



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO
ESCOLA DE NUTRIÇÃO
COLEGIADO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA
DE ALIMENTOS**



**FERNANDA CARNEIRO RAMALHO
GUSTAVO HENRIQUE SOUZA DE LELIS**

ALTERAÇÕES QUÍMICAS E FÍSICAS EM LEITE EVAPORADO ESTOCADO EM DIFERENTES TEMPERATURAS

OURO PRETO

2021



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO
ESCOLA DE NUTRIÇÃO
COLEGIADO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA
DE ALIMENTOS**



**FERNANDA CARNEIRO RAMALHO
GUSTAVO HENRIQUE SOUZA DE LELIS**

ALTERAÇÕES QUÍMICAS E FÍSICAS EM LEITE EVAPORADO ESTOCADO EM DIFERENTES TEMPERATURAS

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Colegiado do Curso de Ciência e Tecnologia de Alimentos da Escola de Nutrição da Universidade Federal de Ouro Preto, como requisito parcial para obtenção do grau de Bacharel em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientador: Erick Ornellas Neves – DEALI

Coorientadora: Érica Granato Faria Neves – DEALI

OURO PRETO

2021

SISBIN - SISTEMA DE BIBLIOTECAS E INFORMAÇÃO

L541a Lelis, Gustavo Henrique Souza De .
Alterações químicas e físicas em leite evaporado estocado em
diferentes temperaturas.. [manuscrito] / Gustavo Henrique Souza De
Lelis. Fernanda Carneiro Ramalho. - 2021.
33 f.: il.: color., gráf., tab..

Orientador: Prof. Dr. Erick Ornellas Neves.
Coorientadora: Profa. Dra. Érica Granato Faria Neves.
Monografia (Bacharelado). Universidade Federal de Ouro Preto. Escola
de Nutrição. Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos .

1. Leite . 2. Estabilidade Proteica. 3. Cristalização. I. Ramalho,
Fernanda Carneiro. II. Neves, Erick Ornellas. III. Neves, Érica Granato
Faria . IV. Universidade Federal de Ouro Preto. V. Título.

CDU 637.1:664

Bibliotecário(a) Responsável: Sônia Marcelino - CRB6/2247



FOLHA DE APROVAÇÃO

Fernanda Carneiro Ramalho

Alterações químicas e físicas em leite evaporado estocado a várias temperaturas

Monografia apresentada ao Curso de Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal de Ouro Preto como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Ciência e Tecnologia de Alimentos

Aprovada em 26 de abril de 2021

Membros da banca

Doutor - Erick Ornellas Neves - Orientador - Universidade Federal de Ouro Preto
Doutora - Érica Granato Faria Neves - Coorientadora - Universidade Federal de Ouro Preto
Mestre - Mirian dos Santos - Universidade Federal de Ouro Preto

Erick Ornellas Neves, orientador do trabalho, aprovou a versão final e autorizou seu depósito na Biblioteca Digital de Trabalhos de Conclusão de Curso da UFOP em 28/05/2021.



Documento assinado eletronicamente por **Erick Ornellas Neves, PROFESSOR DE MAGISTERIO SUPERIOR**, em 28/05/2021, às 08:54, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site http://sei.ufop.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **0176416** e o código CRC **BCC58405**.



FOLHA DE APROVAÇÃO

Gustavo Henrique Souza de Lelis

Alterações químicas e físicas em leite evaporado estocado a várias temperaturas

Monografia apresentada ao Curso de Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal de Ouro Preto como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Ciência e Tecnologia de Alimentos

Aprovada em 26 de abril de 2021

Membros da banca

Doutor - Erick Ornellas Neves - Orientador - Universidade Federal de Ouro Preto
Doutora - Érica Granato Faria Neves - Coorientadora - Universidade Federal de Ouro Preto
Doutora - Maria Helena Nasser Brumano - Universidade Federal de Ouro Preto

Erick Ornellas Neves, orientador do trabalho, aprovou a versão final e autorizou seu depósito na Biblioteca Digital de Trabalhos de Conclusão de Curso da UFOP em 28/05/2021.



Documento assinado eletronicamente por **Erick Ornellas Neves, PROFESSOR DE MAGISTERIO SUPERIOR**, em 28/05/2021, às 08:57, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site http://sei.ufop.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **0176421** e o código CRC **FD54F411**.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por ter me dado saúde e força para superar as dificuldades e concluir mais essa etapa.

Ao Professor Erick Ornellas Neves, por sua orientação, dedicação e incentivo.

A esta Universidade, seu corpo docente, técnicos dos laboratórios, direção, todos os funcionários da ENUT e demais unidades acadêmicas.

