

Universidade Federal de Juiz de Fora

Programa de Mestrado Profissional em Ciência e Tecnologia do Leite e Derivados

MARCELO CERQUEIRA DOS SANTOS

**CARACTERIZAÇÃO E AVALIAÇÃO MICROSCÓPICA DE LEITES  
CONDENSADOS PRODUZIDOS NO BRASIL**

Juiz de Fora

2012

**MARCELO CERQUEIRA DOS SANTOS**

**CARACTERIZAÇÃO E AVALIAÇÃO MICROSCÓPICA DE LEITES  
CONDENSADOS PRODUZIDOS NO BRASIL**

Dissertação apresentada ao Programa de Mestrado Profissional em Ciência e Tecnologia do Leite e Derivados, da Universidade Federal de Juiz de Fora - UFJF, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Paulo Henrique Fonseca da Silva

Juiz de Fora

2012

Santos, Marcelo Cerqueira dos

Caracterização e avaliação microscópica de leites condensados produzidos no Brasil / Marcelo Cerqueira dos Santos. – 2012.

73f. : il.

Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia do Leite e Derivados) -Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, 2012.

1. Leite condensado. 2. Lactose. 3. Cristalização. I. Título.

Aos meus pais, Silvio e Márcia,  
essências da minha formação,  
pelo eterno apoio incondicional...  
Esta conquista é de, e para vocês!!!

## **AGRADECIMENTOS**

À Deus, pelo dom da vida, onde tudo começa...e continua...

Ao Prof. Dr. Paulo Henrique Fonseca da Silva, pela confiança, oportunidade e imprescindíveis orientações aos novos conhecimentos adquiridos, mas, sobretudo, pela amizade e incontestáveis estímulos frente às dificuldades da etapa final, o meu mais sincero muito obrigado!

À Neogen do Brasil, por acreditar que nesta vitória, a conquista vai além do individual! Em especial ao Acauã, pelas companhias, discussões e ensaios desta!

Ao Prof. Dr. Ítalo Tuller Perrone, pelo convívio nas quadras, amizade e importantíssimas co-orientações e sugestões. Exemplo permanente de estímulo...

Ao meu Tio Lino José, um dos pioneiros desta conquista, presente mesmo que distante!

À Confraria Mineira de Cavaleiros de Chapéu, Viola, Cachaça, Queijo e Berrante, Aduino de Matos Lemos e Alfredo da Costa Bastos, pela eterna amizade, suporte nos bons e maus momentos, estímulos para novos desafios e conquistas, sem falar nas aventuras, cavalgadas, cantorias, prosas, quantas prosas vividas ... o mestrado já é uma conquista, falta agora, quem sabe, o Pico do Gavião...

À Profa. Eloá Correa de Souza, pelos primeiros passos na vida laticinista.

À Raquel Pigozzo Almeida, pelas infindáveis conversas, saudosismos e apoio bibliográfico constante e necessário.

Aos amigos do curso, Vanízia, Maynomi, Lia, Léo, Gisela, Paulo Henrique, Eduardo, Gilvania,...) amizades temperadas com tensões e alegrias, em especial para a Mônica e Jaqueline e Victor, companhias importantes frente às dificuldades e superações vividas. Agora é com vocês!!!!

Aos amigos do laboratório, Larissas, Monique, Jéssica, João Pablo, Felipe, D. Alcy, Rita, Irani e Augusto, pela amizade, cooperação, paciência e valiosa troca de experiências.

Aos amigos da Nutrição, Henrique, Júlia e Arícia, importantíssimos do início ao fim.

*“Não tenha medo de crescer lentamente. Tenha medo de ficar parado”*

*Provérbio Chinês*

## RESUMO

O leite condensado brasileiro apresentou um desempenho favorável entre os anos de 1996 e 2006, alcançando mais de 50% da pauta da exportação de produtos lácteos. Desta forma, torna-se importante aumentar o conhecimento a cerca dos atributos de qualidade do leite condensado nacional. O objetivo deste estudo foi caracterizar e avaliar oito marcas comerciais nacionais de leite condensado, com ênfase na avaliação microscópica relativa à presença de grandes cristais de lactose, defeito conhecido como arenosidade. Cada uma das marcas foi analisada para os atributos tamanho e número dos cristais de lactose, teores de umidade, lactose e sacarose, mediante a realização de três repetições autênticas. A marca oito apresentou o maior valor para massa de lactose cristalizável por unidade de produto ( $33,6\text{g}\cdot 395\text{g}^{-1}$ ). Houve diferença significativa entre as marcas de leite condensado para os atributos tamanho e número de cristais de lactose. Encontrou-se correlação significativa positiva ( $p < 0,021$ ) entre o teor de lactose e o número de cristais de lactose. A análise microscópica para leites condensados contribuiu para a avaliação da qualidade do produto e do processo de microcristalização e, mediante a facilidade de manuseio e relevância das informações obtidas, torna-se uma importante ferramenta disponível ao controle de qualidade das indústrias.

Palavras-chave: leite condensado, lactose, cristalização

## ABSTRACT

Brazilian condensed milk showed a favorable performance between the years 1996 and 2006, reaching over 50% exports of dairy products. Thus, it is important to raise awareness about the quality attributes of the national condensed milk. The objective of this study was to characterize and evaluate eight national commercial brands of condensed milk, with emphasis on microscopic evaluation of the presence of large lactose crystals, defect known as grittiness. Each brand was analyzed for the attributes size and number of lactose crystals, humidity content, lactose and sucrose, by performing three authentic replicates. The brand number eight showed the highest value for lactose mass cristalizabile by unit product ( $33,6\text{g}\cdot 395\text{g}^{-1}$ ). There were significant differences between brands of condensed milk for the attributes size and number of lactose crystals. It was found a significant positive correlation between lactose content and number of lactose crystals ( $p < 0,021$ ). Microscopic analysis for condensed milk contributed to evaluate the quality of the product and microcrystalization process and through ease of use and relevance of the obtained information, it becomes an important tool available to industry's quality control.

Keywords: condensed milk, lactose, crystallization

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1	Saldo da Balança Comercial brasileira de lácteos, a partir de 1996, Nomenclatura Comum do Mercosul (NCM) ou código 04. Valores em milhões US\$ FOB.....	16
FIGURA 2	Balança Comercial brasileira de outros leites, cremes de leite, concentrados e adocicados, código NCM 0402.99.00, entre 1996 a 2011.....	19
FIGURA 3	Fluxograma de elaboração de leite condensado adoçado.....	20
FIGURA 4	Velocidade relativa ( $K_r$ ) de várias reações e atividade de água ( $a_w$ ) de um leite (concentrado) desnatado (em pó).....	24
FIGURA 5	Estrutura química dos isômeros da lactose.....	29
FIGURA 6	A mutarrotação em soluções de lactose.....	30
FIGURA 7	Cristais de lactose formados por meio da nucleação primária..	36
FIGURA 8	Cristal “tomahawk” de $\alpha$ -lactose monohidratada.....	37
FIGURA 9	Modelo da planilha (simplificada), para registro das análises microscópicas para cada marca e repetição.....	46
FIGURA 10	Microcristais de lactose em duas amostras distintas de leite condensado (aumento de 400x).....	50
FIGURA 11	Regressão linear entre teor de sacarose e solubilidade relativa da lactose.....	59

## LISTA DE TABELAS

TABELA 1	Valores empregados para o pré-aquecimento de leites concentrados e condensados.....	21
TABELA 2	Mudanças que são produzidas no pré-aquecimento do leite.....	22
TABELA 3	Solubilidades da lactose em água.....	33
TABELA 4	Taxa de crescimento relativo das diferentes formas dos cristais de lactose, em direção aos vários eixos.....	37
TABELA 5	Valores médios para tamanho e número de cristais de lactose, teores de umidade, lactose e sacarose em oito marcas de leite condensado (n = 24).....	48
TABELA 6	Resultados para tamanho de cristais de lactose (n = 24)...	49
TABELA 7	Tamanho dos cristais de lactose por marca de leite condensado (n = 8).....	50
TABELA 8	Resultados para número de cristais de lactose (n = 24).....	51
TABELA 9	Número de cristais de lactose por marca de leite condensado (n = 8).....	52
TABELA 10	Resultados para o teor de umidade (n = 24).....	53
TABELA 11	Resultados para o teor de lactose (n = 24).....	54
TABELA 12	Resultados para o teor de sacarose (n = 24).....	56
TABELA 13	Teores calculados de sacarose e lactose, em solução, a 25°C, por marca (n = 8).....	58
TABELA 14	Solubilidade relativa da lactose por marca, a 25°C.....	60
TABELA 15	Solubilidade calculada da lactose no leite condensado.....	61
TABELA 16	Massa estimada de lactose cristalizável no leite condensado, por marca.....	62
TABELA 17	Massa de lactose cristalizável por unidade de leite condensado, por marca.....	62
TABELA 18	Consolidação da estatística descritiva para tamanho e número de cristais de lactose, teores de umidade, lactose e sacarose (n=24).....	63

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

$[\alpha_{\text{infinito}}]_D$	Rotação específica no equilíbrio
ALICEWEB	Sistema de Análise das Informações de Comércio Exterior
ANOVA	Análise de Variância
$a_w$	Atividade de água
c	Concentração de lactose anidra na solução
C1	Carbono 1
$\text{Ca}^{+2}$	Cálcio iônico
CEPQ	Centro de Pesquisa
CNT	Teoria clássica da nucleação
cristais.mL <sup>-1</sup>	Número de cristais por mililitro
$C_z$	Índice de açúcar
EPAMIG	Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais
FL	Fosfato de lactose
FOB	<i>Free on board</i> (livre ao embarque)
g	Grama
g.100g <sup>-1</sup>	Gramas por cem gramas
ILCT	Instituto de Laticínios Cândido Tostes
k1	Constante velocidade de mudança de alfa-lactose para beta-lactose
k2	Constante velocidade de mudança de beta-lactose para alfa-lactose
kg/1ton	Quilogramas por uma tonelada
$K_r$	Velocidade relativa
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
MDIC	Ministério do Desenvolvimento, Indústria e Comércio Exterior
MERCOSUL	Mercado Comum do Sul
MG	Minas Gerais
min	Minuto
MPa	MegaPascal
n°	Número
NCM	Nomeclatura Comum do Mercosul
°C	Graus Celsius
p. ex.	Por exemplo
pH	Potencial hidrogeniônico

RIISPOA	Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal
s	Segundo
S	Teor de sacarose no leite condensado
SH	Sistema harmonizado
SLNG	Sólidos lácteos não gordurosos
<i>T</i>	Temperatura (em graus Celsius)
W	Teor de água
$\alpha$	Alfa
$\beta$	Beta
$\beta$ -Lg	Beta-lactoglobulina
$\mu\text{m}$	Micrômetro

## SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	142
2	REFERENCIAL TEÓRICO .....	166
2.1	Balança comercial brasileira de lácteos .....	166
2.2	Balança comercial brasileira do leite condensado.....	177
2.3	Aspectos relativos às legislações.....	19
2.4	Aspectos tecnológicos das principais etapas de fabricação do leite condensado adoçado .....	200
2.4.1	Pré-aquecimento .....	211
2.4.2	Concentração do leite.....	23
2.4.3	Adição de açúcar.....	255
2.4.4	Microcristalização .....	28
2.4.4.1	Aspectos sobre o mecanismo da cristalização da lactose.....	288
3	MATERIAL E MÉTODOS .....	43
3.1	Delineamento Experimental .....	43
3.2	Microscopia .....	444
3.3	Análises físico-químicas .....	45
3.4	Estatística .....	45
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	47
4.1	Tamanho dos cristais de lactose .....	48
4.2	Número de cristais de lactose .....	51
4.3	Teor de umidade .....	53
4.4	Teores de lactose .....	54
4.5	Teores de sacarose.....	55
4.6	Análise de correlação .....	56
4.7	Avaliação dos atributos microscópicos.....	577
4.8	Lactose cristalizável no produto .....	599
5	CONCLUSÕES.....	655
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	666
	ANEXO I.....	733

## 1 INTRODUÇÃO

Tradicionalmente um importador de leite e derivados lácteos, o Brasil alcançou no ano de 2003 a situação oposta, iniciando de forma moderada a comercialização destes produtos no mercado externo, sinalizando previsões otimistas de um potencial exportador.

As origens que possibilitam compreender as mudanças ocorridas podem ser identificadas a partir da década de 90, tendo como ponto de partida a desregulamentação do setor, mediante a saída do governo do mecanismo de controle de preços em 1991, transferindo-o ao mercado. Este movimento desencadeou uma difícil e importante reestruturação da cadeia, até então despreparada para o novo ambiente de negociação. Isto resultou em números muito positivos frente à lentidão até então existente, como pode ser constatado, por exemplo, pelo progressivo aumento na produção de leite no âmbito nacional. Além disso, a concorrência frente aos produtos lácteos importados em decorrência da abertura de mercado, resultante da diminuição das alíquotas de importação recém implementadas à época, proporcionou o início do aperfeiçoamento do setor. Este movimento exigiu mais conhecimentos, investimentos, tecnologias, estrutura e eficiência dos diversos agentes que integram a cadeia, seja pela busca da inovação, do estudo do mercado, das ferramentas de *marketing*, seja por meio das fusões, aquisições e parcerias. Estas estratégias passaram a permear o ambiente laticinista, o qual se tornou cada vez mais competitivo tanto no setor produtivo quanto no industrial. Outros fatores internos contribuíram favoravelmente para este quadro. Podem ser citados como exemplos:

- o aumento crescente da produção de leite: em decorrência do início da profissionalização da cadeia, resultante de maiores investimentos, adoções de novas tecnologias e assessorias técnicas, os quais foram estimulados principalmente pela maior concorrência instaurada, obrigando a busca pela eficiência na gestão do empreendimento;
- o câmbio favorável: possibilitando o aumento das exportações;
- as normas sanitárias implementadas pelo Ministério da Agricultura: destaque para a implantação da Instrução Normativa 51, em 2002, cujo objetivo

principal é melhoria das condições de produção e beneficiamento da matéria-prima leite, visando a preservação da qualidade;

- a globalização da economia brasileira

Outro fator apontado que também contribuiu para esta evolução foi a implantação do Plano Real em 1994, objetivando não apenas o controle da expressiva taxa de inflação existente, assim como a sua redução. Mediante a aplicação de políticas monetárias restritivas, privatizações, desindexação da economia, equilíbrio fiscal, abertura da economia, entre outros, criou-se um novo ambiente econômico que propiciou um maior estímulo ao consumo de alimentos. A elevação na renda real das famílias possibilitou um aumento na aquisição de produtos lácteos, fato este simbolizado à época, pelo grande consumo de iogurte.

Desta forma, os números apresentados pela balança comercial brasileira dos produtos lácteos nos últimos anos evidenciaram uma nova realidade, considerada improvável por muitos e uma tendência para poucos. Diante, portanto, de toda a conjuntura apresentada, torna-se importante aumentar o conhecimento a cerca dos produtos lácteos nacionais, principalmente devido:

- ao reduzido número de trabalhos científicos, relativos aos produtos lácteos concentrados no âmbito nacional;
- à ausência de um regulamento técnico de identidade e qualidade brasileiro específico para o leite condensado adoçado;
- ao desempenho favorável alcançado nos mercados interno e externo nos últimos anos.

Este trabalho teve como objetivo principal, caracterizar e avaliar diferentes marcas de leite condensado produzidos no Brasil, visando conhecer o estado da arte do produto nacional, com ênfase à avaliação microscópica dos cristais de lactose.

Os objetivos específicos foram:

- caracterizar diferentes marcas de leite condensado quanto ao tamanho e número de cristais de lactose, assim como atributos físico-químicos que influenciam no desenvolvimento dos cristais;
- avaliar a realização das análises microscópicas como ferramentas no controle de qualidade do produto;
- sugerir indicadores para a identidade e qualidade do leite condensado, sob o ponto de vista microscópico.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 Balança comercial brasileira de lácteos

De 1996 a 2006, as exportações brasileiras de produtos lácteos aumentaram 1.043% em volume e as importações diminuíram 71,5% (LEITE *et al.*, 2008). De acordo com os dados disponibilizados pelo Sistema de Análise das Informações de Comércio Exterior (ALICEWEB 2), da Secretaria de Comércio Exterior do Ministério do Desenvolvimento, Indústria e Comércio Exterior (MDIC), a balança comercial brasileira dos produtos lácteos evidenciou um desempenho favorável de 1996 a 2009, conforme apresentado na Figura 1.

