.T.; MORAES, J.; ANDRADE, M.M.; CALADO, V.M.A.; GRANATO, D.; FREITAS, M.Q.; TAVARES, M.I.B.; RAICES, R.S.L. Assessing the affects of diferente prebiotic dietyry oligosaccharides in sheep milk ice cream. **Food Research International**, v.91, p. 35 a 46 , 2016.

BARBOSA, V.C.; ROJAS, E.E.G.; COIMBRA, J.S.R; CIPRIANO, P. A.; OLIVEIRA, E.B.; ROMERO, J.T.. Thermophysical and rheological properties of Dulce de leche with and without coconut flasks as a function of temperature. **Food Science and Technology**, v.33, p. 93 a 98, 2013.

BARŁOWSKA, J., PASTUSZKA, R., RYSIAK, A., KRÓL, J., BRODZIAK, A., KĘDZIERSKA-MATYSEK, M., ... & LITWIŃCZUK, Z. Physicochemical and sensory properties of goat cheeses and their fatty acid profile in relation to the geographic region of production. **International Journal of Dairy Technology**, v.71, p. 699 a 708, 2018.

BATISTA, A.L.D., SILVA, R., CAPPATO, L.P., FERREIRA, M.V.S., NASCIMENTO, K.O., SCHMIELE, M., ESMERINO, E.A., BALTHAZARM C.F., SILVA, H.L.A., MORAES, J., PIMENTEL, T.C., FREITAS, M.Q., RAICES, R.S.L., SILVA, M.C. & CRUZ, A.G.. Developing a synbiotic fermented milk using probiotic bacteria and organic green banana flour. **Journal of Functional Foods**, v. 38, p. 242 a 250, 2017.

BAYARRI, S., CHULIA, I. e COSTELL, E. Comparing k-carrageenan and an inulin blend as fat replacers in carboxymethyl cellulose dairy desserts. Rheological and sensory aspects. **Food Hydrocoll.** v. 24, p. 578 a 587, 2010.

BIMBO, F.; BONANNO, A.; NOCELLA, G.; VISCECCHIA, R.; NARDONE, G.; DIVITIIS, B.; CARLUCCI, D... Consumer´s acceptance and preference for nutrition-modifed and functional dairy products. **Appetite**, v.113, p.141 a 154, 2017.

CADENA, R. S.; CAIMI, D.; JAUNARENA, I.; LORENZO, I.; VIDAL, L.; ARES, G.; DELIZA R.; GIMÉNEZ, A.Comparison of rapid sensory characterization methodologies for the development of functional yogurts. **Food Research International**, v.64, p.446 a 455, (2014).

CARDARELLI, H. R.; BURITI, F. C. A.; CASTRO, I. A.; SAAD, S. M. Inulin and oligofructose improve sensory quality and increase the probiotic viable count in potentially synbiotic petit-suisse cheese. **Food Science and Technology**, v. 41, n.6, p.1037 a1046, 2008.

CARDOSO, A. E. M., CARDOSO, L. M., CANELLA, M. H. M et al. Propriedades de doce de leite de cabra (*Capra aegragus*) adicionado de prebiótico visando a substituição da gordura. In:

VERRUCK S., PRUDENCIO E.S. **Inovação na tecnologia de derivados do leite de cabra.** Ponta Grossa (PR): Atena Editora, 2018.

CHARALAMPOPOULOS, D.; RASTALL, R.A. Prebiotics in Food. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 23, p.187a 191, 2012.

CHOI, Y.S., KIM, H.W., HWANG, K.E. , SONG D.H. , CHOI J.H., LEE, M.A., CHUNG, H.J., .KIM, C.J. Physicochemical properties and sensory characteristics of reduced-fat frankfurters with pork back fat replaced by dietary fiber extracted from makgeolli lees. **Meat Science**, v. 96, p. 892 a 900, 2014.

COSTA, G. M., PAULA, M. M., BARÃO, C. E., KLOSOSKI, S. J., BONAFÉ, E. G., VISENTAINER, J. V., ... & PIMENTEL, T. C.. Yoghurt added with *Lactobacillus casei* and sweetened with natural sweeteners and/or prebiotics: Implications on quality parameters and probiotic survival. **International Dairy Journal**, v. 97, p. 139 a 148, 2019.

