

Maio e Junho de 1981

VOL. XXVIII

N.º 157

Viçosa — Minas Gerais

UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA

EFEITO DA ACIDIFICAÇÃO E DO TRATAMENTO TÉRMICO DO LEITE NA CRISTALIZAÇÃO DO DOCE DE LEITE ^{1/}

Lélia R. Pinheiro de Sousa ^{2/}

Dilson Teixeira Coelho ^{2/}

Adão José Rezende Pinheiro ^{2/}

José Benício Paes Chaves ^{2/}

1. INTRODUÇÃO

«O doce de leite é o produto resultante da cocção de leite com açúcar, podendo ser adicionado de outras substâncias alimentícias, até concentração conveniente e parcial caramelização» (16). É usado principalmente como sobremesa, além de constituir matéria-prima para a indústria de balas, confeitos, etc.

A indústria de doce de leite é tipicamente latino-americana, sendo a Argentina e o Brasil os maiores produtores (8). Entretanto, outros países latinos, como a Itália, a Espanha, o México, o Uruguai e o Chile, são grandes consumidores (18). Produtos semelhantes, porém, denominados «Cajeta», no México, e «Keer», na Índia, têm sido obtidos pela concentração de leite e açúcar à pressão ambiente (12).

Apesar das várias modalidades de controle de cristalização, os produtos lácteos concentrados apresentam problemas durante o processamento, acondicionamento e armazenagem, em consequência da lactose. Tais fenômenos se devem à deficiência de água para manter a lactose em solução nas concentrações existentes ou, ainda, à adsorção de água pela lactose amorfa, que fornece uma concentração lábil para cristalização (3).

^{1/} Parte da tese apresentada, pelo primeiro autor, à Universidade Federal de Viçosa, para obtenção do grau de «Magister Scientiae».

Recebido para publicação em 30-01-1980.

^{2/} Departamento de Tecnologia de Alimentos da U.F.V. 36570 Viçosa, MG.

A cristalização forçada pela adição de minúsculos cristais de lactose ao concentrado, sob resfriamento (semeadura), visando à formação de inúmeros microcristais, imperceptíveis ao consumidor, é prática adotada pela indústria do leite condensado açucarado, sendo a cristalização minuciosamente controlada (6).

Embora o aumento do teor de lactose durante o processamento do doce de leite possibilite separá-lo, posteriormente, da solução saturada, como cristais, o que traz problema durante a armazenagem do produto, métodos de fabricação e equipamentos ainda rudimentares não permitem a utilização correta da semeadura, para contornar o problema da cristalização.

Alguns trabalhos foram realizados por pesquisadores brasileiros no sentido de minimizar esse problema (8, 18). RIBEIRO (17) descreve diversas soluções para evitar a areiosidade do doce de leite. Segundo HOSKEN (8), a adição de amido, embora aumente o rendimento e retarde a formação de cristais, altera as características do doce.

Mais recentemente, tem-se trabalhado com enzimas, mais especificamente a lactase, que reduz o teor de lactose no leite pela hidrólise desse dissacarídeo em glicose e galactose. Por se tratar de enzima importada, presume-se que venha a onerar o custo de produção do doce, além de requerer tecnologia mais sofisticada.

O objetivo deste trabalho foi estudar o problema da cristalização do doce de leite, mediante a redução do teor de lactose no leite, preservando-se as demais características organolépticas desejáveis no produto.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Preparo da Matéria-Prima

O trabalho foi realizado na Usina Piloto de Laticínios do DTA — UFV, utilizando-se 800 litros de leite uniformizado, proveniente de diversos produtores locais, em 3 repetições, elaboradas em 3 dias consecutivos. A padronização de gordura a 2% foi feita na padronizadora FRAU, tipo AM10/TX.

Para simular situações de contaminação da matéria-prima chegada à usina e acelerar o aumento da acidez até os níveis desejados, fez-se inoculação, à temperatura ambiente de 19°C, com 2% de mistura de cultura lática ativada, da Christian Hansen (*Streptococcus lactis* CH₁, *Streptococcus lactis* CH₂ e *Lactobacillus bulgaricus* CH₃).