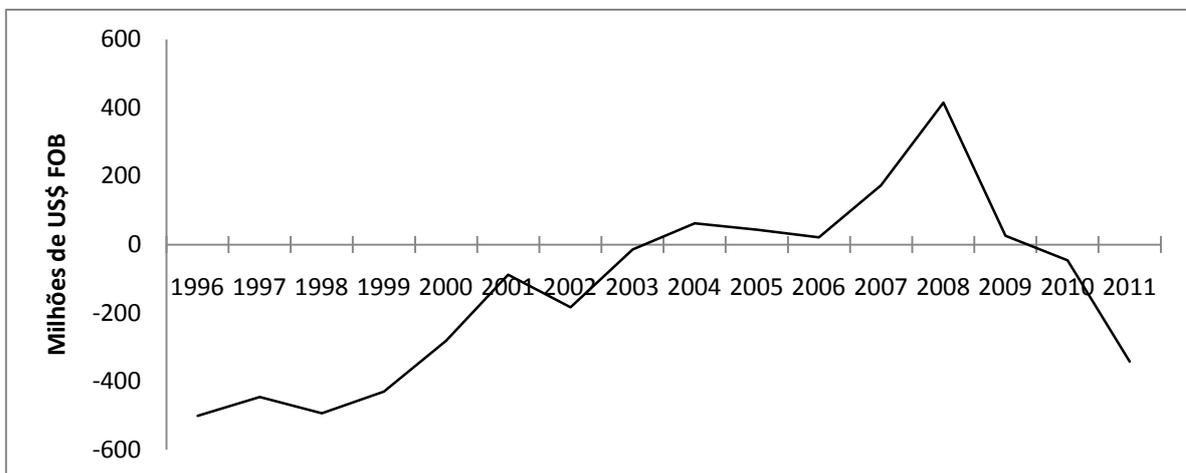


FIGURA 1. Saldo da Balança Comercial brasileira de lácteos, a partir de 1996, Nomenclatura Comum do Mercosul (NCM) ou código 04.

Fonte: BRASIL (2012a).

Este desempenho demonstra nitidamente o período de transição de um tradicional importador à qualidade de exportador dos referidos produtos (CARVALHO *et al.*, 2002).

O saldo positivo acumulado por seis anos consecutivos, de 2004 a 2009, tornou-se negativo em 2010, como reflexo do desencadeamento da crise mundial ocorrida no último trimestre do ano de 2008, provocando uma significativa redução nas exportações brasileiras de lácteos, demonstrado pela Figura 1. O aumento no déficit pode ser constatado pelo saldo da Balança Comercial em 2010, agravado pela valorização do real em relação ao dólar e, como consequência, pelo aumento

das importações. A veracidade da desvalorização da moeda americana tornou-se objeto de questionamentos pelo governo brasileiro, por acreditar que a mudança não seja naturalmente originada pelo ambiente do mercado e sim, intencionalmente induzida por determinados países, como forma de aumentar a competitividade de seus produtos (CARVALHO, *et al.*, 2008).

Diante deste turbulento cenário, os principais produtos lácteos brasileiros que se destacaram pelo expressivo desempenho alcançado pela Balança Comercial brasileira neste segmento foram o leite em pó, o queijo e o leite condensado (CARVALHO, *et al.*, 2008).

## **2.2 Balança comercial brasileira do leite condensado**

O leite condensado está inserido no capítulo 0402.99.00 do Sistema Harmonizado de Designação e de Codificação de Mercadorias, ou simplesmente Sistema Harmonizado (SH) utilizado pelo MDIC. É um método de classificação para o comércio internacional de mercadorias, baseado em uma estrutura de códigos e respectivas descrições, cujo número do capítulo se refere à Nomenclatura Comum do Mercosul (NCM) para acessar os dados (BRASIL, 2012b).

Apesar da eficiência do controle desta metodologia, estão incluídos outros produtos sob o mesmo código NCM (outros leites, cremes de leite, concentrados e adoçados), dificultando a exatidão na interpretação dos números oficiais por não ser este código, exclusivo para o leite condensado. Santos (2010), em consulta realizada ao MDIC quanto à existência de um índice específico obteve resposta negativa, concluindo, portanto, que todas as análises realizadas são baseadas nesta classificação.

O leite condensado foi responsável por mais de 50% da pauta da exportação brasileira de lácteos entre os anos de 1996 e 2006, (SIQUEIRA *et al.*, 2008). A grande competitividade brasileira na produção e exportação proporciona e estimula um maior interesse por parte dos investidores, o que pode ser evidenciado pelo aumento na variedade de marcas do produto no âmbito interno, assim como em plantas de concentração no parque industrial nacional (SANTOS, *et al.* 2009). Os motivos que ajudam a compreender esta diferenciação em relação aos demais derivados lácteos podem ser atribuídos à agregação de dois outros produtos

utilizados pela indústria nacional, na tecnologia de fabricação do leite condensado (PERRONE *et al.*, 2008). O principal ingrediente utilizado no processamento do produto é a sacarose, açúcar oriundo da cana-de-açúcar, vegetal cuja produção nacional também se destaca no mercado mundial. Conforme o artigo 657 do Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal – RIISPOA, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), o leite condensado brasileiro é adoçado (BRASIL, 1952). O segundo motivo é o aço utilizado na embalagem, com idêntica competitividade internacional. Desta forma, vantagens relevantes são transferidas à comercialização do leite condensado brasileiro, devido à redução do custo do produto final, conferindo um diferencial significativo em um mercado cada vez mais globalizado (PERRONE *et al.*, 2008).

No entanto, nos últimos anos (2010 a 2011) o cenário mundial vem apresentando significativas mudanças com reflexos diretos na Balança Comercial brasileira do leite condensado. Embora ainda se apresente com um saldo positivo, variações neste índice ocorreram entre os anos de 2006 e 2009, induzindo oscilações que ainda se fazem notar, caracterizadas pela diminuição nas exportações. Este comportamento foi provavelmente justificado em decorrência do reflexo provocado pela recente desvalorização do preço do leite em pó no mercado internacional, assim como a cotação do dólar, valorizando a moeda brasileira e tornando-a pouco competitiva e, conseqüentemente, onerando a exportação de produtos (SIQUEIRA *et al.*, 2008).

A Figura 2 demonstra o desempenho da Balança Comercial brasileira para o Capítulo 0402.99.00, referente ao período de 1996 a 2011.

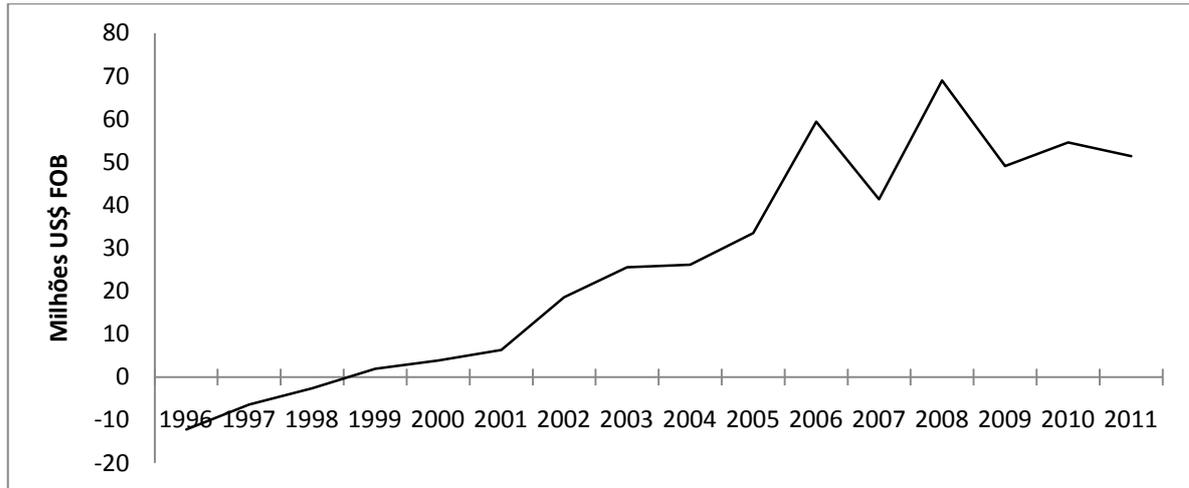


FIGURA 2. Balança Comercial brasileira de outros leites, cremes de leite, concentrados e adoçados (código NCM 0402.99.00) entre 1996 a 2011.

Fonte: BRASIL, Alice Web 2 (2012)b.

### 2.3 Aspectos relativos às legislações

De acordo com a normativa oficial brasileira, Arts. 657 e 658 (BRASIL,1952)

Entende-se por “leite condensado” ou “leite condensado com açúcar” o produto resultante da desidratação em condições próprias, do leite adicionado de açúcar, possuindo as seguintes fases de fabricação: seleção do leite, padronização dos teores de gordura e de sólidos totais, pré-aquecimento, adição de xarope (solução de sacarose ou glicose), condensação, refrigeração, cristalização e enlatamento. Dentre as especificações, deve apresentar 28% no mínimo, de sólidos totais do leite e, no máximo, 45% de açúcar, excluída a lactose. Deve satisfazer ainda as seguintes especificações:

- apresentar características organolépticas próprias;
- apresentar acidez em ácido láctico, entre 0,08 e 0,16 (oito e dezesseis centigramas por cento), quando na diluição de uma parte do produto para 2,5 (duas e meia) partes de água;
- apresentar na reconstituição, em volume, uma parte do leite para 2,25 (duas e vinte e cinco centésimos) partes de água, teor de gordura que atinja o limite do padrão do leite de consumo correspondente, tendo 28% (vinte e oito por cento), no mínimo de extrato seco total do leite, e, no máximo 45% (quarenta e cinco por cento), de açúcar, excluída a lactose.

O padrão 282/1971 revisão 1999, alterado em 2010, estabelecido pelo Codex Alimentarius, define que os leites condensados adoçados são os produtos lácteos que podem ser obtidos pela remoção parcial da água do leite com adição de açúcar, ou por qualquer outro processo que conduza a um produto com a mesma composição e características, devendo conter no mínimo  $8\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$  de gordura láctea, no mínimo  $28\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$  de sólidos lácteos e no mínimo  $34\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$  de proteína láctea nos sólidos lácteos não gordurosos.

#### 2.4 Aspectos tecnológicos das principais etapas de fabricação do leite condensado adoçado

De acordo com Walstra *et. al.* (2006), o leite condensado adoçado é o leite concentrado por evaporação ao qual a sacarose é adicionada para obter uma solução quase saturada de açúcar. Existem muitas variações na tecnologia de fabricação do leite condensado, sendo um exemplo ilustrado abaixo pela Figura 3.

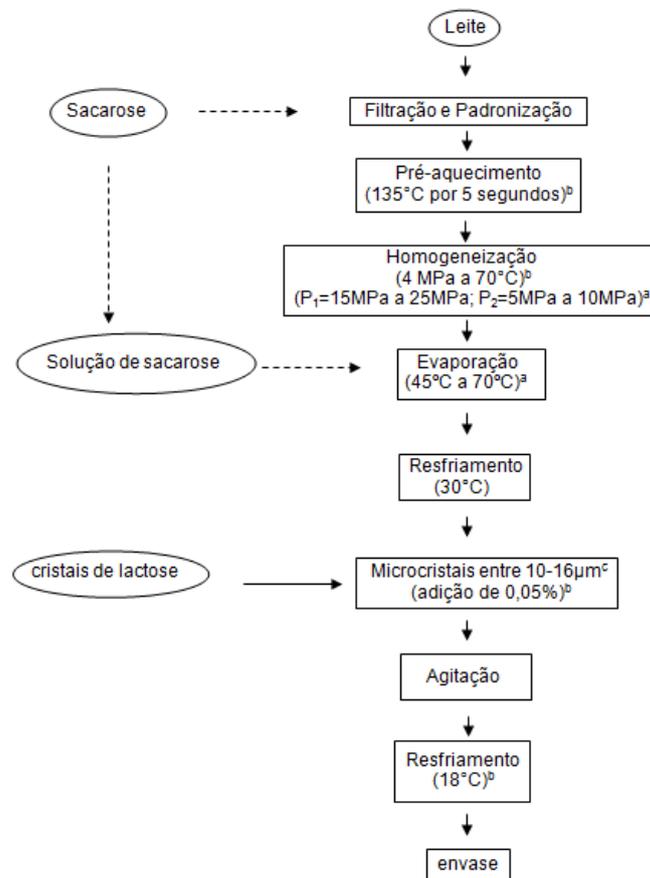


FIGURA 3 – Fluxograma de elaboração de leite condensado adoçado

Fontes: adaptado de: a. Hui (1993) b. Walstra *et al.* (2006) c. Gänzle *et al.* (2008).

Em razão do pré-aquecimento, da concentração e do elevado teor de açúcar, o produto é altamente viscoso, apresentando, aproximadamente, 1000 vezes a viscosidade do leite (WALSTRA *et al.*, 2006). A diminuição dos custos de transporte e no armazenamento são importantes vantagens relacionadas a utilização dos produtos concentrados, devido à redução do volume e facilidade de utilização na formulação de outros produtos. Deve ser salientado também, o aumento considerável na vida de prateleira sem refrigeração (VARNAM; SUTHERLAND, 1994).

#### 2.4.1 Pré-aquecimento

De acordo com Varnam e Sutherland (1994), o tratamento térmico aplicado como pré-aquecimento é fundamental para a determinação da estrutura e da qualidade dos leites concentrados e em pó. Durante esta etapa de fabricação ocorrem inúmeras reações, embora as extensões sejam dependentes da severidade do aquecimento.

Os binômios temperatura/tempo citados na literatura e os utilizados na rotina industrial são mostrados na Tabela 1.

TABELA 1. Valores empregados para o pré-aquecimento de leites concentrados e condensados

REFERÊNCIA	TEMPERATURA	TEMPO
Alais (1985)	≥ 100°C	-
Hui (1993)	100°C a 120°C	-
Early (1998)	72°C a 95°C	-
	85°C a 135°C	30s a 30 min
Walstra et al.(2006)	130°C a 140°C	-
Perrone et al.(2011)	85°C	20 min

Segundo Hui (1993b), a principal meta do tratamento térmico é a total destruição dos micro-organismos osmofílicos e termofílicos. A lipase do leite deve ser primariamente inativada enquanto que as de origem bacteriana não o são, podendo causar rancidez (WALSTRA, *et al.*, 2006). Além disso, o tratamento térmico diminui a separação da gordura, inibe mudanças oxidativas e afeta a viscosidade

final como consequência das mudanças físico-químicas na caseína e nas soro proteínas (HUI, 1993b).

Os principais efeitos e as consequências desta etapa sobre as propriedades do leite que será submetido posteriormente ao processo de concentração, são resumidos e apresentados na Tabela 2.

TABELA 2. Mudanças que são produzidas no pré-aquecimento do leite

MUDANÇA	CONSEQUÊNCIAS
Aumento na acidez e diminuição do pH, devido à degradação da lactose e à formação de ácidos orgânicos	Possível desestabilização protéica
2. Desnaturação das proteínas do soro	Mudanças nas propriedades funcionais do leite em pó; produção de grupos sulfidrílicos ativos provocando <i>atraso na oxidação da gordura (efeito antioxidante)</i> e desenvolvimento de aroma cozido
3. Interação entre as proteínas do soro e as micelas de caseína	<i>Estabilização frente aos tratamentos térmicos posteriores</i>
4. Agregação das micelas de caseína	<i>Estabilização frente aos tratamentos térmicos posteriores</i>
5. Desfosforilação da caseína	- <i>Estabilização frente aos tratamentos térmicos posteriores</i> - Desestabilização, se for excessiva
Mas 6. Formação de fosfatos coloidais	<i>Estabilização frente aos tratamentos térmicos posteriores</i>
7. Reação de Maillard	- Perdas nutricionais (lisina) - Produção de pigmentos escuros (melanoidinas) - Produção de aromas indesejáveis

FONTE: adaptado de Varnam e Sutherland (1994)

### 2.4.2 – Concentração do leite

Este procedimento é geralmente realizado empregando a evaporação sob pressão reduzida, o que possibilita diminuir a temperatura e prevenir danos causados pelo aquecimento (WALSTRA et al., 2006). A etapa de evaporação causa um aumento no teor de sólidos até a magnitude desejada no produto final. Normalmente são aplicadas temperaturas de evaporação que variam entre 45°C a 70°C de acordo com o número de efeitos do evaporador, de forma que, quanto maior o número destes, menor será a diferença entre as temperaturas de ebulição do produto (PERRONE, 2011). A temperatura de ebulição do produto está determinada pela pressão (reduzida) e, em menor grau, pela concentração do leite pelo aumento do ponto de ebulição (VARNAM e SUTHERLAND, 1994).