COSTA, G. M., DE CARVALHO SILVA, J. V., MINGOTTI, J. D., BARÃO, C. E., KLOSOSKI, S. J., & PIMENTEL, T. C. Effect of ascorbic acid or oligofructose supplementation on *L. paracasei* viability, physicochemical characteristics and acceptance of probiotic orange juice. **LWT**, v. 75, p. 195 a 201, 2017 .

COSTABILE A, DEAVILLE E.R, MORALES A.M., GIBSON, G.R.. Prebiotic potential of a maize-based soluble fibre and impact of dose on the human gut microbiota. **Plos One**, v.11, n.1, p.1457, 2016.

CRUZ, A.G.; CADENA, R. S.; WALTER, E. H.M.; MORTAZAVIAN, A. M., GRANATO, D.; FARIA J.A.F.; BOLINI, H. M.A. Sensory Analysis: Relevance for Prebiotic, Probiotic, and Synbiotic Product Development. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v.9, 2010.

CRUZ,A.G; CAVALCANTI, R.N.; GUERREIRO, [L.M.R.](#); SANT'ANA, A.S.; NOGUEIRA, L.C.; OLIVEIRA,C.A.F.; DELIZA, R.; CUNHA, R.L.; FARIA, J.A.F.; BOLINI, H.M.A. Developing a prebiotic yogurt: Rheological, physico-chemical and microbiological aspects and adequacy of survival analysis methodology. **Journal of Food Engineering** ,v. 114, p.323 a 330, 2013.

DE ANDRADE, J. C., SOBRAL, L. A., ARES, G., & DELIZA, R. Understanding consumers' perception of lamb meat using free word association. **Meat Science**, v. 117, p. 68 a 74, 2016.

DELARUE, J.J.; LAWLOR, B.; ROGEAUX, M. Rapid Sensory Profiling Techniques and Related Methods, Applications in New Product Development and Consumer Research; **Woodhead Publishing**.,; ISBN 9781845694760 , 2015.

DRAKE MA. Sensory analysis of dairy foods. **Journal of Dairy Scienc**, v. 90, p. 4925-4937, 2008.

ESMERINO, E.A.; FILHO, E.R.T.; CARR, T.; FERRAZ, J.P.; SILVA, H.L.A.; PINTO, L.P.F.; FREITAS, M.Q.; CRUZ, A.G.; BOLINI, H.M.A Consumer-based product characterization using Pivot Profile, Projective Mapping and Check –all-that-apply (CATA): A comparative case with Greek yogurt samples. **Food Reserch International**, 2017

ELDESOUKY, A., PULIDO, A. F., & MESIAS, F. J. The role of packaging and presentation format in consumers' preferences for food: An application of projective techniques. **Journal of Sensory Studies**,v. 30,p. 360–369 . 2015.

FERRÃO, L.L; SILVA, E.B.; SILVA, R.; MOLLAKHALILI, N.; GRANATO, D.; FREITAS, M.Q.; SILVA, M.C.; RAICES, R.S.L.; PADILHA, M.C.; ZACARCHENCO, P.B.; BARBOSA, M.I.M.J., BARBOSA; MORTAZAVIAN, A.M.; CRUZ, A.G.. Strategies to develop healthier processed cheeses: Reduction of sodium and fat and use of prebiotics. **Food Reserch International**, v. 86, p. 93 a102, 2016.

FERRÃO, L. L.; FERREIRA, M. V. S.; CAVALCANTI , R. N.; CARVALHO, A. F. A.; PIMENTEL, T. C.; SILVA, R.; ESMERINO, E. A.; NETO, R. P.C.; TAVARES, M. I.B.; FREITAS, M. Q.; MENEZES, J. C.V.; CABRAL, L. M.; MORAES, J.; SILVA, M. C.; MATHIAS, S. P.; RAICES, R. S.L.; PASTORE, G. M.; CRUZ, A. G. The xylooligosaccharide addition and sodium reduction in requeijão cremoso processed cheese. **Food Research International**, v. 107, p. 137 a 147, 2017.

FERREIRA, J.M.M., AZEVEDO, B.M., LUCCAS, V., BOLINI, M. H.A. Sensory profile and consumer acceptability of prebiotic white chocolate with sucrose substitutes and the addition of goji berry (*Lycium barbarum*). **Journal of Food Science**, 2017.