Logo após inoculação e agitação, teve início a sequência de determinações de acidez titulável, visando à retirada de quatro porções de 40 litros de leite (unidades experimentais), dentro de cada nível de acidificação, 18, 20, 25 e 35°D. As determinações da acidez titulável foram realizadas segundo o processo Dornic (14).

Cada amostra de 40 litros de leite, independentemente do nível de acidificação, foi neutralizada, a 12°D, com solução de bicarbonato de sódio, recebendo, após tratamento térmico a 120°C, durante 0, 30, 60 e 90 minutos, porção de açúcar cristal comercial, à base de 15% p/p.

2.2. Elaboração do Doce de Leite

De cada combinação de acidificação e cada tempo de tratamento térmico, fez-se uma partida de doce de leite, em 3 repetições, segundo o esquema fatorial 5 x 4, no delineamento inteiramente casualizado.

O doce, concentrado a 70°Brix, usando-se o refratômetro Baush & Lomb, foi resfriado no próprio tacho, pelo sistema de inundação. O tempo de concentração foi de

aproximadamente 20 minutos. De cada repetição foram tiradas 4 latas, que fechadas em recravadeira Rojek semi-automática, série D₁, número 72, foram submetidas a banho-maria fervente durante 20 minutos, resfriadas por imersão em água fria corrente e, em seguida, armazenadas à temperatura média ambiente de 19°C, para serem testadas nos períodos de 45, 90, 135 e 180 dias de armazenamento.

2.3. *Análises Químicas do Leite*

A determinação da acidez titulável foi realizada de acordo com o processo Dornic, utilizando-se solução NaOH N/9 e solução alcoólica de fenolftaleína a 1% como indicador (14). A determinação do pH foi efetuada potenciometricamente, utilizando-se o aparelho Ph-Meter L.S. Sargent-Welch.

Para porcentagem de açúcares redutores, expressos em lactose, aplicou-se o método descrito por BENTONI (1), usando-se o reativo de Fehling.

2.4. *Avaliação Organoléptica da Cristalização*

As análises sensoriais foram realizadas no Laboratório de Análise Sensorial do DTA-UFV, aos 35, 90, 135 e 180 dias de armazenamento, por um painel de 5 provadores treinados em detectar sensorialmente cristais de lactose em doce de leite.

As 20 amostras de doce, correspondentes aos tratamentos, dentro de cada repetição, foram apresentadas de uma só vez aos provadores. Foi usada uma escala de valores de 1 a 5, correspondentes às respostas dos provadores ao estado de cristalização de cada amostra, com a seguinte variação de conceitos:

- 1 — Sem cristalização perceptível
- 2 — Ligeiramente cristalizado
- 3 — Medianamente cristalizado
- 4 — Muito cristalizado
- 5 — Excessivamente cristalizado

2.5. *Análise dos Resultados*

Os efeitos dos níveis de acidificação, dos tempos de tratamento térmico e das interações sobre os teores de lactose do leite e de doce de leite, foram estudados por meio do seguinte modelo de segundo grau de regressão linear:

$$Y_i = b_0 + b_1X_{1i} + b_2X_{2i} + b_{12}X_{1i}X_{2i} + b_{11}X_{1i}^2 + b_{22}X_{2i}^2 + e_i$$

sendo

Y_i = teores médios de açúcares (em lactose) no leite.

X_{1i} e X_{2i} = níveis de acidificação no leite e tempos de tratamento térmico, respectivamente.

e_i = variável aleatória, normal e independentemente distribuída, com média zero e variância σ^2 .

Os efeitos dos níveis de acidificação, dos tempos de tratamento térmico, do tempo de armazenamento e os efeitos de interações sobre as notas de avaliação sensorial da cristalização do doce foram estudados mediante o seguinte modelo de segundo grau da regressão linear:

$$Y_i = b_0 + b_1X_{1i} + b_2X_{2i} + b_3X_{3i} + b_{12}X_{1i}X_{2i} + b_{13}X_{1i}X_{3i} + b_{23}X_{2i}X_{3i} + b_{11}X_{1i}^2 + b_{22}X_{2i}^2 + b_{33}X_{3i}^2 + e_i$$

sendo

Y_i = nota média dos provadores para a cristalização.