A eliminação parcial da água do leite e o aumento da concentração de solutos no leite concentrado originam diversas alterações em suas propriedades. Segundo Walstra *et al.* (2006), as principais mudanças causadas pela concentração são:

1. diminuição da atividade de água;
2. aumento da higroscopicidade: notadamente nos produtos em pó;
3. mudança no equilíbrio salino: a atividade de cálcio ( $\text{Ca}^{+2}$ ) é ligeiramente aumentada devido ao fosfato de cálcio que passa ao estado insolúvel. Devido a diminuição do teor de água, o pH diminui, reduzindo a fração de cálcio que está em solução. Com a diminuição do teor de água, aumenta a associação entre espécies iônicas;
4. mudanças na conformação das proteínas: devido à força iônica, ao pH e às mudanças no equilíbrio salino. Quando o leite está muito concentrado reduz-se a qualidade do solvente. Aumenta a tendência das moléculas protéicas associarem-se e aumentarem em tamanho. Se o leite for intensamente pré-aquecido o aumento é menor, provavelmente devido à beta-lactoglobulina ( $\beta$ -Lg) e outras proteínas do soro que associam com a caseína;
5. mudanças em algumas propriedades físico-químicas: aumento da pressão osmótica, diminuição do ponto crioscópico, aumento do ponto de ebulição, aumento da condutividade elétrica, da densidade e do índice de refração, enquanto que a condutividade térmica diminui;

6. modificação das propriedades reológicas: aumenta a viscosidade.
7. diminuição do coeficiente de difusão: quando o conteúdo de água é baixo, o efeito é muito forte, notadamente nos produtos em pó com pequena porcentagem de água.

De acordo com Walstra *et al.* (2006), o fator de concentração é a relação entre o teor de sólidos totais no produto concentrado e na matéria-prima. Durante a concentração, algumas substâncias tornam-se supersaturadas e podem precipitar após a cristalização. O leite é saturado em fosfato de cálcio e, devido à concentração, a quantidade de fosfato associado com as micelas de caseína aumenta. As mudanças nas propriedades como consequência do aumento do fator de concentração, modificam consideravelmente a velocidade das reações químicas e das mudanças físicas, diminuindo a velocidade na maioria dos casos, conforme pode ser vista na Figura 4.

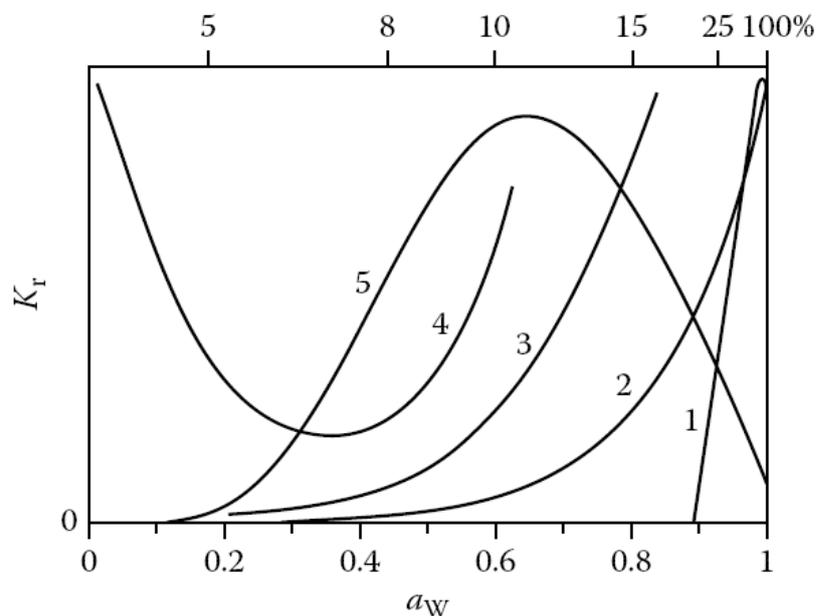


FIGURA 4. Velocidade relativa ( $K_r$ ) de várias reações e atividade de água ( $a_w$ ) de um leite (concentrado) desnatado (em pó). A escala superior das abcissas indica o conteúdo de água aproximado ( $\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$ ). 1 - Desenvolvimento de *Staphylococcus aureus*; 2 - degradação oxidativa do ácido ascórbico; 3 - ação enzimática (p. ex. lipase); 4 - auto-oxidação dos lipídios; 5 - reação de Maillard (escurecimento não enzimático). Exemplos para ilustrar as tendências.

Fonte: WALSTRA *et al.* (2006)

A lactose torna-se saturada à temperatura ambiente quando o fator de concentração é de 2,1, mas facilmente se torna supersaturada. Se o teor de água de um produto diminui, sua atividade de água também diminui (WALSTRA *et al.* 2006).

Ainda de acordo com os autores, após a concentração, a velocidade das reações diminui como consequência principal da redução do coeficiente de difusão, devido ao menor número de colisões moleculares. Outro efeito atribuído ao menor coeficiente de difusão é a redução dos processos físicos, como por exemplo, a cristalização. Quanto maiores são as moléculas, maior é a diminuição do coeficiente de difusão. É comum apresentar a velocidade das reações em função da atividade de água, permitindo demonstrar a sua influência numa maior ou menor difusão, embora isto não ocorra em muitos casos, como pode ser observado nas curvas quatro e cinco da Figura 4 (WALSTRA *et al.*, 2006).

### **2.4.3 – Adição de açúcar**

Apenas a concentração do leite integral não é suficiente para a sua preservação microbiológica, em função da redução da atividade de água e aumento da pressão osmótica da lactose (EARLY, 1998). O valor aproximado de  $a_w$  igual a 0,83 encontrado para o leite condensado se deve principalmente ao seu elevado teor em açúcar, o que não impede o desenvolvimento de todos os micro-organismos sendo, portanto, o leite condensado considerado um produto não estéril, contendo bactérias e esporos (WALSTRA *et al.*, 2001). Contudo, o sinergismo proporcionado por estas duas etapas tecnológicas, concentração e adição de açúcar, resulta em um produto com elevada viscosidade e é reconhecidamente importante para o aumento da vida de prateleira em um processo de fabricação adequadamente conduzido, pois a esterilização pelo calor não é realizada. Desta forma, são necessários controles higiênicos gerais e específicos severos de cada uma das operações, que devem estar incorporadas aos procedimentos de fabricação. Deve-se também ter em mente a natureza viscosa do leite condensado e ajustar os programas de limpeza de acordo com esta característica (VARNAM; SUTHERLAND, 1994).

Usualmente o açúcar escolhido é a sacarose, embora glicose, dextrose e outros também possam ser utilizados, particularmente quando o produto tem uma aplicação especial. As principais vantagens da sacarose sobre outros açúcares são a boa solubilidade, a baixa susceptibilidade à fermentação e a preferência dos consumidores. Deve ser segura do ponto de vista microbiológico, sem a presença de ácidos ou açúcar invertido (HUI, 1993b). Early (1998) afirma que, para alcançar uma estabilidade de prateleira com suficiente pressão osmótica para prevenir deterioração microbiana e intoxicação alimentar, a sacarose adicionada ao leite na produção do leite condensado adoçado deve alcançar uma relação em água de  $62,5\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$  para o efeito osmótico requerido.

De acordo com Varnam e Sutherland (1994), a adição de açúcar antes da evaporação predispõe à ocorrência da gelificação por envelhecimento, embora este seja o procedimento mais empregado pelas indústrias brasileiras. Ainda conforme os autores, para evitar este problema a prática normal é adicionar o açúcar em uma solução a  $65\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$  (calda) nas últimas fases da evaporação. Em seguida, é necessário passar o concentrado através de um “finalizador”, um evaporador à parte especialmente desenhado para eliminar a água de volumes relativamente pequenos, até deixar o produto com um alto teor de sólidos totais e trabalhar com um material viscoso. A concentração de açúcar em água se expressa como a proporção de açúcar (sacarose na fase aquosa) e pode ser calculada mediante a seguinte fórmula:

$$PA = \frac{\% A (LC)}{100 - \% STLC} \times 100$$

Sendo:

PA = proporção de açúcar

A = teor de açúcar no leite condensado ( $\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$ )

LC = leite condensado

SLTC = sólidos totais no leite condensado

De acordo com Hui (1993b), a quantidade de sacarose adicionada deve ser tal que sua concentração na fase aquosa do produto final esteja entre  $62,5\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$  a  $64,5\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$ . Este indicador, chamado “número do açúcar” ou “índice de açúcar”, é calculado da seguinte forma:

$$C_z = \frac{S}{S+W} \times 100$$

Sendo:  $62,5 < C_z < 64,5$

S = teor de sacarose no leite condensado adoçado ( $\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$ )

W = teor de água no leite condensado adoçado ( $\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$ )

Ainda de acordo com o autor, o índice de açúcar abaixo do valor referenciado predispõe o produto a mudanças induzidas por bactérias, enquanto que, se for maior que o máximo indicado ( $C_z > 64,5$ ) poderá, em baixas temperaturas, causar a cristalização da lactose. A adição do açúcar antes do tratamento térmico aumenta a termoresistência bacteriana e de suas enzimas durante o aquecimento, além de intensificar significativamente a susceptibilidade do produto para o espessamento por envelhecimento, durante o armazenamento. A adição do açúcar antes da evaporação também tem um efeito negativo na mudança da viscosidade durante o armazenamento (HUI, 1993b). Ainda conforme este autor, após a evaporação e a adição do açúcar, a cristalização da lactose é induzida durante o subsequente resfriamento do produto. Isto é causado por:

- diminuição da temperatura;
- altas concentração da lactose ( $> 10\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$ );
- presença de elevadas concentrações do açúcar adicionado (aproximadamente  $40\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$ );
- baixo teor de água.

#### 2.4.4 – Microcristalização

A obtenção de um leite condensado com ótimos atributos sensoriais depende da formação de inúmeros cristais de lactose, de reduzido tamanho, por meio da indução de um processo denominado nucleação secundária (NICKERSON, 1974).

Desta forma, o controle da cristalização é realizado mediante a inoculação de microcristais de lactose (semeadura), seguido do resfriamento em condições ajustadas (MARGAS, *et al.*, 1982). Assim, evita-se a formação de uma textura arenosa no produto devido à formação de grandes cristais. Os pequenos cristais de lactose são adicionados antes que ocorra a cristalização espontânea (primária), seguido pelos controles da temperatura e taxa de agitação, possibilitando manter o tamanho dos cristais em uma grandeza mínima. Como resultado, obtêm-se um produto com uma textura suave e homogênea (MUIR, 1990).

O leite que sai do evaporador é resfriado próximo a 30°C e semeado com os microcristais de lactose. Em um segundo resfriamento, estes cristais constituem os núcleos para a cristalização da lactose do leite, induzindo a formação de um grande número de pequenos cristais que não são detectados sensorialmente por um provador ou consumidor. Se a inoculação não é realizada adequadamente, formam-se poucos cristais de grande tamanho que conferem ao produto uma textura arenosa (VARNAM e SUTHERLAND, 1994).

Early (1998) relata que, à medida que o leite é concentrado em valores acima de 40g.100g<sup>-1</sup> de sólidos totais, o potencial para a lactose cristalizar fora da solução é aumentado, podendo resultar em problemas de viscosidade e gelificação por envelhecimento ocorrendo, respectivamente, em teores superiores a 40g.100g<sup>-1</sup> de sólidos totais para o leite desnatado e maiores que 45g.100g<sup>-1</sup> de sólidos totais para o leite integral.

##### 2.4.4.1 Aspectos sobre o mecanismo da cristalização da lactose

Os princípios da cristalização e os fatores que influenciam o crescimento dos cristais de lactose têm sido aplicados aos produtos lácteos, para entender as consequências das condições do processamento sobre os produtos que contêm lactose em relação à sua qualidade (GÄNZLE *et al.*, 2008). Os processos de

nucleação e cristalização, assim como a natureza do produto cristalino, dependem das condições sob as quais o material é cristalizado. Mudanças nas variáveis operacionais tais como supersaturação, temperatura, pH e impurezas podem ocasionar alterações nas características físico-químicas do material (RAGHAVAN *et al.*, 2001). Cada processo de cristalização alcançado por uma solução é caracterizado pela formação da supersaturação, nucleação (primária e secundária) e crescimento do cristal, assim como os fenômenos secundários, incluindo agregação, aglomeração, quebra, redissolução e envelhecimento (MULLIN, 2001; BRITO, 2007).

A lactose, ou açúcar do leite, é encontrada no leite de todas as espécies de mamíferos, variando entre  $2,0\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$  a  $8,5\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$  (BEMILLER e WHISTLER, 1996). O leite bovino apresenta um teor relativamente constante entre de  $4,8\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$  a  $5,2\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$  de lactose monoidratada, compreendendo cerca de  $52\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$  dos sólidos lácteos não gordurosos (SLNG) do leite (HUI, 1993a). É, em massa, o sólido lácteo mais abundante (EARLY, 1998). É a primeira fonte de carboidrato para o desenvolvimento dos mamíferos, constituindo 40% da energia consumida durante a amamentação em humanos, devendo, neste caso, ser precedida pela sua hidrólise. A lactose estimula a adsorção intestinal e retenção de cálcio (BEMILLER e WHISTLER, 1996).

É um dissacarídeo formado por uma molécula de galactose e uma de glicose, unidas por uma ligação  $\beta$ -1,4-glicosídica, cujos isômeros alfa ( $\alpha$ ) e beta ( $\beta$ ) são mostrados na Figura 5.

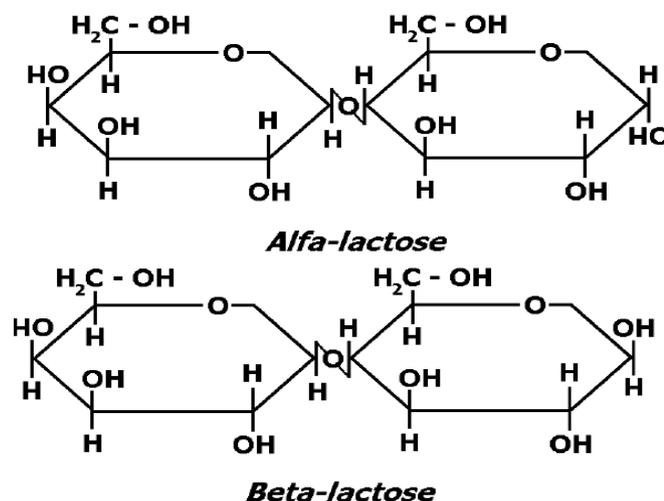


FIGURA 5. Estrutura química dos isômeros da lactose

Fonte: PERRONE (2006)

O carbono funcional da glicose (C1) é um carbono anomérico estando, portanto, disponível para oxidação, tornando a lactose um dissacarídeo redutor (BOBBIO e BOBBIO, 1992).

Em soluções aquosas,  $\alpha$  e  $\beta$ -lactose estão presentes em equilíbrio por meio do processo denominado mutarrotação, que consiste na mudança de rotação óptica e transformação em solução, de uma forma na outra, fenômeno dinâmico, característico de todos os açúcares redutores até o estabelecimento do equilíbrio (WHITTIER, 1944; FOX, 1997; EARLY, 1998; GÄNZLE *et al.*, 2008). As formas  $\alpha$  e  $\beta$ -lactose diferem entre si em suas configurações e, conseqüentemente, em suas propriedades, como por exemplo, na forma do cristal, na solubilidade e em seu poder edulcorante (MUIR, 1990; MONTES *et al.*, 2003). A mistura equilibrada, apresenta uma solubilidade em água de cerca de  $17\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$  a  $15^\circ\text{C}$  (MUIR, 1990).

A Figura 6 apresenta o comportamento da taxa de mutarrotação para as soluções de lactose em função da temperatura e do pH.

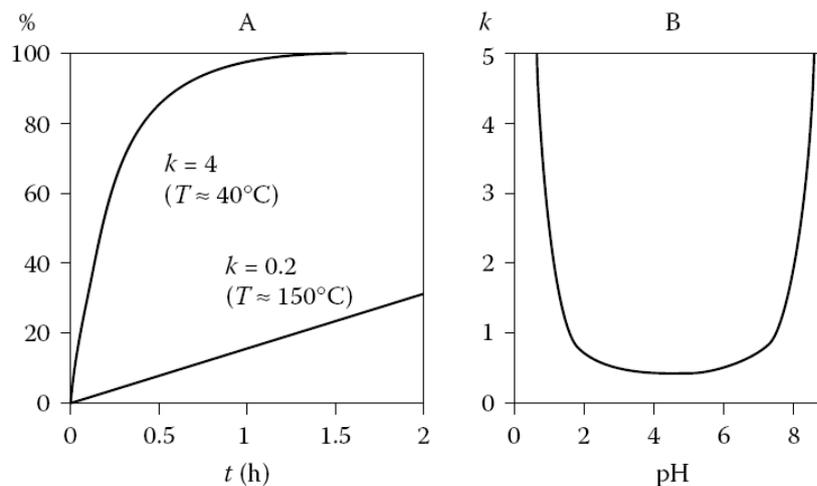


FIGURA 6. A mutarrotação em soluções de lactose. (A) Curso da reação em função do tempo. (B) Constante de reação ( $k$ ) em função do pH ( $\sim 25^\circ\text{C}$ ).