FINEGOLD, S. M., LI, Z., SUMMANEN, P. H., DOWNES, J., THAMES, G., CORBETT, K., ... & HEBER, D. Xylooligosaccharide increases bifidobacteria but not lactobacilli in human gut microbiota. **Food & Function**, v. 5, p. 436 a 445, 2014.

FLORENCE, A. C. R., BÉAL, C., SILVA, R. C., BOGSAN, C. S. B., PILLEGGI, A. L. O. S., GIOIELLI, L. A., & OLIVEIRA, M. N. Fatty acid profile, trans-octadecenoic, α -linolenic and conjugated linoleic acid contents differing in certified organic and conventional probiotic fermented milks. **Food Chemistry**, v. 135, p. 2207 a 2214, 2012.

FONTELES, T. V., & RODRIGUES, S. Prebiotic in fruit juice: processing challenges, advances, and perspectives. **Current Opinion in Food Science**, v. 22, p. 55 a 61, 2018.

FRANCISQUINI, J.A.; OLIVEIRA, L.N.; PEREIRA, J.P.F.; STEPHANI, R. PERRONE, I.T.; SILVA, P.H..F.S. Avaliação da intensidade da reação de Maillard, de atributos físico-químicos e análise de textura em doce de Leite. **Revista Ceres**, v.63, p. 589 a 596, 2016.

FRANCISQUINI, J. D. A., NEVES, L. N., TORRES, J. K., CARVALHO, A. F., PERRONE, I. T., & DA SILVA, P. H. F. Physico-chemical and compositional analyses and 5-hydroxymethylfurfural concentration as indicators of thermal treatment intensity in experimental dulce de leche. **Journal of Dairy Research**, v. 85, p. 476 a 481, 2018.

FRANCK, A. Technological functionality of inulin and oligofructose. **British Journal of Nutrition**, v. 87, p. 287-291, 2002.

FONSECA, F. G. A.; ESMERINO, E. A.; FILHO, E. R. T.; FERRAZ, J. P.; CRUZ, A. G.; BOLINI, H. M. A. Novel and successful free comments method for sensory characterization of chocolate ice cream: A comparative study between pivot profile and comment analysis. **Journal of Dairy Science**, v.99, p. 3408 a 3420, 2016.

GAZE, L.V.; OLIVEIRA, B. R., FERRAO, L. L., GRANATO, D., CAVALCANTI, R. N., JÚNIOR, C. C., ... & FREITAS, M. Q. Preference mapping of Dulce de leche comercialized in Brazilian markets. **Journal of Dairy Science**, v. 98, nº 3, 2015a.

GAZE, L. V., COSTA, M. P., MONTEIRO, M. L. G., LAVORATO, J. A. A., JÚNIOR, C. C., RAICES, R. S. L., ... & FREITAS, M. Q.. Dulce de Leche, a typical product of Latin America: Characterisation by physicochemical, optical and instrumental methods. **Food Chemistry**, v. 169, p. 471 a 477, 2015b.

GIBOREAU, A., DACREMONT, C., GUERRAND, S., & DUBOIS, D. Décrire: Identifier ou catégoriser . In **D. Dubois (Ed.), Le sentir et le dire** , p. 211 a 232, 2009.

GIBSON, G. R, ROBERFROID, M. D (1995). Dietary modulation of the human colonic microbiota: Introducing de Concept of Prebiotic. **The Journal of Nutrition**, v.125, p. 1401 a 1412, 1995.

GIBSON, G. R.; HUTKINS, R.; SANDERS, M. E.; PRESCOT, S. L.; REIMER R. A.; SALMINEN, S. J.; SCOTT, K.; STANTON, C.; SWANSON, K. S.; CANI, P. D.; VERBEKE, K.; REID, G.. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of prebiotics. **Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology** ., 2017 [doi:10.1038/nrgastro.2017.75](https://doi.org/10.1038/nrgastro.2017.75)

GIMENEZ A.; ARES, G.; GÁMBARO, A. Consumers perception of sandiness in Dulce de leche. **Journal of Sensory Studies**, v. 23, p. 171 a 185, 2008.