X_{1i} , X_{2i} , X_{3i} = respectivamente, níveis de acidificação, tempo de tratamento térmico e tempo de armazenamento.

e_i = variável aleatória, normal e independentemente distribuída, com média zero e variância σ^2 .

Par estimar os coeficientes de regressão, utilizou-se o método dos mínimos quadrados ordinários (15).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Efeito da Acidificação e do Tratamento Térmico no Teor de Açúcares Redutores (em Lactose) no Leite

Pelos resultados do Quadro 1, observa-se que houve redução nos valores de acidez titulável do leite nos tempos iniciais do primeiro tratamento térmico (30 min.), com aumentos progressivos à medida que o tempo foi prolongado, dentro de cada nível de acidificação, em concordância com JENNES e PATTON (10) e KOSIKOWSKY (11), que citam ligeira redução da acidez e aumento do pH no início do tratamento térmico. Sabe-se que o início da acidez do leite se deve à liberação de íons H^+ , pela insolubilização do cálcio e do fosfato, promovida pelo aquecimento prolongado (10, 19).

JENNES e PATTON (10) citam aumento acentuado da acidez pela produção de ácidos fórmico e láctico, que, em concordância com TARASSUK (20), são oriundos da decomposição térmica da lactose, considerada principal fonte de ácidos do leite, cuja quantidade depende do tempo e da temperatura de aquecimento (4, 5).

Pelo Quadro 1, vê-se que o teor de açúcares redutores tende a aumentar à medida que se prolonga o tempo de tratamento térmico do leite, embora, segundo GOULD (5) e Kometiani, citado por GOULD (5), haja redução na concentração da lactose com o tratamento térmico do leite. A lactose é hidrolisada pelo tratamento térmico, originando açúcares redutores, o que ocasiona aumento no teor de açúcares redutores expressos em lactose.

O Quadro 2 mostra que os níveis de acidificação do leite não influenciaram ($P < 0,05$) o teor de açúcares redutores (em lactose), provavelmente devido à interferência dos compostos redutores, resultantes da decomposição da lactose em ácido láctico e outros compostos do metabolismo microbiano. A atividade microbiana requer tempo para reduções apreciáveis no teor de lactose no leite; segundo Van Slyke e Borworth, citados por HAMMER e BABEL (7), o leite fresco inoculado com *Streptococcus lactis* e *Enterobacter aerogenes*, mantido à temperatura ambiente durante 60 horas, apresentou apenas 22% de lactose metabolizada.

O tempo de tratamento térmico a 120°C influenciou significativamente ($P < 0,05$) o teor de açúcares redutores em lactose, de acordo com a seguinte equação de regressão:

$$\hat{Y} = 4,8390 + 0,0014X_2, \text{ com } r^2 = 21,50\%$$

QUADRO 2 - Análise de regressão dos teores de açúcares redutores no leite, expressos em lactose

F.V.	G.L.	Q.M.	Variáveis Independentes	R ² (%)
Devida à regressão	1	0,0267 ns	X ₁	12,35
Indep.da regressão	18	0,0105		
Devida à regressão	1	0,0465 *	+X ₂	21,50
Indep.da regressão	18	0,0094		
Devida à regressão	2	0,0366 *	X ₁ e +X ₂	33,85
Indep.da regressão	17	0,0084		
Devida à regressão	2	0,0167 ns	X ₁ e X ₁ ²	15,47
Indep.da regressão	17	0,0107		
Devida à regressão	2	0,0313	X ₂ e X ₂ ²	29,02
Indep.da regressão	17	0,0090		
Devida à regressão	4	0,0240 ns	X ₁ , X ₂ , X ₁ ² e X ₂ ²	44,50
Indep.da regressão	15	0,0080		
Devida à regressão	5	0,0218 ns	X ₁ , X ₂ , X ₁ ·X ₂ , X ₁ ² e X ₂ ²	50,42
Indep.da regressão	14	0,0076		

ns . Não significativo ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste de F.