Fonte: WALSTRA, *et al.* (2006)

Estes isômeros são opticamente ativos, diferindo entre si na rotação óptica específica. A  $\alpha$ -lactose apresenta uma rotação óptica específica em solução aquosa, a  $20^\circ\text{C}$ , de  $+89,4^\circ$ , enquanto que para a  $\beta$ -lactose é de  $+35,0^\circ$  (WHITTIER, 1944). De acordo com o autor, ao dissolvê-las em água, em temperaturas normais, as duas formas mudam a rotação gradativamente até o valor de  $+55,5^\circ$ , o qual representa a

rotação no equilíbrio. Uma solução de lactose a 25°C apresenta em seu estado de equilíbrio, 62,25% na forma  $\beta$  e 37,75% na forma  $\alpha$ . Portanto, ao adicionar apenas um dos isômeros a uma solução aquosa, automaticamente ocorrerá a formação da outra, sendo o oposto também verdadeiro. Ambas as reações são de primeira ordem (FOX, 1997).

A taxa de mutarrotação é grandemente influenciada tanto pela temperatura quanto pelo pH, assim como por outros açúcares e sais (HAASE e NICKERSON, 1966a; TWIEG e NICKERSON, 1968; PATEL e NICKERSON, 1970; WALSTRA e JENNESS, 1984). Em geral, a mutarrotação da lactose é acelerada pelo aumento na temperatura e pela ação de alcalinos e ácidos (PATEL e NICKERSON, 1970). Em baixas temperaturas é lenta, mas aumenta 2,8 vezes a cada aumento de 10°C na temperatura, tornando-se quase instantâneo próximo a 75°C. A taxa é mínima no pH próximo de 5,0, aumentando com as mudanças para os dois lados deste valor (GÄNZLE *et al.*, 2008). O efeito do pH na cristalização da lactose tem sido atribuído à sua influência na taxa de mutarrotação, pois a cristalização remove somente um anômero do equilíbrio, o qual pode se esgotar na forma cristalizada se a mutarrotação é lenta (NICKERSON e MOORE, 1974).

De acordo com Walstra e Jenness (1984), a equação de equilíbrio em soluções diluídas de lactose é aproximadamente:

$$R = 1,64 - (0,0027 \times T)$$

sendo,

$$R = [\beta]/[\alpha],$$

T = temperatura, em graus Celsius

A velocidade de mutarrotação apresenta uma significativa diminuição sob condições de elevada concentração de açúcar, como é o caso da sacarose no leite condensado (WALSTRA e JENNESS, 1984). Nesta concentração a mutarrotação da lactose é muito lenta. A solução supersaturada de lactose tende a cristalizar para restabelecer o equilíbrio, aumentando assim o tamanho dos cristais previamente formados (PATEL e NICKERSON, 1970). Os sais do leite aumentam a taxa de mutarrotação em um fator próximo de dois comparado com a água (WALSTRA e JENNESS, 1984). A desmineralização pode contribuir para a remoção do material

inibitório à mutarrotação e ao crescimento dos cristais, mas aceleradores podem permanecer (NICKERSON e MOORE, 1974).

Haase e Nickerson (1966a) estudaram o fenômeno da mutarrotação em água e em solução salina (similar ao soro), e demonstraram que ele pode ser expresso por:

$$[\alpha_{\text{infinito}}]_D = 55,23 - 0,01688c - 0,07283(t - 25),$$

sendo,

$[\alpha_{\text{infinito}}]$  = rotação específica no equilíbrio,

c = concentração de lactose anidra na solução ( $\text{g} \cdot 100 \text{ mL}^{-1}$ ),

t = temperatura, em graus Celsius.

Estes autores afirmam que a taxa de cristalização sempre ocorreu em uma taxa menor que a mutarrotação, seja em água seja no soro, permitindo afirmar que este último não é um fator limitante. Observaram também que a agitação aumentava a relação (mutarrotação ou cristalização ou ambos) em escala logarítmica, enquanto linear sem agitação (HAASE e NICKERSON 1966b).

A lactose é um açúcar relativamente pouco solúvel, apresentando, aproximadamente 10 vezes menos solubilidade em água que a sacarose (ALAIS, 1985). Embora a solubilidade da lactose seja menor quando comparada com outros açúcares, soluções supersaturadas são prontamente formadas antes que a cristalização espontânea aconteça (MUIR, 1990; FOX, 1997).

A forma  $\alpha$ -lactose é menos solúvel,  $7\text{g} \cdot 100\text{g}^{-1}$  em água a  $15^\circ\text{C}$ , que a forma  $\beta$ ,  $50\text{g} \cdot 100\text{g}^{-1}$  a  $15^\circ\text{C}$  (MUIR, 1990; FOX, 1997; EARLY, 1998). Como a solubilidade de cada fração é diferente da outra, a taxa de mutarrotação é influenciada e, conseqüentemente, a cristalização (HOLSINGER, 1988). No entanto, a solubilidade de uma forma não é afetada pela presença da outra na solução (WHITTIER, 1944). Como a forma  $\alpha$ -lactose é convertida em  $\beta$ -lactose devido à mutarrotação, a solução torna-se insaturada com relação a  $\alpha$  e mais monohidrato de  $\alpha$ -lactose é dissolvido até ser atingido o equilíbrio, obtendo uma solubilidade final de cerca de  $17\text{g} \cdot 100\text{g}^{-1}$  a  $15^\circ\text{C}$  (FOX, 1997).

As solubilidades das duas formas da lactose em água em diferentes temperaturas é mostrada na Tabela 3.

TABELA 3. Solubilidades da lactose em água

Temperatura (°C)	Solubilidade inicial em água (g.100g <sup>-1</sup> )		Solubilidade final em água (g.100g <sup>-1</sup> )	Supersolubilidade em água (g.100g <sup>-1</sup> )
	α	β		
0	5,0	45,1	11,9	25
15,0	7,1	-	16,9	38
25,0	8,6	-	21,6	50
39,0	12,6	-	31,5	74
49,0	17,8	-	42,4	-
59,1	-	-	59,1	-

Fonte: adaptado de Whittier (1944)

Os valores da solubilidade final são os mesmos, independente da forma inicialmente dissolvida, e refere-se às soluções em equilíbrio  $\alpha$ - $\beta$ , saturadas com a forma  $\alpha$  se a temperatura for abaixo de 93,5°C, ou com a forma  $\beta$  se acima de 93,5°C. Uma solução aquosa saturada de lactose a 93,5°C é saturada tanto para a forma  $\alpha$  quanto para  $\beta$ , não significando que as duas formas estão presentes em igual quantidade (WHITTIER, 1944).

O significado prático da supersolubilidade encontra-se no fato de que soluções supersaturadas a um grau não excessivamente superior ao valor da supersolubilidade não cristalizará, mesmo se a solução for agitada, a menos que cristais de lactose ou partículas de alguma substância isomorfa sejam introduzidos no meio. Mesmo assim, uma cristalização geral pode não ocorrer, crescendo apenas os núcleos resultantes. Deve-se ter em mente que soluções supersaturadas de lactose com um grau ligeiramente acima deste, podem ser supersaturadas tanto em  $\alpha$  quanto em  $\beta$ -lactose. A partir destas soluções, qualquer forma pode ser induzida a cristalizar através da semeadura da variedade desejada (WHITTIER, 1944).

A sacarose diminui a solubilidade da lactose em alguma extensão e apenas ligeiramente em solução de sacarose diluída (14g.100g<sup>-1</sup> de sacarose), mas é evidente em altas concentrações (62g.100g<sup>-1</sup> de sacarose), como no leite condensado adoçado. Elevando-se ainda mais a temperatura desta solução, a solubilidade da lactose diminui. Nickerson e Moore (1972) relatam uma redução de 60g.100g<sup>-1</sup> a 80g.100g<sup>-1</sup> a 85°C e de 40g.100g<sup>-1</sup> a 75g.100g<sup>-1</sup> a 20°C. Numa solução

quase saturada de sacarose a solubilidade da lactose é aproximadamente a metade do que é em água pura. O processo de concentração diminui o teor de água livre ( $a_w$ ) disponível para manter a solubilidade da lactose presente no meio, condição esta agravada pela elevada concentração de sacarose no meio, além de possuir maior afinidade pela água que a lactose, induzindo a cristalização desta última. É possível dissolver 206,28g de sacarose em 100g de água a 25°C (QUEIROZ *et al.*, 2008).

A lactose é menos doce que a sacarose, que a glicose e a frutose. Sabe-se que a solução de lactose em equilíbrio apresenta cerca de um terço do poder edulcorante da solução de sacarose em equivalente concentração, embora estudos mais recentes indiquem que esta relação é cerca de metade a um quarto do poder edulcorante da sacarose (BEMILLER e WHISTLER, 1996). O anômero  $\beta$  é um pouco mais doce do que o  $\alpha$  (MUIR, 1990). Na forma sólida, a lactose é ainda menos doce devido a sua baixa solubilidade e dureza dos seus cristais. A lactose sólida produz na língua uma sensação semelhante a que é produzida pela areia, sendo esta característica conhecida como “arenosidade” (WHITTIER, 1944). Ainda conforme o autor, a habilidade da lactose em formar soluções supersaturadas e sua relativa insolubilidade são extremamente importantes na fabricação de uma variedade de produtos lácteos, tornando o estudo da cristalização da lactose de suma importância.

A força motriz para a cristalização da lactose é a supersaturação (NÝVLT, 1985; ARES e GIMENEZ, 2008). Embora exista uma relação direta, que diminui com o tempo, a taxa de cristalização não é proporcional à supersaturação (TWIEG e NICKERSON, 1968). As soluções de lactose são capazes de estar altamente supersaturadas antes que a cristalização espontânea aconteça (GÄNZLE *et al.*, 2008). De acordo com Nickerson (1954), quando uma solução supersaturada de lactose é armazenada, inicialmente são formados poucos núcleos de cristal. A porção supersaturada de lactose precipita nestes núcleos, produzindo grandes cristais.

Na formação dos cristais, dois passos são requeridos: o surgimento de uma nova partícula, denominado núcleo e o crescimento desta partícula até um tamanho macroscópico. A semeadura induz a formação abundante de centros de cristal, nos

quais a lactose presente na condição supersaturada é depositada, diminuindo desta forma, o risco de formar grandes cristais (NICKERSON, 1954).

A taxa de cristalização tem sido estudada a temperaturas na faixa de -5°C a 30°C, sendo observado que, para as primeiras duas horas e meia, a taxa de cristalização é maior a 30°C que a 25°C ou outra temperatura mais baixa, até que tenham decorrido sete horas. O método mais eficiente para cristalizar a lactose se dá pelo resfriamento da solução a 30°C, semeadura e agitação nesta mesma temperatura por aproximadamente três horas, resfriando-a em seguida a 20°C, mantendo nesta temperatura por três a quatro horas. Mediante o adequado controle da agitação e da taxa de resfriamento é possível obter cristais uniformes e de qualquer tamanho desejado (WHITTIER, 1944).

De acordo com Bolanowski (1965), a cristalização está inseparavelmente associada a dois elementos temporais:

1. o tempo necessário para diminuir a temperatura do material até o ponto onde a cristalização ocorrerá: a taxa de resfriamento e a intensidade da agitação determinam em grande parte o tamanho, a quantidade e a estabilidade dos cristais que serão formados;
2. o tempo necessário para que o cristal cresça sob condições de cristalização.

Geralmente, quanto maior a taxa de resfriamento e mais vigorosa for a agitação, menores serão os cristais, embora alguns tenham maior ou menor facilidade para o crescimento (BOLANOWSKI, 1965).

McLeod, *et al.* (2011) estudaram a influência da temperatura e da supersaturação na nucleação primária da  $\alpha$ -lactose monoidratada. Os autores afirmam que para um completo entendimento sobre o processo de nucleação da lactose é necessário incluir o estudo da nucleação primária (ou espontânea), que são agregados moleculares de tamanho crítico onde, acima deste, pode haver o crescimento, e abaixo são instáveis. A supersaturação da solução é que determina o tamanho. Neste trabalho, a relação entre a supersaturação e a nucleação primária foi considerada sob condições isotérmicas, possibilitando desconsiderar o efeito do fator temperatura presente na equação que representa a teoria clássica da

nucleação (CNT), permitindo dessa forma, demonstrar a mudança no mecanismo dominante da nucleação homogênea para heterogênea.

Quando a nucleação é vista em função de uma supersaturação relativa, o aumento da temperatura reduz o limite para a inicialização da nucleação primária homogênea. Contudo, quando é vista em função da supersaturação absoluta, o limite é quase independente da temperatura, sendo este último apenas observado em baixas supersaturações, apresentando um comportamento inversamente proporcional à supersaturação. Por causa do rápido aumento da taxa de nucleação, uma vez que supersaturação é excedida, estas pequenas mudanças conferem um grande impacto no número e tamanho dos cristais (McLeod *et al.*, 2011). Apesar da relevância das informações, o estudo não contemplou a nucleação secundária.

Estudos mais recentes demonstraram as interrelações físico-químicas das soluções aquosas de lactose em diferentes graus de supersaturação, temperaturas, diferentes estágios de cristalização e na presença ou ausência de diferentes solventes orgânicos miscíveis em água (ZENG *et al.*, 2000b).

A Figura 7 ilustra os cristais de lactose formados por meio da nucleação primária.

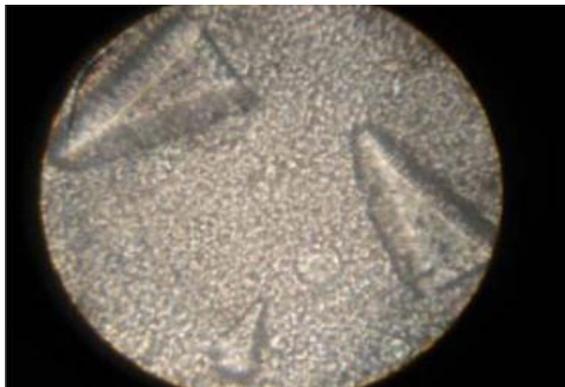


FIGURA 7. Cristais de lactose formados por meio da nucleação primária, com 30 dias de fabricação, em doce de leite (aumento de 400x).

Fonte: Perrone (2006)

Outro atributo que influencia o controle da cristalização é viscosidade. O meio torna-se mais viscoso à medida que os ingredientes são resfriados. A viscosidade retarda a cristalização e a taxa de transferência de calor da qual a cristalização da

massa depende. Desta forma, a agitação e as taxas de transferência de calor devem ser consideradas (BOLANOWSKI, 1965).

Kreveld e Michaels (1965) estudaram as formas e a cinética do crescimento de cada face dos cristais de lactose, como pode ser observado esquematicamente pela Tabela 4 e Figura 8.

TABELA 4. Taxa de crescimento relativo das diferentes formas dos cristais de lactose, em direção aos vários eixos\*

FORMA	PRODUTO LÁCTEO	EIXO		
		a	b	c
"Tomahawk"	solução aquosa de lactose	++	+++	0 a ±
Prisma	sorvete	++	++	0 a +
Diamante	sorvete	++	+	0 a +
Pirâmide	leite condensado	+	+++	+
Triângulo	solução aquosa de lactose	+	+++	±
Placa triangular	soro enriquecido com riboflavina	±	+++	±
Placa trapezoidal	soro enriquecido com riboflavina	±	+++	+

Fonte: Kreveld e Michaels (1965), adaptado pelo autor.

\* Expressa na seguinte escala de aumento: 0; ±; +; ++; +++.

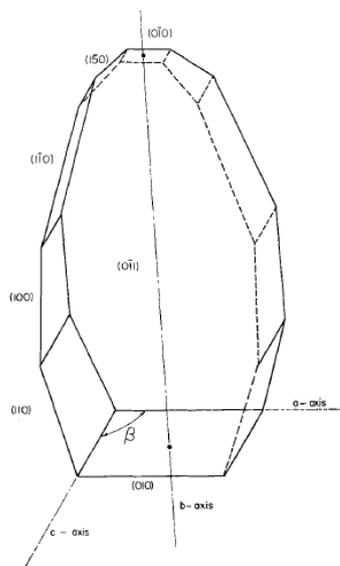


FIGURA 8. Cristal "tomahawk" de  $\alpha$ -lactose monohidratada

Fonte: Kreveld e Michaels (1965).

Os referidos autores descobriram que as taxas de crescimento variaram entre as diferentes formas de cristais e que, uma face quebrada, crescia muito mais rapidamente que a face normal, até que esta quebra fosse completamente recuperada.