GONZALEZ-T., L., BAYARRI, S., TAYLOR, A.J. e COSTELL, E. Flavour release and perception from model dairy custards. **Food Research International**, v.40, p. 520 a 528, 2007.

GONZALEZ-T., L., BAYARRI, S., TAYLOR, A.J. e COSTELL, E. Rheology, flavour release and perception of low-fat dairy desserts. **International Dairy Journal**. v. 18, p. 858 a 866, 2008.

GUIMARÃES, J. T., SILVA, E. K., COSTA, A. L. R., CUNHA, R. L., FREITAS, M. Q., MEIRELES, M. A. A., e CRUZ, A. G. Manufacturing a prebiotic whey beverage exploring the influence of degree of inulin polymerization. **Food Hydrocolloids**, v. 77, p. 787 a 95, 2018.

HEYDARI, S., AMIRI-RIGI, A., EHSANI, M. R., MOHAMMADIFAR, M. A., KHORSHIDIAN, N., KOUSHKI, M. R., & MORTAZAVIAN, A. M. Rheological behaviour, sensory properties and syneresis of probiotic yoghurt supplemented with various prebiotics. **International Journal of Dairy Technology**, v. 71, p. 175 a 184, 2018.

HOUGH, G.; MARTINEZ, E.; CONTARINI, A. Sensory and objective measurement of sandiness in dulce de leche, a typical Argentine dairy product. **Journal of Dairy Science**, v. 73, p. 604 611, 1990.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Métodos físico-químicos para análise de alimentos. Coordenadores: Odair Zenebon, NeusSadoccoPascuet e Paulo Tiglea. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008.

INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION. 13C:1987: Evaporated milk and sweetened condensed milk: determination of fat content (Röse Gottlieb reference method).Brussels, 7 f, 1987.

INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION: 20B:1993: Milk: determination of nitrogen content.brussels, 11 f., 1993.

INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION. 15B: 1988: Sweetened condensed milk: determinarion of the total solids content (reference method). Brussels, 2 f., 1988.

JAIN, I., KUMAR, V. & SATYANARAYANA, T. Xylooligosachacarides: an economical prebiotic from agroresidues and their health benefits. Indian **Journal of Experimental Biology**, v.53, p.131 a 142, 2015.

JAGTAP, S., DESHMUKH, R.A., MENON, S., & DAS, S. Xylooligosaccharides production by crude microbial enzymes from agricultural waste without prior treatment and their potential application as nutraceuticals. **Bioresource Technology**, v.245, Part A, p. 283 a 288, 2017.

KENEDY, J. F. Book review. Probiotics and Prebiotics in Food, Nutrition and Health, S. Otlés(Ed.). CRC Press/Taylor & Francis, Boca Raton, FL, USA (2014). **International Journal of Biological Macromolecules** , v.81, p.982, 2015.

KONAR, N; TOKER, O.S.; OBA, S.; SAGDIC, O. Improving functionality of chocolate: A review on probiotic, prebiotic, and/or symbiotic characteristics. **Trends in Food Science & Technology**, v.49, p. 35 a 44, 2016.

KAUR, N., SINGH, D. P. Deciphering the consumer behaviour facets of functional foods: A literature review. **Appetite**, v. 112, p. 167 a 187, 2017.

KEENAN , D.; RESCONI, V. C.; KERRY, J. P.; HAMILL, R. M. Modelling the influence of inulin as a fat substitute in comminuted meat products on their physico-chemical characteristics and eating quality using a mixture design approach. **Meat Science**, v.96, p. 1384 a 1394, 2014.

LAGUNA, L.; MARTÍN, C, P.; SALVADOR, A.; SANZ, T. Inulin and erythritol as sucrose replacers in short-dough cookies: sensory, fracture, and acoustic properties. **Journal of Food Science**, v.78, p. 5, 2013.

MARTINS, J.F.P.; LOPES, C.N. Doce de Leite: Aspectos da tecnologia da fabricação. Campinas: **Instituto de Tecnologia de Alimentos**, nº18, p.1 a 37, 1981.