* . Significativo ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste de F.

X₁ e X₂ . Acidificação do leite (°D) e tempo de tratamento térmico a 120°C (minutos), respectivamente.

+ . Indica a significância do coeficiente de regressão ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste "t", de Student.

Esse aumento foi causado pelo efeito do tratamento térmico sobre a lactose. Sabe-se que durante o escurecimento do leite, além da decomposição da lactose (2, 20), que ocasiona reações, como as de Maillard, verifica-se, segundo PATTON (13), em leite aquecido, a presença de um sistema redutor complexo, que envolve compostos -SH, ácido ascórbico e outras substâncias originadas das reações de escurecimento.

3.2. Teste de Cristalização

No Quadro 3 encontram-se as notas dos 5 provadores, com 6 repetições, relativas aos 4 períodos de armazenamento do doce. Pelo Quadro 4, observa-se que o melhor ajustamento ocorreu no modelo que incluiu o tempo de tratamento térmico e o tempo de armazenamento, de acordo com a seguinte equação:

$$\hat{Y} = 1,5556 - 0,0141X_2 + 0,0094X_3, \text{ com } r^2 = 51,62\%$$

Observa-se menor grau de cristalização do doce com o aumento do tempo de tratamento térmico do leite, num mesmo tempo de armazenamento. Num mesmo tempo de tratamento térmico, há maior cristalização do doce com maiores tempos de armazenamento.

QUADRO 3 - Notas médias do teste de cristalização do doce de leite

Armazena- mento (dias)	Tempo Trat. Térm. (min)	Acidez por crescimento da cultura láctica (°Dornic)																							
		18°Dornic				20°Dornic				25°Dornic				30°Dornic				35°Dornic							
		0	30	60	90	0	30	60	90	0	30	60	90	0	30	60	90	0	30	60	90				
45		2,17	1,40	1,07	1,13	2,07	1,97	1,07	1,13	1,73	1,77	1,27	1,13	1,87	1,70	1,00	1,33	1,40	1,33	1,10	1,17				
90		2,36	1,06	1,13	1,03	1,96	2,06	1,13	1,76	1,96	2,00	1,33	1,13	1,86	2,23	1,46	2,13	1,36	1,30	1,06	1,73				
135		3,60	2,00	1,20	1,07	3,53	3,03	5,33	1,33	3,27	1,73	2,07	1,47	3,97	1,67	1,23	1,17	2,47	1,77	1,03	1,73				
180		4,00	2,50	2,60	1,53	4,26	3,26	1,80	1,63	3,76	2,40	1,16	2,70	4,10	2,93	1,70	1,33	3,40	3,33	1,90	2,53				

QUADRO 4 - Análise de regressão das notas da avaliação sensorial da cristalização do doce de leite.

F.V.	G.L.	Q.M.	Variáveis Independentes	R ² (%)
Devida à regressão	1	0,6722ns	X_1	0,97
Indep.da regressão	78	0,8809		
Devida à regressão	1	17,9011*	$+X_2$	25,80
Indep.da regressão	78	0,6600		
Devida à regressão	1	17,9181*	$+X_3$	25,82
Indep.da regressão	78	0,6598		
Devida à regressão	2	9,2952*	X_1 e $+X_3$	26,79
Indep.da regressão	77	0,6596		
Devida à regressão	2	17,9096*	$+X_2$ e $+X_3$	51,62
Indep.da regressão	77	0,4359		
Devida à regressão	2	0,4557ns	X_1 e X_1^2	1,31
Indep.da regressão	77	0,8892		
Devida à regressão	2	9,8778*	$+X_2$ e X_2^2	28,47
Indep.da regressão	77	0,6445		
Devida à regressão	2	9,1106*	$+X_3$ e X_3^2	26,26
Indep.da regressão	77	0,6644		
Devida à regressão	3	12,1638*	$X_1, +X_2$ e $+X_3$	52,59
Indep.da regressão	76	0,4328		
Devida à regressão	5	4,3575*	$X_1, +X_2, X_1 \cdot X_2, X_1^2$ e X_2^2	31,40
Indep.da regressão	74	0,6432		
Devida à regressão	5	3,8267*	$X_1, +X_3, X_1 \cdot X_3, X_1^2$ e X_3^2	27,57
Indep.da regressão	74	0,6790		
Devida à regressão	5	8,3642*	$+X_2, +X_3, X_2 \cdot X_3, X_2^2$ e X_3^2	60,27
Indep.da regressão	14	0,0076		

ns . Não significativo ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste de F.