Cristais de  $\alpha$ -lactose monoidratada se apresentam em diferentes formas, embora todas elas sejam cristalograficamente equivalentes à forma mais comum “*tomahawk*”, seja no soro obtido na fabricação de queijos seja em água. As diferentes formas surgem a partir das diferentes taxas de cristalização nas várias faces do cristal. As variáveis que afetam a taxa de crescimento do cristal e a forma são o grau de supersaturação (a relação entre a concentração real com a solubilidade) e a presença de inibidores. (HERRINGTON, 1934; HUI, 1993a).

As condições de cristalização influem sobre a forma dos cristais. A lactose é um interessante exemplo de polimorfismo cristalino, que tem dado lugar a numerosos estudos. A cristalização forçada e rápida (com semeadura de cristais de lactose ou de leite em pó) originam apenas pequenos prismas paralelepípicos; se é lenta, permite observar variadas formas: pirâmides, *tomahawks* e finalmente o cristal completamente desenvolvido, que é um prisma cuja complexidade resulta da velocidade de crescimento, que não é a mesma para as diferentes faces (ALAIS, 1985). Em alguns casos, a forma das partículas sugere um processo de aglomeração de múltiplos estágios com aglomerados primários e secundários (ARES e GIMENEZ, 2008).

A forma mais predominante dos cristais são prismas, pirâmides ou “*tomahawk*” dependendo das condições de cristalização (GÄNZLE *et al.*, 2008). A elevada supersaturação força uma rápida cristalização e forma somente prismas. À medida que a supersaturação diminui, o cristal dominante muda a forma para placas em forma de diamantes, depois para pirâmides e *tomahawks*, para finalmente desenvolver totalmente no cristal, demonstrando uma variedade de formatos (HOLSINGER, 1988).

De acordo com David *et al.* (2003), a estrutura de muitos compostos cristalinos obtidos a partir da suspensão cristalizada demonstra a presença de pequenos cristais aglomerados ou cristais. Estes dois mecanismos ocorrem paralelamente, ampliando o processo da cristalização ou da precipitação. Após a formação do núcleo, se a supersaturação é elevada, o crescimento do cristal ou do

aglomerado pode se dar de forma individualizada ou através da fixação em outra partícula, surgindo a aglomeração.

SHI, HARTEL e LIANG, (1989) concluíram que cada cristal cresce à sua inerente taxa constante, mas diferentes cristais possuem diferentes taxas de crescimento. É geralmente aceito que a rápida cristalização produz pequenos cristais (FOX e MCSWEENEY, 1998; NICKERSON, 1974).

De acordo com EARLY (1998), o conteúdo de lactose do leite condensado adoçado está acima do nível de saturação, dando origem ao desenvolvimento de cristais de  $\alpha$ -lactose monohidratada. Cristais de lactose maiores que  $25\mu\text{m}$  em tamanho dão ao produto uma textura arenosa a qual é percebida como um defeito do produto, então o leite condensado adoçado é semeado com lactose de cerca de  $10\mu\text{m}$  de tamanho. A semeadura assegura o crescimento controlado dos cristais de lactose, com a maioria ( $> 90\%$ ) apresentando tamanho igual ou inferior a  $10\mu\text{m}$  e o restante abaixo de  $25\mu\text{m}$ . Se tamanho dos cristais nos produtos alimentícios for maior que  $10\mu\text{m}$  a  $16\mu\text{m}$  eles podem ser detectados sensorialmente e criar o defeito da "arenosidade" (FOX, 1997; GÄNZLE *et al.*, 2008). HUNZIKER (1934) afirma que a ausência de arenosidade é obtida quando existem mais que  $4 \times 10^8$  cristais. $\text{mL}^{-1}$ , correspondendo a um tamanho dos cristais de  $10\mu\text{m}$ , enquanto que Walstra e Jenness (1984) afirmam que para evitar a sensação arenosa, isto implica na existência de  $10^9$  cristais. $\text{mL}^{-1}$ . HUI (1993b) afirma que, se cristais maiores que  $15\mu\text{m}$  se desenvolvem, o produto apresenta o defeito da textura, que é perceptível quando o produto é consumido. Para evitar esta não conformidade, a inoculação com cristais de lactose em pó (0,5kg/1 ton de leite) é usada e o processo é completado com um rápido resfriamento e simultânea agitação. Em consequência, são formados mais que  $4 \times 10^{11}$  cristais. $\text{mL}^{-1}$ , cujo tamanho não ultrapassa  $10\mu\text{m}$ . A inoculação também poderia ser feita adicionando 0,5% de leite desnatado em pó, anteriormente centrifugado com 1% leite condensado adoçado, ou 0,2% a 0,3% de soro em pó.

Kreveld e Michaels (1965), observaram que a taxa de crescimento das faces individuais dos cristais de lactose em solução aquosa, assim como em produtos lácteos, foi diferente das obtidas em água devido à presença de outros solutos no meio, assim como a presença ou ausência de aditivos e/ou inibidores. Walstra e Jenness (1984) destacaram que dois inibidores merecem consideração especial: a  $\beta$ -lactose exerce um potente efeito inibidor e na maioria das condições encontra-se

em grande concentração no leite; e o monofosfato de lactose, que possui uma afinidade muito maior pelo cristal de  $\alpha$ -hidrato que pela própria  $\alpha$ -lactose, mas atrasa consideravelmente a formação do cristal, atuando especialmente como inibidor em supersaturação baixa; quando não está presente, a nucleação espontânea acontece numa supersaturação mais baixa, por exemplo, a 10%. Ainda de acordo com os autores, outro componente lácteo com caráter inibidor da cristalização é a riboflavina.

A concentração de  $\alpha$ -lactose, a supersaturação e a forma do cristal são importantes fatores que influenciam o efeito de um aditivo sobre o crescimento, retardo ou ausência de efeito sobre o cristal (TWIEG e NICKERSON, 1968; NICKERSON e MOORE, 1974). No trabalho conduzido por LIFRAN *et al.*, (2007) utilizando o grau farmacêutico da lactose, à temperatura de 30°C o valor da constante taxa de crescimento do cristal diminuiu com o aumento da concentração do fosfato de lactose (FL), enquanto que a riboflavina produziu mudanças comparáveis ao fosfato de lactose, em relação ao crescimento e tamanho dos cristais.

Nos experimentos preliminares realizados por Visser (1980), foram utilizadas diversas soluções elaboradas com a mesma lactose (grau farmacêutico) sob as mesmas condições, excetuando o fornecedor. Os resultados apresentaram diferentes velocidades de crescimento para cada uma das quatro faces individuais dos cristais estudados, o que estimulou investigações posteriores, concluindo sobre a existência de uma substância de caráter ácido que retarda o crescimento dos cristais de  $\alpha$ -lactose hidratada.

Jelen e Coulter (1973) demonstraram ainda que a presença de “impurezas” ou produtos químicos usados como aditivos para alimentos em produtos lácteos podem inibir ou acelerar o crescimento dos cristais, alterar o formato ou até mesmo não exercer nenhum efeito. Aditivos tais como gelatina e várias gomas marinhas e vegetais em sorvete, causam um retardo significativo (FOX, 1997). Sistemas contendo carragena inibem a cristalização (KOUASSI, JOUPELLA e ROSS, 2002). Na presença de impurezas, os cristais de lactose tendem a ser irregulares e agregados, ao invés das características obtidas a partir das soluções de lactose puras (NICKERSON, 1962). Géis podem promover um “ambiente protetor” apresentando, contudo, um mecanismo de controle para a taxa de cristalização

assim como uma uniformidade dos cristais (ZENG, MARTIN, MARRIOT e PRITCHARD, 2000a).

Os compostos alcalinos são destrutivos aos carboidratos, e parece que alguns dos produtos de degradação tornam-se inibidores da cristalização (NICKERSON e MOORE, 1974).

Recentemente, novos métodos para a avaliação da qualidade dos alimentos têm sido desenvolvidos. Entre estas técnicas, a vídeo-microscopia e o método de análise de imagens tem sido cada vez mais utilizado para entender e quantificar as dinâmicas mudanças ocorridas ao nível microestrutural. Duas importantes vantagens destes métodos são (1) eles reduzem os instrumentos introduzidos por outras técnicas e (2) a observação pode ser continuamente gravada *in situ* (ARELLANO, AGUILERA e BOUCHON, 2004). Conforme citado por Stanley *et al.* (1998), a microscopia é provavelmente a técnica mais amplamente utilizada para a caracterização da estrutura em alimentos, especialmente aqueles com conteúdos cristalinos.

Adicionalmente ao processo de microcristalização, outras metodologias tecnológicas identicamente destinadas ao controle da cristalização da lactose nos produtos lácteos foram estudadas. A hidrólise total ou parcial da lactose pela adição direta da enzima  $\beta$ -D-galactosidase (EC 3.2.1.23) ao leite que será destinado ao processamento mostrou-se eficiente, embora a sua aplicabilidade na rotina de fabricação seja limitada pelo elevado custo do produto (KISZA, *et al.*, 1973; VALLE e FIGUEIREDO, 1980; COELHO, *et al.*, 1982; SABIONI, *et al.*, 1984; SILVA, *et al.* 1984, GIEC *et al.*, 1987).

Outra metodologia baseada no efeito da referida enzima, de forma indireta, é a obtida através da fermentação microbiana. Sabioni *et al.*, (1984) pesquisaram a sua aplicabilidade em doce de leite através do crescimento da levedura *Kluyveromyces lactis*, cujos resultados evidenciaram uma discreta alteração sensorial relativa odor característico da fermentação tipo pão no produto final, além das desvantagens relacionadas ao risco de contaminação durante o crescimento da levedura no leite e o aumento no tempo de fabricação.

Uma patente americana de 1991 descreve a produção de leite condensado adoçado em forma liofilizada, prolongando a vida de prateleira (FOX, 1997).

A lactose e a sua cristalização são extremamente importantes na fabricação e no armazenamento de diversos produtos lácteos (leite condensado, doce de leite, leite em pó, soro em pó, permeado de soro, etc). Os princípios da cristalização e no comportamento devem ser entendidos e aplicados no processamento destes derivados lácteos visando à obtenção de produtos estáveis de alta qualidade (FOX, 1997). A cristalização da lactose deve ser controlada em alimentos, tais como no leite condensado adoçado, para produzir um produto suave e viscoso. No entanto, deve ser prevenida em alimentos como sorvete e queijos processados para garantir o corpo e a textura desejados (NICKERSON e MOORE, 1974).

### **3 MATERIAL E MÉTODOS**

No contexto deste estudo, o uso do termo microscópico foi reservado somente às avaliações quanto ao tamanho e número de cristais de lactose presentes no produto. Esta observação visa diferenciar a possível interpretação quanto aos aspectos microbiológicos, tendo em vista a semelhança na escala pelo termo utilizado.

Todos os processamentos e análises foram realizados na Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais – EPAMIG no Centro de Pesquisa (CEPQ) do Instituto de Laticínios Cândido Tostes – ILCT/Laboratório de Pesquisas Físico-Químicas e Instrumental, localizado em Juiz de Fora, MG.

#### **3.1 Delineamento Experimental**

Empregou-se o delineamento inteiramente casualizado, tendo sido selecionadas oito diferentes marcas comerciais de leite condensado produzidas no país (tratamentos), por diferentes fabricantes, tendo como critérios de escolha a representatividade no mercado nacional e, principalmente, a disponibilidade no comércio local, tendo em vista a necessidade em realizar análises em três diferentes períodos (repetições, equivalentes aos diferentes lotes). O tempo médio de vida de prateleira no momento de aquisição das amostras foi de 3 a 4 meses, tendo em vista as informações repassadas pelas empresas quanto à melhor aceitação do consumidor correspondente a maior saída dos produtos do estabelecimento comercial.

Todas as marcas foram submetidas às análises microscópicas para tamanho e número de cristais de lactose, teores de umidade, lactose e sacarose (atributos), visando determinar e entender o comportamento dos cristais de lactose dentre as condições diferenciadas esperadas de processamento utilizadas pelas empresas fabricantes, uma vez que não existe um regulamento técnico oficial de identidade e qualidade no país para o leite condensado.

### 3.2 Microscopia

De acordo com a literatura, não existe uma técnica analítica oficial para as mensurações do tamanho e número dos cristais de lactose para o leite condensado. Portanto, para a realização dos trabalhos microscópicos foi adaptada a metodologia utilizada para a determinação do número e tamanho de cristais de lactose em doce de leite, de acordo com HOUGH *et al.* (1990), sendo a avaliação microscópica realizada em lente objetiva de 40x, independentemente do número de cristais presentes no campo microscópico.

Foram preparadas seis lâminas para avaliações microscópicas quanto às variáveis tamanho e número de cristais de lactose, relativas a cada repetição/marca do produto. A técnica de preparação das lâminas para a microscopia consistiu em abrir a embalagem do produto, cartonada ou de aço, e submeter o conteúdo à moderada agitação visando uniformizar a distribuição dos cristais de lactose. Este procedimento é de relevante importância, pois os cristais tendem a se acumular no fundo da embalagem durante o armazenamento (PERRONE *et al.*, 2008). Em seguida, pesou-se uma alíquota da amostra do produto, com massa aproximada de 0,003g a 0,004g, colocada sobre uma lâmina, com auxílio de uma balança analítica. Em seguida, colocou-se uma lamínula sobre o leite condensado, exercendo uma moderada pressão manual com a finalidade de formar um círculo cujo raio foi necessário para os cálculos posteriores.

Para cada lâmina, foram realizadas dez fotos de diferentes campos microscópicos aleatoriamente escolhidos, totalizando 60 exposições por repetição, 180 por marca. Em seguida, foram realizadas as mensurações dos dois maiores cristais presentes em cada campo, com referência ao comprimento do maior eixo visualizado, cujo comprimento é a característica mais relevante do ponto de vista sensorial. A média final entre os distintos campos, lâminas e repetições, definiu o valor do referido atributo. Posteriormente, efetuaram-se as contagens de todos os cristais presentes em cada campo, sendo registradas de modo semelhante, as médias obtidas para o número de cristais. Este procedimento foi realizado para cada uma das repetições.

As visualizações microscópicas foram realizadas com o auxílio do microscópio óptico modelo Microscópio Trinocular NOVA 107-T da marca Nova Optical Systems, utilizando a ocular de dez vezes e objetiva de 40x, contendo uma

máquina fotográfica acoplada, em conexão a um computador contendo o programa MSI Ima Win, para o registro fotográfico, mensuração do tamanho e contagem do número dos cristais de lactose.

A contagem média do número de cristais de lactose por grama, para cada campo microscópico, é realizada mediante a utilização da seguinte fórmula:

$$N = \frac{nF \times \pi \times R^2}{F \times W}$$

Sendo:

N = número de cristais por grama de leite condensado;

nf = média do número de cristais observados (10 campos);

$\pi = 3,1416$

R = raio da amostra (mm);

F = área do campo microscópico (mm<sup>2</sup>);

W = massa da amostra de leite condensado;

Os resultados das análises microscópicas foram registrados, conforme o modelo simplificado apresentado na Figura 9.

### 3.3 Análises físico-químicas

A metodologia gravimétrica foi utilizada para a análise do teor de umidade, de acordo com Pereira *et al.* (2000), enquanto que, para os teores de lactose e sacarose foram realizadas segundo Wolfshoon-Pombo e Casagrande (1982), todas em duplicata, para cada repetição, utilizando o resultado médio.

### 3.4 Estatística

Os resultados obtidos foram analisados por meio de estatística descritiva, Análise de Variância (ANOVA), Teste de Tukey para a comparação de médias “a posteriori” e coeficiente de correlação, utilizando o software SAEG (2007). Visando facilitar a análise e interpretação dos dados obtidos foi realizada a transformação

das contagens de cristais de lactose para o logaritmo base 10 (Log 10), tendo em vista os resultados absolutos serem expressos em milhões.

<b>MARCA 1 - 1ª REPETIÇÃO</b>									
Lâmina 1	Número de cristais de lactose	Tamanho dos cristais (µm)		Lâmina 2	Número de cristais de lactose	Tamanho dos cristais (µm)			
Média				Média					

Diâmetro (mm)	
Massa amostra (g)	
Nº cristais/grama	

Diâmetro (mm)	
Massa amostra (g)	
Nº cristais/grama	

<b>Consolidado da repetição (6 lâminas)</b>	
Média do tamanho	Média do número/g

FIGURA 9. Modelo da planilha (simplificada), para registro das análises microscópicas para cada marca e repetição.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O estudo do comportamento microscópico dos cristais de lactose nos leites condensados, associados aos teores de umidade, lactose e sacarose, permitem um melhor entendimento sobre a eficiência da etapa de microcristalização (nucleação secundária) a que o produto foi submetido, assim como estimar a qualidade e a quantidade dos cristais que serão formados ao longo da vida de prateleira. Ou seja, com auxílio da determinação do grau de saturação da solução final, é possível prever a intensidade de formação dos cristais durante o armazenamento. Este conhecimento reveste-se de fundamental importância para o controle de qualidade do produto, cujo objetivo é evitar a arenosidade.