MCCARTHY, K. S., LOPETCHARAT, K., DRAKE, M. A. Milk fat threshold determination and the effect of milk fat content on consumer preference for fluid milk. **Journal of Dairy Science**, v. 100, n. 3, p. 1702-1711, 2017

MENEGAS, L. Z., PIMENTEL, T. C., GARCIA, S., & PRUDENCIO, S. H. Effect of adding inulin as a partial substitute for corn oil on the physicochemical and microbiological characteristics during processing of dry-fermented chicken sausage. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 41, p. 13166, 2017.

MILESSI, T.S.S.; KOPPA W.; ROJASA M. J.; MANRICHA, A.; NETO, A. B.; TARDIOLIC, P.W.; GIORDANOC, R. C.; LAFUENTED, R. F.; GUIANE, J.M.; GIORDANOC, R. L.C. Immobilization and stabilization of an endoxylanase from *Bacillus subtilis* (XynA) for xylooligosaccharides (XOs) production. **Catalysis Today**, 2015
<http://dx.doi.org/10.1016/j.cattod.2015.05.032>

MIRABALLES, M.; HODOS, N. E GÁMBARO, A. Application of a Pivot Profile Variant Using CATA Questions in the Development of a Whey-Based Fermented Beverage **Beverages**, v. 4, p.11; 2018.

MORAIS, E.C., CRUZ, A.G., FARIA, J.A.F., BOLINI, H.M.A, Prebiotic gluten-free bread: sensory profiling and drivers of liking. **Food Science and Technology**, 2014 doi: 10.1016/j.lwt.2013.07.014.

MORAIS, E.C; MORAIS, A.R.; CRUZ , A.G., BOLINI, M. H. A. Development of chocolate dairy dessert with addition of prebiotics and replacement of sucrose with different high-intensity sweeteners. **Journal of Dairy Science**, v. 97, p. 1 a 10, 2014

MORAIS, E.C; LIMA, G.C.; MORAIS, A.R., BOLINI, H.M.A.B. Prebiotic and diet/light chocolate dairy dessert: Chemical composition, sensory profile and relationship with consumer expectation. **Food Science and Technology**, p.1 a 7, 2014.

MORAIS, E. C., ESMERINO, E. A., MONTEIRO, R. A., PINHEIRO, C. M., NUNES, C. A., CRUZ , A.G., BOLINI, M. H. A. Prebiotic low sugar chocolate dairy desserts: Physical and Optical characteristics and performance of PARAFAC and PCA Preference Map. **Journal of Food Science**, v.81,p.1, 2016.

MORRIS, C., MORRIS, G. The effect of inulin and fructo-oligosaccharide supplementation on the textural, rheological and sensory properties of bread and their role in weight management: A review. **Food Chemistry**, v.133, p. 237 a 248, 2012.

MOUSSAOUI, K. A., & VARELA, P. Exploring consumer product profiling techniques and their linkage to a quantitative descriptive analysis. **Food Quality and Preference**, v. 21(8), p. 1088 a 1099, 2010.

NEVES, L.N.O.; SILVA, P.H.F.; OLIVEIRA, M.A.L. Determinação Espectrofotométrica de WPNI e HMF em Leite UHT através da Análise por componentes principais. **Química Nova**, v. 39, nº6, p. 741-747, 2016.

NYMAM, M. Fermentation and bulking capacity of indigestible carbohydrates: the case of inulin and oligofructose. **British Journal of Nutrition**, v. 87, p. 163 a 168, 2002.

OLIVEIRA, A.C.P. (2016). Parâmetros industriais da produção de doce de leite. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 71, n. 3, p. 179-185, 2016.

OLIVEIRA, C.A., MASSINGUE , A.A., MOURA, A.P.R, FONTES, P. R., RAMOS, A.L.S., RAMOS, E. M. Restructured low-fat cooked ham containing liquid Whey fortified with lactulose. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 98, n. 2, p. 807a 816, 2017.

OLIVEIRA, R.P.S.; PEREGO, P.; OLIVEIRA, M. N.; CONVERTI, A. Effect of inulin as prebiotic and synbiotic interactions between probiotics to improve fermented milk firmness. **Journal of Food Engineering**, v. 107, p. 36 a 40, 2011.

PARENTE, MANZONI, M. E., A. V. e ARES, G. External preference mapping of commercial antiaging creams based on consumers' responses to a check-all-that-apply question. **Journal of Sensory Studies**, v.. 26, p. 158–166 , 2011.