Aos meus pais, Cida e Amilton, minhas irmãs Nathália e Paula, pelas orações, pelo apoio, companheirismo e motivação; por me incentivar e me darem força durante toda a caminhada.

Aos meus amigos Gustavo Lelis, Cassandra Maia, Dayane Tomé e Elis Lima por toda ajuda durante o curso.

E a todos que direta ou indiretamente contribuíram para a conclusão desse trabalho, o meu muito obrigada.

Fernanda Carneiro Ramalho

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, pela vida e por guiar meus caminhos.

À minha família, minha vó, mãe, tias e irmãos (Bruno, Titis e Luan) por terem sido suporte emocional em toda essa trajetória.

Ao CA de CTA, por todo aprendizado e oportunidade de crescimento acadêmico.

À equipe da Escola de Nutrição, Técnicos, Porteiros, Moças da limpeza e Professores, pela atenção e por serem sempre solícitos em todos meus momentos, inclusive nos conselhos e cafés diários.

À turma "Sexta entre amigos" (Luan, Ana Luiza, Rogério, Thaynara, Rilton e Priscila) por estarem sempre presentes mesmo com a distância e por tornarem minha vinda aos finais de semana mais leves. Seguidos, não menos importante, pelos amigos de Ouro Preto (Marco Aurélio, Henrique, Bruninho em especial) por serem presentes em diversas ocasiões da minha vida.

Agradeço também a luz dos meus dias, à minha afilhada, Sofia.

À minha namorada, companheira e amiga, 'Coreixon', por me apoiar, acreditar no meu potencial, e estar presente na minha trajetória. Te amo, Linda!

Um dos refúgios da minha graduação, "Bar do Roni", com seus donos, Roni e Cassandra, pela diversão todas as vezes.

Ao meu primo Jean Fernando "Bacon" (in memorian) por sempre acreditar nos meus sonhos, por me ensinar o que é ter humanidade e ser amigo. Sempre serei grato.

Gostaria de agradecer por último, ao meu orientador, Erick Ornellas, pela orientação no projeto, graduação e conversas sobre a vida.

Gustavo Henrique Souza de Lelis

RESUMO

A produção de leites concentrados no Brasil tem aumentado a cada ano, sobretudo pelo fato de médios laticínios terem adaptados linhas de leite em pó para a elaboração destes produtos. O objetivo deste trabalho foi avaliar as alterações físicas e químicas no leite evaporado durante o armazenamento em diferentes temperaturas. O leite pasteurizado integral foi concentrado até 38° Brix em evaporador rotativo operando em pressão relativa de 72 mbar e a 60 °C. O material concentrado foi adicionado de azida sódica (0,05%) e estocado a temperaturas de 10, 30 e 50°C. Os produtos foram avaliados com 1, 7, 30, 60 e 90 dias de estocagem nessas 3 temperaturas. Foram analisados o pH, acidez, 5-Hidroximetilfurfural (HMF), cor, sedimentação e cristalização das amostras, além do seu aspecto visual. Observou-se que a exposição a diferentes temperaturas afetou significativamente e diretamente todos os parâmetros avaliados, sendo que a 30°C e 50°C as amostras apresentaram instabilidade já nos primeiros dias. Para a temperatura de 10°C o produto manteve uma estabilidade maior até 60 dias. O HMF se mostrou independente ($p > 0,05$) do tempo de estocagem, mas foi afetado ($p < 0,05$) pela temperatura de estocagem. Houve correlação linear significativa ($p < 0,05$) entre grande parte dos parâmetros analisados. Concluiu-se que a estabilidade do leite concentrado é dependente da concentração, redução da atividade água e da temperatura de estocagem. Para uma maior estabilidade é importante que enzimas proteolíticas sejam inativadas ou inibidas, sem desestabilizar a matriz proteica, e que a saturação da lactose seja controlada por diferentes técnicas que não afetem a cor.

Palavras-chave: Leite concentrado, Leite evaporado, Vida de prateleira, Estabilidade Proteica, Cristalização,