A cristalização da lactose é influenciada pela combinação de inúmeros fatores. Assim, optou-se por iniciar a discussão dos resultados de forma individualizada para cada atributo, relacionando-o primeiramente às oito marcas (valores médios), objetivo central do estudo. Adicionalmente, realizou-se a mesma análise relativa às 24 amostras, tendo em vista as variações encontradas para um mesmo estabelecimento fabricante. Embora as avaliações intramarcas não tenham sido contempladas no presente estudo, a observação dos valores obtidos proporcionou uma discussão favorável a posteriores investigações.

O estudo de cada atributo isoladamente facilitou a compreensão quanto a influência no mecanismo da cristalização. Isto simplificou a posterior discussão e entendimento dos resultados obtidos no produto final, pois a interação é que define as reais condições quanto ao aparecimento ou não do defeito da arenosidade, embora a avaliação não tenha contemplado o acompanhamento do processo de fabricação dos produtos nos locais de produção. Ao final, foi realizada a interpretação conjunta dos atributos por marca (valores médios), objetivo principal deste estudo.

A composição média dos leites condensados quanto aos atributos estudados é apresentada na Tabela 5.

TABELA 5. Valores médios para tamanho e número de cristais de lactose, teores de umidade, lactose e sacarose em oito marcas de leite condensado (n = 24).

Marca	Tamanho dos cristais de lactose ( $\mu\text{m}$ )	Número de cristais de lactose $\cdot \text{g}^{-1}$ (Log10)	Umidade ( $\text{g} \cdot 100\text{g}^{-1}$ )	Lactose ( $\text{g} \cdot 100\text{g}^{-1}$ )	Sacarose ( $\text{g} \cdot 100\text{g}^{-1}$ )
1	12,13	8,71	26,36	10,72	45,75
2	16,93	8,50	26,68	10,52	48,58
3	12,10	8,87	26,59	10,87	44,84
4	20,00	8,19	25,07	10,37	47,84
5	18,60	8,05	29,73	10,65	46,66
6	17,26	7,59	25,39	6,95	45,56
7	22,50	8,10	26,75	9,73	41,80
8	23,36	7,69	27,72	11,46	50,83
Média	17,86	8,18	26,79	10,16	46,48

A análise de variância relativa aos teores de umidade, lactose e sacarose não resultou em diferença estatisticamente significativa ( $p > 0,05$ ).

#### 4.1 Tamanho dos cristais de lactose

De acordo com Fox (1997) e Gänzle *et al.* (2008), os núcleos de lactose que são adicionados na etapa de microcristalização e que induzem a nucleação secundária, devem possuir no máximo  $16\mu\text{m}$ . Esta restrição ao tamanho é um dos fatores que contribuem para a formação de pequenos cristais de lactose sensorialmente imperceptíveis ao consumo, ao longo de todo o prazo de validade do leite condensado, resultando em um produto de textura lisa. Assim, de acordo com a Tabela 5, apenas 25% das marcas (1 e 3), apresentaram valores médios inferiores ao limite. Isto indica um bom controle do processo de microcristalização realizado por estas marcas, pois os produtos já possuíam aproximadamente um a cinco meses de validade. Em complemento, 75% das marcas (2, 4, 5, 6, 7 e 8) apresentaram valores superiores a  $16\mu\text{m}$ , indicando que possuem condições favoráveis ao desenvolvimento de grandes cristais de lactose.

Adicionalmente, Early (1998) declara que o limite de percepção sensorial para o tamanho do cristal de lactose no produto é a partir de  $25\mu\text{m}$ . Tendo em vista que os produtos analisados já possuíam pelo menos 30 dias de vida de prateleira, as

interpretações do presente estudo se enquadram neste valor. Observa-se pela Tabela 5, portanto, que 100% das marcas apresentam valores inferiores ao limite estabelecido, resultando numa avaliação favorável quanto a inexistência de grandes cristais e, em consequência, à ausência do defeito da arenosidade.

A análise estatística descritiva para o atributo tamanho dos cristais é apresentado na Tabela 6, relativo às 24 amostras.

TABELA 6. Resultados para tamanho de cristais de lactose (n = 24)

Variável	Média geral	Desvio padrão	Erro padrão	Coefficiente de variação (%)	Valor máximo	Valor mínimo	Referência
Tamanho dos cristais de lactose ( $\mu\text{m}$ )	17,86	4,68	0,95	26,25	27,10	9,50	25 $\mu\text{m}$ (EARLY, 1998)

O valor médio é inferior ao indicado para a percepção sensorial (25  $\mu\text{m}$ ). No entanto, o coeficiente de variação de 26,25% evidencia condições favoráveis entre as amostras quanto ao aparecimento do defeito da arenosidade, como pode ser constatado pela 12<sup>a</sup>, 19<sup>a</sup> e 24<sup>a</sup> amostras, cujos valores apresentaram-se superiores ao de referência. De acordo com o Anexo I, percebe-se que 87,5% das amostras apresentaram valores inferiores ao limite de percepção sensorial para o tamanho de 25 $\mu\text{m}$ , excetuando a 12<sup>a</sup>, 19<sup>a</sup> e 24<sup>a</sup> amostras, evidenciando uma variabilidade no processamento para um mesmo fabricante.

Por meio da análise de variância foi possível constatar que há efeito estatisticamente significativo ( $p = 0,0010$ ) entre as marcas para o tamanho dos cristais de lactose, o que ratifica a variabilidade encontrada pelo coeficiente de variação e indica a falta de uniformidade deste atributo dentre as marcas e amostras analisadas. Isto pode ser visualizado na Figura 10.

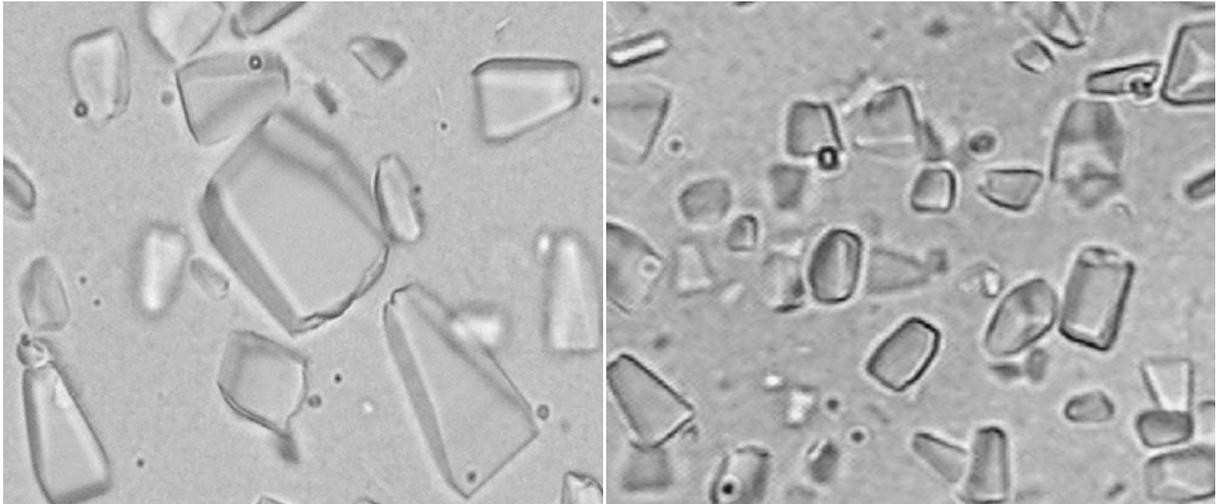


FIGURA 10. Microcristais de lactose em duas amostras distintas de leite condensado (aumento de 400x).

Ao serem analisadas as médias, por intermédio do teste de Tukey, as diferenças entre as marcas foram demonstradas, tal como se observa na Tabela 7.

TABELA 7. Tamanho dos cristais de lactose por marca de leite condensado (n = 8)

Marca	Tamanho médio dos cristais de lactose ( $\mu\text{m}$ )	
8	23,36	a
7	22,50	a
4	20,00	ab
5	18,60	ab
6	17,26	ab
2	16,93	ab
1	12,13	b
3	12,10	b

Médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Pode-se inferir pela Tabela 7, que existe diferença significativa para o atributo tamanho dos cristais, entre as marcas de leite condensado. Este resultado confirmou a hipótese inicialmente levantada durante o planejamento da pesquisa, pois as análises consistiram na avaliação de marcas oriundas de diferentes estabelecimentos fabricantes. Adicionalmente, deve ser levado em consideração

também, que a legislação vigente para o leite condensado não contempla este atributo, inexistindo, portanto, uma identidade para o produto.

#### 4.2 Número de cristais de lactose

De acordo com Hui (1993b), para evitar o desenvolvimento do defeito da arenosidade, o número de cristais de lactose deve ser de, pelo menos,  $4 \times 10^{11}$  cristais por  $\text{cm}^3$  de produto, equivalente ao valor 11,60 (Log10). A análise dos valores médios, de acordo com a Tabela 5, demonstra que 100% das marcas apresentaram valores inferiores ao de referência para a contagem de cristais. Esta constatação indica um aumento na probabilidade do desenvolvimento de grandes cristais sensorialmente perceptíveis ao consumo do produto, os quais podem ser formados ao longo do armazenamento, em todas as marcas.

A análise estatística descritiva para o atributo número de cristais de lactose por grama de leite condensado é apresentada na Tabela 8, relativo às 24 amostras.

TABELA 8. Resultados para número de cristais de lactose (n = 24)

Variável	Média geral	Desvio padrão	Erro padrão	Coefficiente de variação (%)	Valor máximo	Valor mínimo	Referência
Número de cristais de lactose.grama de leite condensado <sup>-1</sup> (Log 10)	8,17	0,53	0,10	6,55	8,95	7,08	11,6 (HUI, 1993b)

O valor do coeficiente de variação obtido indica uma pequena variação em comparação ao atributo tamanho dos cristais. No entanto, por meio da análise de variância verificou-se que há efeito estatisticamente significativo ( $p = 0,0007$ ) entre as marcas para o número de cristais de lactose. Ao serem analisadas as médias, por intermédio do teste de Tukey, as diferenças entre as marcas foram demonstradas, tal como se observa na Tabela 9.

TABELA 9. Número de cristais de lactose por marca de leite condensado (n = 8)

Marca	Número médio de cristais de lactose (Log 10)	
3	8,87	a
1	8,71	a
2	8,50	ab
4	8,19	abc
5	7,99	abc
7	7,97	abc
8	7,68	bc
6	7,50	c

Médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Pode-se inferir pela Tabela 9, que as marcas 1 e 3 diferem significativamente da marca 6. De modo idêntico ao atributo anteriormente estudado, este resultado confirmou a hipótese inicialmente levantada durante o planejamento da pesquisa, pois as análises consistiram na avaliação de marcas oriundas de diferentes estabelecimentos fabricantes. Como a legislação vigente para o leite condensado também não contempla o presente atributo, variações intermarcas são esperadas.

Ao serem comparados os resultados obtidos nas Tabelas 7 e 9, observa-se que as marcas mantiveram uma relativa correspondência entre os maiores valores para tamanho dos cristais com as menores quantidades destes, sendo o oposto verdadeiro.

Uma reduzida adição de microcristais de lactose durante a etapa de microcristalização pode resultar nas baixas contagens observadas, o que justificaria os valores obtidos, principalmente pelo fato de que o teor de lactose natural do leite praticamente não apresenta variações significativas. Isto dificulta a supersaturação da solução, condição esta essencial à cristalização controlada da lactose. A menor quantidade de cristais permite que alguns núcleos se solubilizem e possam migrar até outros núcleos mais desenvolvidos, formando aglomerados e, posteriormente, organizando-se em cristais.

### 4.3 Teor de umidade

De acordo com a Tabela 5, os valores médios demonstram que o maior teor de umidade encontrado foi de  $29,73\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$  (marca 5). Isto significa que o menor teor de sólidos totais encontrado corresponde a 70,27%. De acordo com Early (1998), acima de 40% de sólidos totais aumenta-se a probabilidade de ocorrer a cristalização da lactose, o que corresponde a valores inferiores a  $60\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$  de umidade. A concentração do leite é uma etapa importante que influencia diretamente o controle deste atributo. Desta forma, 100% das marcas estudadas apresentaram teores de umidade favoráveis ( $< 60\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$ ) para que a cristalização aconteça, o que é desejável, desde que seja controlado.

A análise de variância relativa aos teores de umidade não resultou em diferença estatisticamente significativa ( $p > 0,05$ ).

A análise estatística descritiva para o teor de umidade é apresentado na Tabela 10, relativo às 24 amostras.

TABELA 10. Resultados para o teor de umidade (n = 24)

Variável	Média geral	Desvio padrão	Erro padrão	Coefficiente de variação (%)	Valor máximo	Valor mínimo	Referência
Teor de umidade ( $\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$ )	26,78	1,92	0,39	7,18	31,87	23,67	< 60 (EARLY, 1998)

A situação é idêntica quando se avalia todas as amostras, onde a marca 5 apresentou o maior teor de umidade ( $31,87\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$ , terceira repetição), o que corresponde a  $68,13\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$  de sólidos totais, demonstrando também que 100% das marcas apresentaram condições favoráveis de umidade para que a cristalização ocorra. A etapa de evaporação influencia diretamente o teor de umidade do produto e, em consequência, na atividade de água, no teor de sólidos totais e na viscosidade. Este último pode também influenciar na percepção sensorial do defeito da arenosidade. Considerando que a supersaturação da lactose é uma condição essencial para a cristalização, a redução no teor de umidade durante a fabricação do leite condensado favorecerá o processo.

#### 4.4 Teores de lactose

De acordo com Hui (1993b), teores de lactose superiores a  $10\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$  no leite condensado favorecem a cristalização da lactose. Observa-se, portanto, de acordo com a Tabela 5, que 75% das marcas estudadas (1, 2, 3, 4, 5 e 8), apresentam valores médios superiores ao de referência. Isto significa que estes produtos encontram-se supersaturados em lactose, ou seja, existe um excesso de soluto no meio que não consegue manter-se estável na forma solubilizada, favorecendo a mudança de fase. Desta forma, o material excedente precipita e formam-se os núcleos, iniciando a formação de um cristal. A taxa de crescimento aumenta com o aumento da supersaturação.

A adição dos microcristais de lactose durante a fabricação tem como objetivo o favorecimento do processo de cristalização, pois além de supersaturar a solução, servirão de núcleos, facilitando a interação com as moléculas de lactose solubilizadas. No entanto, 25% das marcas (6 e 7), apresentaram valores médios inferiores ao de referência. Neste caso, a possibilidade de formação de grandes cristais sensorialmente perceptíveis ao consumo é facilitada.

A análise de variância relativa aos teores de lactose não resultou em diferença estatisticamente significativa ( $p > 0,05$ ).

A análise estatística descritiva para o teor de lactose é apresentado na Tabela 11, relativo às 24 amostras.

TABELA 11. Resultados para o teor de lactose ( $n = 24$ )

Variável	Média geral	Desvio padrão	Erro padrão	Coefficiente de variação (%)	Valor máximo	Valor mínimo	Referência
Lactose ( $\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$ )	10,15	1,88	0,38	18,60	12,44	5,03	> 10 (HUI, 1993b)

Observa-se que apenas 62,5% das amostras apresentaram valores superiores ao de referência, demonstrando, portanto, uma redução no número de amostras que apresentam possibilidades de cristalização da lactose. É interessante observar o mesmo comportamento já discutido nos atributos anteriores, ou seja, a variação existente nos teores relativos para uma mesma marca. Neste caso, 37,5% das marcas 1 (repetição 3), 2 (repetição 3), 3 (repetição 3), 4 (repetição 3), 5

(repetição 3), 6 (todas) e 7 (repetição 3) apresentaram valores inferiores ao de referência, significando a possibilidade de formação de grandes cristais.

De acordo com o valor médio apresentado na Tabela 11 para o teor de lactose, percebe-se que o leite condensado apresentou condições favoráveis à cristalização da lactose devido ao teor de  $10,15\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$ . É importante destacar ainda, conforme o valor mínimo apresentado, a possibilidade da não cristalização da lactose nas amostras 6 e 7, tendo em vista a insaturação da solução devido aos valores inferiores a  $10\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$  (HUI, 1993b).

#### **4.5 Teores de sacarose**

De acordo com Hui (1993b), a presença de concentrações de sacarose próximas a  $40\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$  favorecem a indução da cristalização da lactose no leite condensado. De acordo com a Tabela 5, 100% dos valores médios são superiores ao de referência, indicando, a exemplo de alguns atributos anteriores, condições favoráveis à cristalização controlada da lactose no produto, devido a maior solubilidade em água da sacarose em comparação a lactose. Em consequência, é importante destacar o elevado percentual encontrado na marca 8 ( $50,83\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$ ) cujo valor encontra-se muito superior ao necessário. Como a solubilidade da sacarose em água é maior, haverá a supersaturação da lactose no meio favorecendo a mudança desta da fase de solúvel para cristal, tornando-se mais estável.