PASEEPHOL T, SMALL D M AND SHERKAT F. Rheology and texture of set yogurt as affected by inulin addition. **Journal of Texture Studies**, v.. 39, p. 617 a 634, 2008.

PENCI, M. C., & MARÍN, M. A.. Dulce de Leche: Technology, Quality, and Consumer Aspects of the Traditional Milk Caramel of South America. **Traditional Foods**, p. 123-136, 2016.

PIMENTEL, T. C; GARCIA, S. & PRUDENCIO, S.H. Effect of long-chain inulin on the texture profile and survival of *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei* in set yoghurts during refrigerated storage. **International Journal of Dairy Technology**, v. 65, 2012 doi: 10.1111/j.1471-0307.2011.00739.x

PERRONE, I.T.; STEPHANI, R. NEVES, B.S. **Doce de Leite. Aspectos Tecnológicos**. Juiz de Fora, Do Autor, 2011.

PINTO, L. P. F., L. A. S, HUGO. | KURIYA , S. P., MAÇAIRA, P. M., OLIVEIRA, F. L. C., CRUZ, A. G., ESMERINO, E. A., FREITAS, M Q. Understanding perceptions and beliefs about different types of fermented milks through the application of projective techniques: A case study using Haire's shopping list and free word association. **Journal of Sensory Studies**, 2018 <https://doi.org/10.1111/joss.12326>

RANALLI, N., ANDRÉS, S. C., & CALIFANO, A. N. Physicochemical and rheological characterization of “Dulce de Leche”. **Journal of Texture Studies**, 2011 DOI: 10.1111/j.1745-4603.2011.00321.x,

RANALLI, N., ANDRES, S. C., & CALIFANO, A. N. Dulce de leche-like product enriched with emulsified pecan oil: Assessment of physicochemical characteristics, quality attributes, and shelf-life. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 119, p. 1600377, 2017a.

RANALLI, N., ANDRÉS, S. C., & CALIFANO, A. N.. Rheological Behavior of Low-Fat Dulce De Leche with Added Xanthan Gum. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 41, p. 13011, 2017b.

REZAEI, R.; KHOMEIRI M.; KASHAMINEJAD, M.; ALAMI, M.. Effect of guar gum and arabic gum on the physicochemical, sensory and flow behaviour characteristics of frozen yoghurt. **International Journal of Dairy Technology**, v. 64, p. 563 a 568, 2011.

REYES, M. M.; CASTURA, J. C.; HAYES, J. E. Characterizing dynamic sensory properties of nutritive and nonnutritive sweeteners with temporal check-all-that-apply. **Journal of sensory studies**. Accepted: 14 March 2017 DOI: 10.1111/joss.12270 , 2017.

RIBEIRO, N. M. Q.; COSTA, E.C.M; MORAIS, A.S. Avaliação das características físico-químicas e sensoriais do doce de leite diet fabricado com sucralose, Litesse e Lactitol. **Journal of Health Sciences**, v.11, n.1, p. 21 a 25, 2015.

ROBERFROID, M. B. Concepts and strategy of functional food science: the European perspective. **The American Journal of Clinical Nutrition**,v. 71, p. 1600 a 16004, 1990.

SANTOS , B.A., POLLONIO, M.A.R. , CRUZ , A.G. , MESSIAS, V.C, MONTEIRO, R.A. , OLIVEIRA, T.L.C, FARIA, J.A.F, FREITAS, M.Q , BOLINI, H.M.A. Ultra-flash profile and projective mapping for describing sensory of prebiotic mortadellas. **Food Research International**,v.54, p.1705 a 1711, 2013.

SAJILATA, M.G; SINGHAL, R.S; KULKARNI, P.R.. Resistant starch: a review. **Food Science, Food Safety**, v. 5, p.1–17. 2006.