ABSTRACT

The production of concentrated milk in Brazil has increased every year, mainly because medium dairy products had adapted powdered milk brands to formulate this type of milk. The aim of this paper is to evaluate the physical and chemical alterations on the evaporated milk on hoarding under different temperatures. Whole pasteurised milk was concentrated up to 38° Brix in a rotary evaporator which was operating in relative pressure of 72 mbar and 60° C. This concentrated material was added of sodium azide (0,05%) and it was stocked under temperatures of 10, 30 and 50 °C. The products were evaluated at 1, 7, 30, 60 and 90 days of hoarding under these three temperatures. The samples were analysed by the pH, acidity, 5-Hydroxymethylfurfural (HMF), colour, sedimentation, and crystallisation of them, furthermore their visual aspect. It has been observed that the exposition under different temperatures has significantly and directly affected all the evaluated parameters, moreover, under 30°C and 50°C the samples displayed instability already on the first days. Under the temperature of 10°C, the product maintained a greater stability up to 60 days. The HMF seemed regardless ($p > 0,05$) of hoarding time, however, it was affected ($p < 0,05$) by hoarding temperature. There was a significant linear correlation ($p < 0,05$) between many parts of the analysed parameters. It is concluded that the stability of concentrated milk is dependent of the concentration, retrenchment of water activity and the hoarding temperature. To a greater stability, it is important that proteolytic enzymes are inactivated or inhibited without destabilizing the protein matrix, and that the lactose saturation is controlled by different techniques which should not affect the colour.

Key words: Concentrated milk, Evaporated milk, Shelf life, Protein stability, Crystallisation

Sumário

1. Introdução	10
2. Objetivo Geral	12
2.1. Objetivos específicos	12
3. Materiais e métodos	13
3.1. Elaboração e estocagem do concentrado	13
3.2. Tratamento estatístico	13
3.3. Análises físico-químicas	13
3.3.1. pH	13
3.3.2. Parâmetros de cor	13
3.3.3. Teor de acidez	14
3.3.4. Teor de Hidroximetilfurfural (HMF)	14
3.3.5. Prova de reconstituição	14
3.3.6. Avaliação Microscópica	15
4. Resultados e Discussão	16
4.1. pH e teor de Acidez	16
4.2. Evolução da cor	18
4.3. Sedimentação e Cristalização	22
4.4. Efeito do tempo e temperatura de estocagem	25
5. Conclusão	29
6. Referências	31

1. Introdução

A produção de leites concentrados no Brasil tem aumentado a cada ano, sobretudo pelo fato de médios laticínios terem adaptado linhas de leite em pó para a elaboração destes produtos. Os dois principais produtos desta categoria, no Brasil, são o leite condensado e o doce de leite (MENDES, 2011), porém o leite evaporado também tem grande importância comercial, mas para uso industrial. MAGALHÃES et al (2010) utilizaram leite concentrado por evaporação a vácuo para a fabricação de queijo prato obtendo bons resultados depois de algumas alterações na etapa de mexedura. O uso de leite concentrado sem a adição de açúcar é interessante para diferentes indústrias alimentícias por dois pontos principais: o primeiro é permitir um menor espaço de armazenamento se comparado ao leite fluido e o segundo é possibilitar uma transferência por bombas de menor potência que as exigidas para outros produtos concentrados de leite devido à sua menor viscosidade.

Para que o uso de um produto seja possível pela indústria de alimentos os parâmetros de qualidade devem ser mantidos o mais estável possível durante toda a sua estocagem. Para o doce de leite, ROCHA et al. (2017) avaliaram modificações durante a estocagem à temperatura ambiente, dentre as quais as mais importantes estavam relacionadas à cor e à textura. Não foram observadas mudanças microbiológicas ou no padrão de aceitabilidade sensorial do produto, além de não serem observadas a presença de cristais de lactose.

Para os leites concentrados são importantes as mudanças com relação à cor, viscosidade e estabilidade do produto durante a estocagem. As mudanças de cor estão associadas sobretudo com a reação de Maillard. Já as alterações de viscosidade e estabilidade estão associadas com a coalescência das micelas de proteínas e sua estabilidade térmica (MENDES, 2011).

A reação de Maillard é definida como uma reação de escurecimento não enzimático onde um grupo carbonila de um açúcar redutor condensa com um grupo amino de um aminoácido. Em alimentos; pela diversidade de tipos de açúcares redutores; aminoácidos presentes e pela série de reações em cadeia que ocorrem; os produtos destas reações são definidos como produtos da reação de Maillard. Estas reações são aceleradas por temperaturas mais elevadas, como as associadas aos tratamentos térmicos de alimentos, mas também ocorrem durante a estocagem de

alimentos em condições adversas. Além do binômio tempo temperatura, outros fatores são importantes na cinética do processo, como pH, atividade de água, propriedades físicas do sistema e o tipo e concentração dos reagentes (CORTÉS-YÁÑEZ et al., 2018). Um dos parâmetros utilizados para controle da reação de Maillard é a concentração do HMF. Este é um componente intermediário na complexa série de reações de escurecimento não enzimático. O único produto alimentício onde há limitações legais, no Brasil, é para o mel de abelhas (60 mg/kg), conforme apontado na Instrução Normativa 11/2000 (BRASIL, 2000). Vários métodos têm sido desenvolvidos para determinar este componente, mas o mais tradicional se baseia na espectrometria (RIZELIO et al., 2012). O intuito desta análise no mel é verificar se este não foi submetido a binômios de tempo e temperatura excessivos.