A análise de variância relativa aos teores de sacarose não resultou em diferença estatisticamente significativa ( $p > 0,05$ ).

A análise estatística descritiva para o teor de sacarose é apresentado na Tabela 12, relativo às 24 amostras.

TABELA 12. Resultados para o teor de sacarose (n = 24)

Variável	Média geral	Desvio padrão	Erro padrão	Coefficiente de variação (%)	Valor máximo	Valor mínimo	Referência
Sacarose (g.100g <sup>-1</sup> )	46,48	7,50	1,53	16,13	65,76	39,99	> 40 (HUI, 1993b)

Observa-se que 95,8% das amostras apresentam valores superiores ao da referência, para o teor de sacarose. Novamente, percebe-se a ocorrência da variabilidade do processo de fabricação que ocorre numa mesma marca, apresentando valor inferior ao de referência. Dessa forma, 4,1% das amostras apresentaram esta condição (marca 3, repetição 2). Continuando a análise dos valores superiores ao de referência, as amostras 3 (marca 1), 3 (marca 2), 3 (marca 3), 3 (marca 4), 3 (marca 5), 2 (marca 6), 3 (marca 8), apresentaram destacados teores de sacarose, o que permite supor a formação de cristais deste carboidrato simultaneamente aos de lactose, embora não tenha sido constatado nas fotografias.

#### 4.6 Análise de correlação

Com o objetivo de verificar a existência de comportamentos associados entre os atributos, foi realizada a análise de correlação. Encontrou-se correlação significativa positiva ( $p < 0,021$ ,  $n = 24$ ) entre o teor de lactose e o número cristais de lactose, significando que o segundo atributo é influenciado diretamente pelo primeiro. Elevados teores de lactose no leite condensado favorecem a formação de maior número de cristais, devido à supersaturação da solução que, associada à nucleação secundária (induzida), possibilita a formação de cristais de menor tamanho, o que é plenamente desejável no produto. O raciocínio oposto, um menor valor para o teor de lactose, possibilitará a formação de um menor número de cristais do referido carboidrato devido à insaturação da solução. Esta condição predispõe à obtenção de grandes cristais sensorialmente perceptíveis pelo consumidor, resultando no defeito da arenosidade. Estas observações estão em concordância com a literatura e foram discutidas anteriormente, na análise individual de cada um dos atributos.

#### **4.7 Avaliação dos atributos microscópicos**

De acordo com os valores das referências utilizadas e valores médios obtidos, o presente estudo demonstrou que 75% das marcas (1, 2, 3, 4, 5 e 8) de leite condensado analisadas apresentaram condições favoráveis à cristalização controlada da lactose, significando a ausência da formação de grandes cristais de lactose sensorialmente perceptíveis, tornando-os aptos ao consumo do ponto de vista microscópico. Estes resultados podem ser relacionados às interações proporcionadas pelo reduzido tamanho dos cristais de lactose, ao baixo teor de umidade, à saturação da lactose (exceto às marcas 6 e 7) e da sacarose em solução, permitindo o desenvolvimento adequado dos cristais ao longo do tempo de armazenamento. O baixo teor de lactose encontrado nas marcas anteriormente mencionadas possibilita o aparecimento do defeito da arenosidade ao longo da vida de prateleira, tendo em vista a grande diferença apresentada em relação ao limite de referência. Isto indica uma menor saturação da solução, o que aumenta a probabilidade de formação de poucos cristais com tamanhos perceptíveis ao consumo. Desta forma, a avaliação geral sugere que a maioria das marcas apresenta condições favoráveis à ausência de defeito.

Para elucidar melhor o comportamento da cristalização nas marcas estudadas, foram realizados cálculos para o índice de sacarose e lactose em solução, mediante os teores analisados para umidade, lactose e sacarose (HUNZIKER, 1934; ALAIS, 1985; HUI, 1993b; QUEIROZ, 2008). Estes atributos traduzem o grau de saturação destes açúcares no meio, possibilitando estimar qual será o comportamento relativo à cristalização. Na Tabela 13 são apresentados os valores médios obtidos.

TABELA 13. Teores calculados de sacarose e lactose, em solução, a 25°C, por marca (n = 8)

ATRIBUTO	REFERÊNCIA	MARCA							
		1	2	3	4	5	6	7	8
Sacarose (g. 100g <sup>-1</sup> de solução)	62,5 a 64,5 (Hui, 1993b)	63,30	64,18	62,58	65,29	60,63	64,21	61,01	64,09
Lactose (g. 100g <sup>-1</sup> de solução)	27 a 31 (Hunziker, 1934)	28,89	28,27	29,02	29,27	26,43	21,21	26,64	29,25

Conforme mencionado no item 4.5, todas as marcas apresentaram teores de sacarose superiores ao de referência, permitindo deduzir a possibilidade de formação de cristas de sacarose nos produtos analisados. No entanto, por meio dos valores calculados para o teor de sacarose em solução, observa-se que esta hipótese é inválida para as marcas 1, 2, 3, 5, 6, 7 e 8, tendo em vista os valores obtidos estarem abaixo ou dentro da faixa de referência. Isto indica que nestes produtos não haverá a cristalização deste carboidrato devido à insaturação dos meios. Exceção deve ser feita à marca 4 que, por ter ultrapassado o valor de saturação, significa a possibilidade da formação de cristais de sacarose no leite condensado. Adicionalmente, uma elevada concentração de sacarose no produto indica uma elevada competição com a lactose pelas moléculas de água, o que favorece a cristalização do açúcar natural do leite, pois a sacarose apresenta maior solubilidade em água que a lactose. No entanto, as análises microscópicas não revelaram formas de cristais com diferentes geometrias que pudessem confirmar esta condição.

Conforme mencionado no item 4.4, as marcas 1, 2, 3, 4, 5 e 8 apresentaram valores para o teor de lactose acima do valor de referência. Ao analisar os teores deste açúcar em solução, conforme apresentado na Tabela 13, constata-se que as marcas 1, 2, 3, 4 e 8 apresentaram valores dentro da faixa de variação indicado pela literatura, correspondendo a saturação dos respectivos meios. Houve, portanto, uma correspondência entre os teores médios para composição centesimal e em solução, demonstrando condições favoráveis à cristalização da lactose. No entanto, ao analisar as marcas 5, 6 e 7, os teores do referido carboidrato em solução apresentaram valores inferiores ao de referência, indicando a insaturação da

solução e, conseqüentemente, significando um menor desenvolvimento do processo de cristalização. Uma importante consideração deve ser feita em relação à marca 5, cujos valores obtidos na composição centesimal média para o teor de lactose (acima da referência), e em solução (abaixo da referência) não corresponderam. Uma possível justificativa para explicar este fato, estaria relacionada ao maior teor médio de umidade encontrado nesta marca. A relação entre os atributos teor de lactose em solução e teor de umidade é inversa, portanto, quanto maior a segunda, menor será a primeira.

#### 4.8 Lactose cristalizável no produto

Com a finalidade de se conhecer qual seria a massa de lactose cristalizável por unidade do produto (395g), procedeu-se aos cálculos da solubilidade relativa da lactose em presença de sacarose (produto). De acordo com o trabalho realizado por Nickerson e Moore (1972), foi possível propor o modelo matemático, que resultou na equação de regressão linear  $y = -1,093x + 117,74$ , conforme a Figura 11.

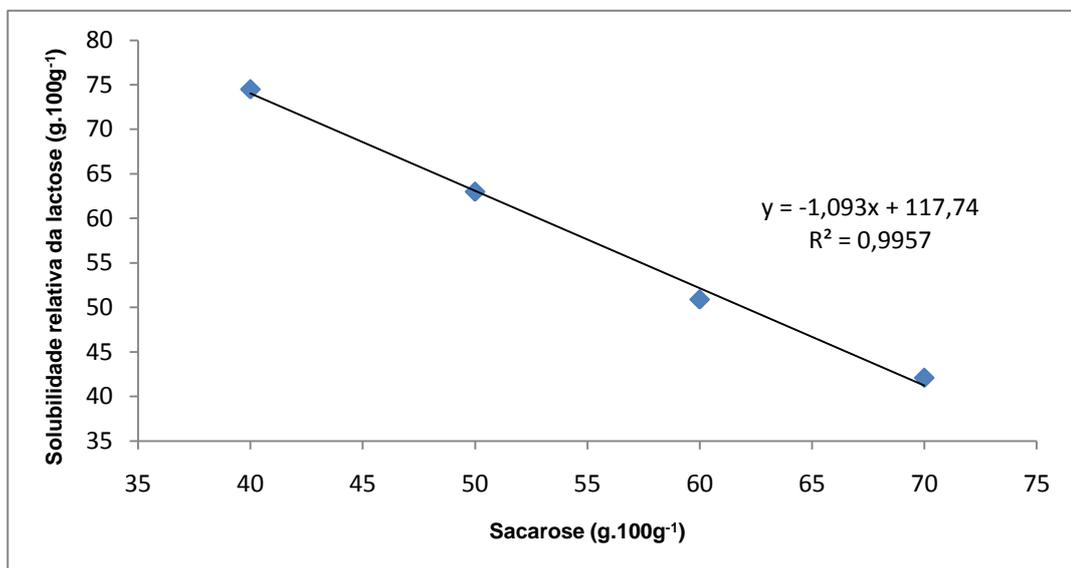


FIGURA 11. Regressão linear entre teor de sacarose e solubilidade relativa da lactose. Fonte: adaptado de Nickerson e Moore (1972).

Mediante os valores analisados para o teor de sacarose (eixo x), procedeu-se o cálculo para a determinação da solubilidade relativa da lactose, conforme apresentado na Tabela 14.

TABELA 14. Solubilidade relativa da lactose por marca, a 25°C

Marcas	Solubilidade relativa lactose (%) em presença de sacarose
1	48,55
2	47,59
3	49,34
4	46,38
5	51,47
6	47,56
7	51,06
8	47,69

Os valores obtidos concordam com os apresentados por Nickerson e Moore (1972), demonstrando nitidamente a diminuição da solubilidade da lactose em presença da sacarose.

A partir dos valores calculados para a massa de lactose ( $\text{g} \cdot 100\text{g}^{-1}$ ) de água no leite condensado, de acordo com Varnam e Sutherland (1994), da solubilidade da lactose a 25°C [ $22\text{g} \cdot 100\text{g}^{-1}$  de água na solução, Alais (1985)], foi determinado a solubilidade estimada da lactose em presença da sacarose, conforme apresentado na Tabela 15.

TABELA 15. Solubilidade calculada da lactose no leite condensado

Marcas	Solubilidade da lactose (g.100g <sup>-1</sup> )
1	10,68
2	10,47
3	10,85
4	10,20
5	11,32
6	10,46
7	11,23
8	10,49

De acordo os dados da Tabela 15, observa-se que as marcas 1, 2, 3, 4 e 8 apresentaram uma diminuição nos valores da solubilidade da lactose quando comparados aos valores apresentados na Tabela 5, em concordância com a influência da sacarose na redução da solubilidade da lactose (NICKERSON e MOORE, 1972). No entanto, as marcas 5, 6 e 7 apresentaram aumento nos valores obtidos, evidenciando o mesmo comportamento discutido para a Tabela 16, relativo a lactose em solução, tendo em vista o maior teor de umidade apresentado pela marca 5 e os menores teores de lactose (marcas 6 e 7).

Por meio da diferença entre a massa de lactose (g.100g<sup>-1</sup>) de água e os valores obtidos na Tabela 5 (teores de lactose obtidos em análise), determinou-se a massa estimada de lactose cristalizável em 100g de água no leite condensado, para cada marca, conforme apresentado na Tabela 16.

TABELA 16. Massa estimada de lactose cristalizável no leite condensado, por marca

Marcas	Lactose cristalizável (g.100g <sup>-1</sup> ) de água
1	30,18
2	29,00
3	30,15
4	31,26
5	24,70
6	17,01
7	26,22
8	30,93

O percentual estimado de lactose cristalizável no leite condensado é obtido pela relação destes valores (Tabela 15) com a massa de lactose (g.100g<sup>-1</sup> de água) calculada de acordo com Varnam e Sutherland (1994).

A massa de lactose cristalizável em 100g de leite condensado é obtida a partir do produto entre a massa cristalizável estimada e o valor do percentual de umidade analisado, convertendo o resultado, em seguida, para 395g. A Tabela 17 apresenta estes resultados.

TABELA 17. Massa de lactose cristalizável por unidade de leite condensado, por marca

Marcas	Massa de lactose cristalizável (g.395g <sup>-1</sup> )
1	31,42
2	30,56
3	31,66
4	30,95
5	29,00
6	17,06
7	27,70
8	33,86

Observando os valores obtidos, constata-se que a marca 8 apresentou o maior valor (33,6g.395g<sup>-1</sup>). Esta constatação pode ser justificada pelos atributos

tamanho de cristais, teor de lactose e teor de sacarose, cujos respectivos valores relativos à marca também se destacaram, concordando com os aspectos que favorecem à maior taxa de cristalização neste produto.

Comprova-se deste modo, que a formação de cristais de lactose no leite condensado é esperada e desejada, desde que controlada, variando em intensidade conforme os limites indicados pela literatura (atributos) sejam ou não respeitados.

Embora as avaliações intramarcas não tenham sido contempladas nos objetivos do estudo, as variações obtidas nos valores dos atributos estudados (superiores ou inferiores aos de referência), relativas ao mesmo estabelecimento fabricante, sinaliza a possibilidade de novas investigações visando aperfeiçoar o processo de microcristalização empregado. Esta variação pode ser constatada na consolidação dos resultados apresentados na Tabela 18, ao serem observados os valores mínimo, máximo e o coeficiente de variação obtidos por meio da estatística descritiva.

TABELA 18. Consolidação da estatística descritiva para tamanho e número de cristais de lactose, teores de umidade, lactose e sacarose (n = 24)

	Tamanho dos cristais de lactose ( $\mu\text{m}$ )	Número de cristais de lactose $\cdot \text{g}^{-1}$ produto (Log10)	Umidade ( $\text{g} \cdot 100\text{g}^{-1}$ produto)	Lactose ( $\text{g} \cdot 100\text{g}^{-1}$ produto)	Sacarose ( $\text{g} \cdot 100\text{g}^{-1}$ produto)
Média	17,86	8,18	26,79	10,16	46,48
Erro padrão	0,96	0,11	0,39	0,39	1,53
Desvio padrão	4,69	0,54	1,92	1,89	7,50
Mínimo	9,50	7,08	23,67	5,03	39,99
Máximo	27,10	8,95	31,87	12,44	65,76
Coeficiente de variação (%)	26,25	6,56	7,18	18,60	16,14
Referência	25 $\mu\text{m}$ (EARLY, 1998)	11,6 (HUI, 1993b)	< 60 (EARLY, 1998)	> 10 (HUI, 1993b)	> 40 (HUI, 1993b)

De acordo com os dados apresentados, observa-se que a maior amplitude de variação entre os atributos estudados foi para o tamanho dos cristais de lactose. Somente 12,5% das amostras apresentaram tamanhos acima de 25 $\mu\text{m}$ , demonstrando uma pequena diferença em relação à avaliação das marcas. Outro

importante resultado relacionado ao desenvolvimento dos cristais e a possibilidade de percepção do defeito da arenosidade pelo consumidor foi para o atributo número de cristais de lactose, onde 70,83% das amostras apresentaram contagens inferiores à referência. A combinação destes resultados (maior tamanho e menor quantidade de cristais de lactose) caracteriza a condução inadequada da etapa de microcristalização, aumentando a chance da ocorrência do defeito ao longo da vida de prateleira do produto. Em contrapartida, 62,5% das amostras apresentaram valores superiores ao de referência para o teor de lactose, demonstrando maiores probabilidades de inexistência do defeito. Em relação ao teor de sacarose, 33,33% das amostras evidenciaram concentrações no produto maiores que  $64,5\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$  (Hui, 1993b), correspondendo a 66,67% dos valores abaixo ao de referência. Estes resultados permitem inferir que em alguns dos produtos (amostras) estudados existiam condições favoráveis ao aparecimento do defeito durante o armazenamento. Os valores do coeficiente de variação encontrados para os teores de lactose e sacarose indicam uma variabilidade em um mesmo estabelecimento fabricante, principalmente pelo fato de que cada repetição foi realizada em três diferentes períodos (lotes de produção distintos), o que significa a possibilidade de ocorrência do defeito em determinados lotes, ao longo do período de validade do produto.