SEBRAE. Serviço Brasileiro de Apoio às Pequenas e Micro empresas. Relatório de Inteligência Setorial. Exportação Brasileira de Lácteos (a), disponível em https://atendimento.sebrae-sc.com.br/wp-content/uploads/2016/02/RI_Leite_Novembro_Exportac%CC%A7o%CC%83es.pdf Acesso em 29/08/2017, Novembro (2015)

SEBRAE. Serviço Brasileiro de Apoio às Pequenas e Micro empresas. Relatório de Inteligência Setorial. O doce de leite e seu potencial de mercado (b), disponível em file:///C:/Users/Ludmila/Downloads/RI_Leite_2015_08_DoceDeLeite.pdf acesso em 29/08/2017, Agosto (2015)

SEDAROGLU, M., NACAĞ, B., KARABIYIKOĞLU, M., & KESER, G.. Effects of partial beef fat replacement with gelled emulsion on functional and quality properties of model system meat emulsions. **Korean Journal for Food Science of Animal Resources**, v. 36, p. 744-751, 2016.

SHAHIDI, F. Functional foods: Their role in health promotion and disease prevention. **Journal of Food Science**, v. 69, 146–149, 2004.

SHAHIDI, F. Nutraceuticals and functional foods: Whole versus processed foods. **Trends in Food Science & Technology**, v.20, p.376 a 387, 2009.

SHIBAO, J & BASTOS, D.H.M. Produtos da reação de Maillard em alimentos: implicações para a saúde. **Revista de Nutrição**, v. 24, p. 895-904, 2011.

SHOAIB, MUHAMMAD., SHEHZAD, AAMIR., OMAR, MUKAMA., RAKHA, ALLAH., RAZA, HUSNAIN., SHARIF, HAFIZ RIZWAN., SHAKEEL, AZAM., ANSARI, ANUM., & NIAZI, SOBIA., Inulin: properties, health benefits and food applications. **Carbohydrate Polymers** , 2016 <http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.04.020>

SILVA, F. L., FERREIRA, H. A. L., DE SOUZA, A. B., DE FREITAS ALMEIDA, D., STEPHANI, R., PIROZI, M. R., ... & PERRONE, Í. T.. Production of dulce de leche: the effect of starch addition. **Food Science and Technology**, v.62, p.417-423, 2015.

SILVEIRA, M. R., COUTINHO, N. M., ESMERINO, E. A., MORAES, J., FERNANDES, L. M., PIMENTEL, T. C., ... & BORGES, F. O. Guava-flavored whey beverage processed by cold plasma technology: Bioactive compounds, fatty acid profile and volatile compounds. **Food Chemistry**, v. 279, p. 120 a 127, 2019.

SINGH, R.,D.; BANERJEE, J.; ARORA, A. Prebiotic potential of oligosaccharides: A focus on xylan derived oligosaccharides. **Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre**, 2014 <http://dx.doi.org/10.1016/j.bcdf.2014.11.003>

SOUZA, F. P., BALTHAZAR, C. F., GUIMARÃES, J. T., PIMENTEL, T. C., ESMERINO, E. A., FREITAS, M. Q., ... & CRUZ, A. G. The addition of xyloligoosaccharide in strawberry-flavored whey beverage. **Food Science and Technology**, v. 109, p. 118 a 122, 2019.

SPERANZA, B., CAMPANIELLO, D., MONACIS, N., BEVILACQUA, A., SINIGAGLIA, M., & CORBO, M. R. Functional cream cheese supplemented with *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* DSM 10140 and *Lactobacillus reuteri* DSM 20016 and prebiotics. **Food Microbiology**, v. 72, p. 16 a 22, 2018.

STAFFOLO, M.D.; BERTOLA, N.; MARTINO, M. e BEVILACQUA, A. Influence of dietary fiber addition on sensory and rheological properties of yogurt. *International Dairy Journal*, v. 14, n. 3, p. 263 a 268, 2004.

STEPHANI, R.; FRANCISQUINI, J.; PERRONE, I.T.; CARVALHO, A.F.; OLIVEIRA, F.S.C. Dulce de Leche-Chemistry and Processing Technology. **Intechopen**. 2019 DOI: <http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.82677>

STONE, H.; BLEIBAUM, R.; THOMAS, H. Sensory Evaluation Practices. **Academic Press**, 4 ed., 2012

SVENDSEN, K., ARNESEN, E., RETTERSTOL, K. Saturated fat—a never ending story. **Food & Nutrition Research**, v. 61, n. 1, p. 1377572, 2017.