* . Significativo ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste de F.

X_1, X_2 e X_3 . Acidificação do leite (⁰D), tempo de tratamento térmico a 120°C (minutos) e tempo de armazenamento do doce de leite, respectivamente.

+ . Indica a significância do coeficiente de regressão, ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste de "t", de Student.

Embora a atividade bacteriana reduza o teor de lactose no leite ou no soro, no presente trabalho a atividade bacteriana necessária para atingir os níveis de 18 a 35⁰D não foi suficiente para reduzir consideravelmente o teor de lactose no leite e, conseqüentemente, a cristalização do doce. Semelhantemente, embora o ácido láctico e outros produtos de atividade microbiana no leite tenham reduzido a cristalização da lactose, segundo JELLEN e COULTER (9) e NICKERSON (12), a produção desses compostos, nos níveis estudados, não foi suficiente para reduzir significativamente a cristalização do doce.

A redução da cristalização do doce com o prolongamento do tempo de tratamento térmico do leite é consequência da decomposição da lactose. A redução da con-

centração de lactose no leite depende da intensidade do tratamento térmico, conforme resultados de Kometiani, citado por GOULD (5), que obteve reduções de 28, 92 e 265 mg de lactose em 100 ml de leite aquecido, durante 30 minutos, a 100, 110 e 120°C, respectivamente.

A presença de neutralizantes, além de aumentar o escurecimento do leite, segundo KOSIKOWSKY (11), ocasiona maior redução da lactose no leite, de acordo com GOULD (5), cujos trabalhos mostram que a adição de 0,3% de fosfato dissódico ou citrato de sódio a amostras aquecidas a 100°C, durante 8 horas, e a 116°C, durante 2,5 horas, causou maior redução no teor de lactose, em relação às amostras-controle.

A redução da cristalização deve-se, principalmente, à redução do teor de lactose, pois, embora o ácido láctico reduza a cristalização, segundo JELLEN e COULTER (9), a quantidade liberada pelo tratamento térmico corresponde, segundo GOULD (5), a uma pequena parcela, inferior a 5% do ácido total produzido em diversos tratamentos térmicos do leite.

Embora a cristalização do doce tenha sido reduzida pelo tratamento térmico do leite, essa redução não foi completa, não eliminando o problema de estocagem do produto durante tempo prolongado.

4. RESUMO

O trabalho foi realizado na Usina Piloto de Laticínios do DTA — UFV, usando-se diferentes níveis de acidificação e diferentes tempos de tratamentos térmicos do leite, com o objetivo de controlar o problema da cristalização do doce de leite armazenado durante tempo prolongado.

Foram estudados 5 níveis de acidificação, 18, 20, 25, 30 e 35°D, obtidos pelo crescimento de cultura láctica, e quatro tempos de tratamentos térmicos a 120°C: 0, 30, 60 e 90 minutos. Os 20 tipos de doce produzidos em cada repetição, armazenados à temperatura de 19°C, foram testados organolepticamente, quanto à cristalização, aos 45, 90, 135 e 180 dias de armazenamento. Os níveis de acidificação não alteraram o teor de açúcares redutores (em lactose) no leite, sendo porém significativo ($P < 0,05$) o efeito dos tratamentos térmicos, havendo aumento com maior tempo do tratamento.

Resultados de análises sensoriais mostraram que os níveis de acidificação não alteraram a cristalização do doce, que foi reduzida com o prolongamento do tempo de tratamento térmico, mas aumentou com o tempo de armazenamento, não sendo eliminado o problema de estocagem do produto durante tempo prolongado.

5. SUMMARY

This work was carried out at the Dairy Plant of the Food Technology Department of Federal University of Viçosa. Different levels of acidified and heat treated milk were studied, aiming to control the problem of crystallization of «doce de leite» during long period storage.