## 5 CONCLUSÕES

Baseado nas condições empregadas neste trabalho e nos resultados obtidos, pode-se concluir que:

- as análises microscópicas para o tamanho e número dos cristais de lactose contribuíram para a caracterização e avaliação da qualidade do leite condensado;
- a análise microscópica associada às análises dos teores de umidade, lactose e sacarose aumenta a exatidão na avaliação do processo de cristalização da lactose;
- a realização da microscopia mostrou-se simples e de fácil manuseio para a rotina do laboratório de controle de qualidade;
- a maioria (80%) das marcas analisadas apresentaram condições favoráveis à cristalização da lactose;
- houve diferença significativa entre as marcas de leite condensado para os atributos tamanho e número de cristais de lactose, indicando a importância da análise microscópica, assim como a falta de padronização dos produtos;
- os valores dos limites referenciados pela literatura e adotados no presente estudo para tamanho e número dos cristais de lactose, teores de umidade, lactose e sacarose, mostraram-se adequados ao controle de qualidade microscópico do leite condensado, sugerindo a sua adoção;

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALAIS, C. **Ciencia de la leche, principios de técnica lechera**. 4ª ed. Sevilla: Editorial Reverté S.A., 1985. 873p.

ARELLANO, M. P.; AGUILERA, J. M.; BOUCHON, P. Development of a digital video-microscopy technique to study lactose crystallisation kinetics in situ. **Carbohydrate Research**, v. 339, p. 2721-2730, 2004.

ARES, G., GIMENEZ, A. Influence of temperature on accelerated lactose crystallization in dulce de leche. **International Journal of Dairy Technology**, vol. 61, n. 3, p. 277-283, Aug. 2008.

BEMILLER, J.; WHISTLER, R. L. Carbohydrates. In: FENNEMA, O. R. **Food Chemistry**. 3ª ed. New York: Marcel Dekker, 1996. p. 158-223.

BOLANOWSKI, J. P. Controlled crystallization – Key to product quality. **Food Engineering**. v. 37, n. 12, p. 56-60, 1965.

BOBBIO, F. O.; BOBBIO, P. A. **Introdução à química de alimentos**. 2ª ed. São Paulo: Varela, 1992. 151 p.

BRASIL. Decreto n. 30.691 de 29 de março de 1952. **Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal**. Disponível em: <<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=gravarAtoPDFetipo=DECenuneroAto=00030691eseqAto=000evalorAno=1952eorgao=NlecodTipo=edesItem=edesItemFim=>>>. Acesso em: 27 setembro 2010.

BRASIL. Ministério do Desenvolvimento, Indústria e Comércio Exterior. Aliceweb2. **Balança Comercial de Leite e Laticínios, Ovos de Aves, Mel Natural, Produtos comestíveis de origem animal, não especificados e nem compreendidos em outros capítulos**. Disponível em: <<http://alicesweb2.mdic.gov.br/>>. Acesso em 09 fevereiro 2012a.

BRASIL. Ministério do Desenvolvimento, Indústria e Comércio Exterior. Aliceweb2. **04029900 Balança Comercial de outros leites, cremes de leite, concentrados, adoçados**. Disponível em: <<http://alicesweb2.mdic.gov.br/>>. Acesso em 09 fevereiro 2012b.

BRITO, A. B. N. **Estudo da cristalização de lactose em diferentes solventes**. 2007. 132f. Tese (Doutorado em Engenharia Química) – Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, São Paulo.

CARIC, M. **Concentrated and dried dairy products**. New York: VCH Publishers, Inc., 1994. 249 p.

CARVALHO, G. L.; YAMAGUCHI, L. C. T.; CARNEIRO, A. V. Lácteos: exportações seguem aquecidas mas desafios preocupam. **Panorama do Leite**. Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, ed. 23, 2008. Disponível em: <<http://www.cileite.com.br/panorama/produtos23.html>> Acessado em: 27 julho 2010.

CARVALHO, L. A. *et al.* Mercados e Comercialização. **Sistema de produção 2**, Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, 2002. Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Leite/LeiteCerrado/mercados.html>> . Acessado em 05 fevereiro 2012.

COELHO, E. B. B. *et al.* Utilização da beta-D-galactosidase no controle da cristalização do doce de leite. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 37, n. 221, p. 7-11, 1982.

DAVID, R.; ESPITALIER, F.; CAMEIRÃO, A. Developments in the understanding and modeling of the agglomeration of suspended crystals in crystallization from solutions. **KONA**, 21, p 40-53, 2003.

EARLY, R. (Ed.). **The technology of dairy products**. 2ª ed. London: Blackie Academic e Professional, 1998. 446p.

FOX, P. F. **Advanced Dairy Chemistry**. v.3, 2ª ed. London: Chapman e Hall, 1997. 536p.

FOX, P. F.; MCSWEENEY, P. L. H. **Dairy chemistry and biochemistry**. London: Blackie Academic e Professional, 1998. 446p.

GÄNZLE, M. G.; HAASE, G.; JELEN, P. Lactose: crystallization, hydrolysis e value-added derivatives. **International Dairy Journal**, v. 18, p. 685-694. 2008.

GIEC, A.; BIALUGA, N.; SKUPIN, J. Application of beta-galactosidase preparations in production of condensed milk. **Acta Alimentaria Polonica**. Poznan, v.11, n. 2, p. 215-224, 1987

HAASE, G.; NICKERSON, T. A. Kinetic reactions of alpha and beta lactose: I. Mutarotation. **Journal of Dairy Science**, v. 49, n. 2, p. 127-248, Feb. 1966a.

\_\_\_\_\_ Kinetic reactions of alpha and beta lactose: II. Crystallization. **Journal of Dairy Science**, v. 49, n. 7, p. 757-761, Jul. 1966b.

HERRINGTON, B. L. Some physico-chemical properties of lactose. IV. The influence of salts and acids upon the mutarotation velocity of lactose. **Journal of Dairy Science**, v. 17, n. 10, p. 659-670, Oct. 1934.

HUI, Yiu H (Ed.). **Dairy science and technology handbook: principles and properties**. Eureka: Wiley-VCH, 1993a, v. 1. 400p.

\_\_\_\_\_ **Dairy science and technology handbook: product manufacturing**. Eureka: Wiley-VCH, 1993b, v. 2. 435p.

HOLSINGER, V. H. Lactose. In: WONG N. P., JENNESS R., KEENEY M.; MARTIN E. H. (Eds). **Fundamentals of dairy chemistry**, 3<sup>a</sup> ed. New York: Van Nostrand Reinhold, 1988, p. 279-342.

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, n. 3, p. 604-611, Mar. 1990.

HUNZIKER, O. F. **Condensed Milk and Milk Powder**. 5. ed. Illinois: La Grange, 1934, 696p.

JELIN, P.; COULTER, S. T. Effects of certain salts and other whey substances on the growth of lactose crystals. **Journal of Food Science**, v. 38, Nr. 7, 1186-1189, Nov. 1973.

KISZA, J. *et al.* Essai d'utilisation de la beta-D-galactosidase pour la fabrication du lait condensé sucré. **Le Lait**, v. 53, n.527, p. 430-439, 1973.

KREVELD, A. V.; MICHAELS, A. S. Measurement of crystal growth of  $\alpha$ -lactose. **Journal of Dairy Science**, Champain, v. 48, n. 3, p. 259-265, Mar. 1965.

KOUASSI, K.; JOUPPILA, K.; ROOS, Y. H. Effects of *k*-carrageenan on crystallization and invertase activity in lactose-sucrose systems. **Journal of Food Science**, v. 67, n. 5, 2190-2195, Aug. 2002.

LEITE, J. L. B.; SIQUEIRA, K. B.; CARVALHO, G. R.; FORTES, L. R. L. S. O comércio mundial de lácteos e a participação brasileira. In: LEITE, J. L. B., *et al.* **Comércio internacional de lácteos**. Juiz de Fora: Templo Gráfica e Editora, 2008. p.11-28.

LIFRAN, E. V. *et al.* Crystallization kinetics of lactose in the presence of lactose phosphate. **Powder Technology**, 179, p. 43-54, 2007.

MARGAS, M. M. *et al.* Influência da gordura, da glicose e do amido na cristalização do doce de leite. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 37, n. 221, p. 25-29, 1982.

McLEOD, J. *et al.* Primary nucleation of alpha-lactose monohydrate: the effect of supersaturation and temperature. **International Dairy Journal**. v. 21, n.7, p. 455-508, Jul. 2011.

MONTES, E. J. M. *et al.* Dados de solubilidade da lactose em diferentes temperaturas. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 58, n. 333, p. 184-187, 2003.

MUIR, D. D. Lactose. **Journal of the Society of Dairy Technology**, Huntingdon Cams, v. 43, n. 2, p. 33-34, May, 1990.

MULLIN, J. W. **Crystallization**. 4 ed. New York/Oxford: Butterworth-Heinemann, 2001. 594p.

NICKERSON, T. A. Lactose crystallization in ice cream: I. Control of crystal size by seeding. **Journal of Dairy Science**, Champain, v. 37, n. 4, p. 1099-1105, Apr. 1954.

\_\_\_\_\_. Lactose crystallization in ice cream. IV. Factors responsible for reduced incidence of sandiness. **Journal of Dairy Science**, Champain, v. 45, n. 3, p. 354-359, Mar. 1962.

\_\_\_\_\_. Lactose. In: WEBB, B. H.; JOHNSON, A. H.; ALFORD, J. A. **Fundamentals of Dairy Chemistry**. Westport: AVI Publishing, 1974. v. 1, p. 273-324.

NICKERSON, T. A.; MOORE, E. E. Solubility interrelations of lactose and sucrose. **Journal of Food Science**. v. 37, n. 1, p. 60-61, jan. 1972.

\_\_\_\_\_. Factors influencing lactose crystallization. **Journal of Dairy Science**, Champain, v. 57, n. 11, p. 1315-1319, Nov. 1974.

NÝVLT, J. SÖHNEL, O.; MATUCHOVÁ, M.; BROUL, M. **The kinetics of industrial crystallization**. Amsterdam: Elsevier, 1985, 350p.

PATEL, K. N.; NICKERSON, T. A. Influence of sucrose on the mutarotation velocity of lactose. **Journal of Dairy Science**, Champain, v. 53, n. 12, p. 1654-1958, Dec. 1970.

PEREIRA, D. B. C., *et al.* **Físico-química do leite e derivados – Métodos analíticos**. 2 ed. Juiz de Fora: Oficina de Impressão Gráfica e Editora, 2000, 190p.  
PERRONE, I. T. **Efeito da nucleação secundária sobre a cristalização do doce de leite**. 2006. 49p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, Minas Gerais.

PERRONE, I. T., *et al.* Determinação do número e tamanho dos cristais de lactose em leite condensado proveniente de diferentes pontos da embalagem. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 63, n. 361, p. 31-34, mar./abr. 2008.

\_\_\_\_\_. PERRONE, I. T.; RENHE, I. R. T.; LIMA, B. R. In: RENHE, I. R. T.; PERRONE, I. T.; SILVA, P. H. F. **Leite condensado: identidade, qualidade e tecnologia**. ed. Tempo: Juiz de Fora, 2011, p. 79-108.

QUEIROZ, M. B., BRAÚNA, I. R. L., FADINI, A. L., KIECKBUSH, T. G. Solubilidade de equilíbrio de sacarose em misturas multicomponentes de açúcar. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 11, n. 1, p. 70-77, Jan/Mar 2008.

RAGHAVAN, S. L., *et al.* The bulk crystallization of  $\alpha$ -lactose monohydrate from aqueous solution. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 90, nº 7, Jul, 2001.

SABIONI, J. G. *et al.*. Control of lactose crystallization in Dulce de Leche by *Kluyveromyces lactis* fermentation. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 67, n. 8, p. 1694-1698, August 1984.

SAEG Sistema para Análises Estatísticas, Versão 9.1: Fundação Arthur Bernardes – UFV – Viçosa, 2007.

SANTOS, M. C. **Leite condensado** [mensagem pessoal]. Mensagem recebida por <depla.cgpe@mdic.gov.br> em 06 agosto 2010.

SANTOS, M. C., *et al.*. Avaliação de aspectos normativos do leite condensado brasileiro e no mundo. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 64, n. 369, p. 39-47, jul./ago. 2009.

SILVA, T. P. J., *et al.*. Utilização da beta-galactosidase no processo contínuo de fabricação do doce de leite homogeneizado. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 39, n. 232, p. 19-30, 1984.

SIQUEIRA, K. B., LEITE, J. L. B.; CARVALHO, G. R.; FORTES, L. R. L. S. O comércio internacional de leite condensado. In: LEITE, J. L. B., *et al.* **Comércio internacional de lácteos**. Juiz de Fora: Templo Gráfica e Editora, 2008. p.111-121.

SHI, Y.; HARTEL, R. W. LIANG, B. Formation and growth phenomena of lactose nuclei under contact nucleation conditions. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 72, n. 11, p. 2845-3115, November 1989.

STANLEY, D. W., *et al.*. Structure/property relationships of food as affected by processing and storage. In: **Phase/state transitions in foods: chemical, structural and rheological changes**. RAO, M. A.; HARTEL, Richard W. New York: Marcel Dekker, p. 1-56, 1998.

TWIEG, W. C.; NICKERSON, T. A. Kinetics of lactose crystallization. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 51, n. 11, p. 1720-1724, November 1968.

VALLE, J. L. E.; FIGUEIREDO, I. B. Utilização de beta-galactosidase para prevenir a cristalização do doce de leite. **Boletim ITAL**, v. 17, n. 3, p. 309-314, 1980.

VARNAM, Alan H.; SUTHERLAND, Jane P. **Leche y productos lácteos: tecnología, química y microbiología**. Zaragoza: Editorial Acribia, 1994. 476 p.

VISSER, R. A. A natural crystal growth retarder in lactose. **Netherlands Milk Dairy Journal**, v. 34, p. 255-275, 1980.

WALSTRA, Pieter, *et al.* **Ciencia de la leche y tecnología de los productos lácteos**. Zaragoza: Editorial Acribia, 2001. 729 p.

WALSTRA, Pieter; JENNESS, Robert. **Química y física lactológica**. Zaragoza: Editorial Acribia, 1984. 423p.

WALSTRA, Pieter, WOUTERS, Jan T. M.; GEURTS, Tom J.; **Dairy science and technology**. 2ª Ed. Boca Raton: CRC Press, 2006. 763 p.

WHITTIER, E. O. Lactose and its utilization: a review. **Journal of Dairy Science**, Champain, v. 27, n. 7, p. 505-528, July 1944.

WOLFSCHOON-POMBO, A.; CASAGRANDE, M. Nova técnica para a determinação da lactose e sacarose no doce de leite. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 37, n. 222, p. 3-7, 1982.

ZENG, X. M. *et al.*. Crystallization of lactose form carbopol gels. **Pharmaceutical Research**. v. 17, n. 7 p. 879-886, 2000a.

ZENG, X. M. *et al.*. The influence of crystallization conditions on the morphology of lactose intended for use as a carrier for dry powder aerosols. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**. v. 52, n. 6, p. 633-652, Jun. 2000b.

## ANEXO I

Resultados das análises microscópicas relativas ao tamanho e número de cristais de lactose, teores de umidade, lactose e sacarose, três repetições autênticas, em oito marcas de leite condensado (n = 24).

Marca	Tamanho dos Cristais ( $\mu\text{m}$ )	Número de Cristais.grama de produto (Log10)	Umidade ( $\text{g.100g}^{-1}$ )	Lactose ( $\text{g.100g}^{-1}$ )	Sacarose ( $\text{g.100g}^{-1}$ )
1	11,20	8,47	24,75	11,76	42,22
1	11,90	8,83	27,11	11,28	42,17
1	13,30	8,84	27,22	9,11	52,85
2	19,50	7,85	25,56	10,91	43,54
2	16,40	8,82	27,57	10,97	42,27
2	14,90	8,85	26,90	9,67	59,93
3	13,20	8,78	25,79	11,17	41,83
3	9,50	8,95	26,38	11,64	39,99
3	13,60	8,88	27,59	9,81	52,70
4	16,30	8,20	24,23	11,04	43,54
4	18,50	8,23	25,28	10,51	41,57
4	25,20	8,15	25,70	9,57	58,41
5	20,30	8,03	28,76	10,93	40,09
5	16,80	8,25	28,56	11,23	40,19
5	18,70	7,69	31,87	9,80	59,71
6	16,60	7,63	24,90	9,84	45,76
6	20,80	7,80	23,67	5,03	47,61
6	14,40	7,08	27,60	5,97	43,32
7	26,00	7,96	26,37	10,31	41,51
7	20,50	8,45	24,09	12,44	43,60
7	21,00	7,52	29,80	6,44	40,28
8	21,30	7,81	28,09	11,11	44,43
8	21,70	7,68	28,11	10,93	42,31
8	27,10	7,55	26,95	12,35	65,76