SYMONEAUX, R., M. V. GALMARINI, AND E. MEHINAGIC.. Comment analysis of consumer's likes and dislikes as an alternative tool to preference mapping. A case study on apples. **Food Quality. Preference**. v. 24, p.59–66, 2012.

TUNGLAND, B. C., & MEYER, D. Nondigestible Oligo- and Polysaccharides (Dietary Fiber): Their Physiology and Role in Human Health and Food. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 3, p. 90 a 109, 2002.

VARELA, P.; ARES, G. Novel Techniques in Sensory Characterization and Consumer Profiling; CRC Press: Boca Raton, FL, USA, ISBN 978-1-4665-6630-9. (2014)

VAZQUEZ, M. J., ALONSO, J. L., DOMINGUEZ, H., & PARAJO, J. C.. Xylooligosaccharides: Manufacture and application. **Trends in Food Science and Technology**, v. 11, p. 387-393, 2000

WALIGORA-DUPRIET A.J.; CAMPEOTTO. F.; NICOLIS, I., BONET, A.; SOULAINES, P.; DUPONT C.; BUTEL, M.J. Effect of oligofructose supplementation on gut microflora and well-being in young children attending a day-care center. **Int J Food Microbiol** , v.113, p.108–113, 2006.

WANG, Y. Prebiotics: present and future in food science and technology. **Food Research International**, v. 42, n. 1, p. 8 a 12, 2009.

WILSON, B., & WHELAN, K. Prebiotic inulin-type fructans and galacto-oligosaccharides: definition, specificity, function, and application in gastrointestinal disorders. **Journal of Gastroenterology and Hepatology**, v. 32, p. 64 a 68, 2017.

ZARPELON, J.; MOLOGNONI; VALESE, A.C. RIBEIRO,D. H.B. Validation of na automated method for the analysis of fat contente of Dulce de leche. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 48, p. 1 a7, 2016.

ANEXO – PATENTE

Foi peticionado ao Instituto Nacional da Propriedade Industrial um pedido de patente dos doces de leite adicionados de fibras prebióticas, com o número de processo: “BR 10 2019 0195576”, pelo Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro no dia 19/09/2019, conforme é possível observar nas figuras 1 e 2.

INPI INSTITUTO NACIONAL DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL

19/09/2019 870190093907 15:24
29409161900146837

Pedido nacional de Invenção, Modelo de Utilidade, Certificado de Adição de Invenção e entrada na fase nacional do PCT

Número do Processo: BR 10 2019 019557 6

Dados do Depositante (71)

Depositante 1 de 1

Nome ou Razão Social: INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DO RIO DE JANEIRO
Tipo de Pessoa: Pessoa Jurídica
CPF/CNPJ: 10952708000104
Nacionalidade: Brasileira
Qualificação Jurídica: Instituição de Ensino e Pesquisa
Endereço: Rua Pereira Almeida, 88 - Tijuca
Cidade: Rio de Janeiro
Estado: RJ
CEP: 20270021
País: Brasil
Telefone: 21 3293-6025
Fax:
E-mail: inovacao@ifdj.edu.br

PETICIONAMENTO ELETRÔNICO Esta solicitação foi enviada pelo sistema Peticionamento Eletrônico em 19/09/2019 às 15:24. Petição 870190093907

Petição 870190093907, de 19/09/2019, pág. 1/17

Figura 5. Primeira folha do pedido de Patente.

Dados do Pedido

Natureza Patente: 10 - Patente de Invenção (PI)

Título da Invenção ou Modelo de Utilidade (54): PROCESSAMENTO DE DOCE DE LEITE COM REDUÇÃO DE GORDURA E ADICIONADO DE GALACTOOLIGOSSACARÍDEO E XILOOLIGOSSACARÍDEO

Resumo: A presente invenção diz respeito ao desenvolvimento de doce de leite reduzido de gordura e adicionado de galactooligossacarídeo e xilooligossacarídeo, a qual visa agregar valor funcional ao produto, preservando assim, características físico-químicas e aceitação sensorial.

PETICIONAMENTO ELETRÔNICO Esta solicitação foi enviada pelo sistema Peticionamento Eletrônico em 19/09/2019 às 15:24. Petição 870190093907

Figura 6. Segunda folha do pedido de Patente.