The acidification levels studied were 18, 20, 25, 30 and 35°D, induced by lactic acid bacteria growth, with four heating periods at 120°C: 0, 30, 60 and 90 minutes. The 20 different «doce de leite» types produced in each trial were held at room temperature of 19°C and sensory evaluated for crystallization after each storage period of 45, 90, 135 and 180 days.

The milk acidification levels studied did not effect the reducing sugars content (in lactose) of the milk, but it was greater with increased time of milk heat treatment.

Sensory analysis data showed no effect of acidification levels on the crystallization of the doce, but crystallization was reduced by the heat treatment. The «doce de leite» crystallization problem was not eliminated in long storage periods of the product.

6. LITERATURA CITADA

1. BENTONI, R. *Curso de preparacion teorica y pratica para laboratoristas de plantas pasteurisadoras*. Chile, FAO, 1964. 355 p.
2. DALGFISH, D.G. *The effect of heat treatment on the physical properties of milk*. Paris, International Dairy Federation, 1978. 2 p.
3. DOAN, F.J. Problems of lactose crystallization in concentrated milk products. *Journal of Dairy Science*, 41(2):325-331, 1958.
4. FREYER, J. *Elaboracion del dulce de leche*. s.l., FAO, 1972. 18 p.
5. GOULD, I.A. Lactic acid in dairy products. The effect of heat on total acid and lactic acid production and on lactose destruction. *Journal of Dairy Science*, 28(5):367-377, 1945.
6. HALL, C.W. & HEDRICK, T.I. *Drying of milk and milk products*. 2.^a ed. Westport, Connecticut, A.V.I. Publishing, 1971. 338 p.
7. HAMMER, B.W. & BABEL, F.J. Milk fermentation. In: *Dairy bacteriology*. 4. ed. New York, John Wiley & Sons, 1957. p. 63-113.
8. HOSKEN, F.S. Doce de Leite — durabilidade e cristalização. *Revista do Instituto de Laticínios Cândido Testes*, 24(147):10-17, 1969.
9. JELEN, P. & COULTER, S. Effects of certain salts and other whey substances on the growth of lactose crystals. *Journal of Food Science*, 38(7):1186-1189, 1973.
10. JENNES, R. & PATTON S. *Principles of dairy chemistry*. New York, Robert E. Krieger Publishing, 1976. 446 p.
11. KOSIKOWSKY, F.V. *The effect of high temperature and various chemical agents upon the heat stability, browning and apparent changes in lactose concentration of whole and evaporated milk*. New York, Cornell University, 1944. 175 p. (Tese de doutorado).
12. NICKERSON, T.A. Lactose. In: WEBB, B.H. & WHITTIER, E.D. *By products from milk*. 2 ed. Connecticut, A.V.I. Publishing, 1970. p. 356-380.
13. PATTON, S. Browning and associated changes in milk and its products; a review *Journal of Dairy Science*, 38(5):457-469, 1955.
14. PEREIRA, J.F. *Análises bromatológicas*. Juiz de Fora, Instituto de Laticínios Cândido Tostes, s.d. 96 p.
15. PIMENTEL GOMES, F. *Curso de estatística experimental*. São Paulo, Livraria

Nobel S.A., 1973. 455 p.

16. RESOLUÇÃO N.º 12/78. In: COMISSÃO NACIONAL DE NORMAS E PADRÕES PARA ALIMENTOS. Compêndio de normas e padrões para alimentos. s.l., s.d., p. VI-251.
17. RIBEIRO, J.A. Tecnologia de fabricação de leites desidratados. *Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes*, 7(40):3-26, 1952.
18. SANTOS, D.M. Arenosidade no doce de leite. *Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes*, 31(185):3-9, 1976.
19. SILVA, J.C. Efectos del calor sobre la leche. *Industria Lechera*, 56(653):17-20, 1977.
20. TARASSUK, N.P. & SIMONSEN, H.P. Browning and the fluorescence of evaporated milk. *Food Technology*, 4(3):88-92, 1950.