Com relação à viscosidade e estabilidade de produtos lácteos, a concentração do leite afeta também as propriedades de proteínas e sais. A combinação de aquecimento com a retirada de água altera o equilíbrio de sais e a hidratação e tamanho das micelas de caseína. Com a concentração, parte do cálcio é transferido para o conteúdo micelar e as micelas tendem a aumentar de tamanho. Estas modificações podem se reverter em parte com a reidratação, porém a perda de caseína solúvel é permanente (LIU et al, 2012).

Avaliar os parâmetros de leites evaporados durante o armazenamento possibilita compreender melhor qual o peso dos parâmetros na manutenção dos padrões de qualidade. Assim, este trabalho avaliou parâmetros físicos e químicos de leites evaporados estocados a 3 três temperaturas diferentes para compreender melhor a evolução destes durante a estocagem.

2. Objetivo Geral

Analisar as alterações físicas e químicas de leite evaporado estocado a diferentes temperaturas (10, 30 e 50°C) e diferentes tempos (1, 7, 30, 60 e 90 dias) .

2.1. Objetivos específicos

- Acompanhar o pH e o teor de acidez durante a estocagem para monitoramento.
- Determinar parâmetros de cor e a concentração de HMF para avaliar a evolução do escurecimento não enzimático.
- Avaliar a presença de cristais de lactose e possíveis mudanças durante a vida de prateleira.
- Avaliar mudanças na qualidade de reconstituição do produto durante a vida de prateleira.
- Avaliar a correlação entre os diferentes parâmetros avaliados

3. Materiais e métodos

3.1. Elaboração e estocagem do concentrado

O leite pasteurizado integral foi concentrado em evaporador rotativo (Buchi, modelo R-210) a pressão absoluta 72 mbar e temperatura de 60 °C até 38°Brix. Após a concentração a amostra foi adicionada de 0,05% p/p de azida sódica para evitar o crescimento de microrganismos durante a estocagem. O concentrado foi armazenado em frascos de vidro de 180 mL em BOD a 10°C, 30°C e 50°C para posterior avaliação da vida de prateleira.

Os frascos armazenados em BOD a 10°C, 30°C e 50°C foram avaliados nos dias 1, 30, 60 e 90 em relação ao pH, aos parâmetros de cor, ao teor de acidez, a presença de cristais de lactose, a prova de reconstituição e ao teor de hidroximetilfurfural (HMF). Este desenho experimental de análise fatorial de 3x5 para temperatura e tempo foi realizado com 3 repetições para cada tratamento.

3.2. Tratamento estatístico

Os fatores de variação, tempo e temperatura, foram avaliados quanto à sua significância em afetar os fatores dependentes quantitativos estudados. Para isso foi utilizada a análise de variância de regressão linear ($p=0,05$). A correlação linear significativa ($p<0,05$) entre os fatores foi também avaliada.

O software gratuito R versão 3.4.2 foi utilizado para tratamento estatístico dos dados.

3.3. Análises físico-químicas

3.3.1. pH

O pH foi determinado segundo a metodologia 017/IV do INSTITUTO ADOLFO LUTZ (SÃO PAULO, 2008). A medida de cada amostra foi realizada em triplicata e registrada a média.

3.3.2. Parâmetros de cor

A determinação da cor foi realizada conforme descrito por LEIVA; NARANJO; MALEC (2017), com algumas alterações: o material, cerca de 15 g, foi colocado em

placa de Petri para a leitura. Foram feitas 10 leituras, em pontos diferentes da amostra e registrada a média dos valores de L, a* e b*.

3.3.3. Teor de acidez

A acidez foi determinada conforme metodologia 453/IV do INSTITUTO ADOLFO LUTZ (SÃO PAULO, 2008). Para a análise de acidez do leite concentrado foram pesados 5,0 g do leite concentrado em béquer de 50 mL e diluído com a adição de 35 mL de água destilada. A titulação foi realizada com solução de hidróxido de sódio 0,1 mol/L. Os procedimentos foram realizados em triplicata, sendo registrada a média. Os resultados foram expressos em mg de ácido láctico/ 100g.

3.3.4. Teor de Hidroximetilfurfural (HMF)

Para avaliação do teor de HMF, as amostras foram preparadas segundo a metodologia descrita por LEIVA; NARANJO; MALEC, (2017) com modificações. Para a medição do HMF foram utilizados 0,15 g de leite concentrado adicionado de 2,0 mL de água destilada e 0,525 mL de ácido oxálico 0,3 N. Logo após, os tubos das amostras foram colocados em banho maria a 100°C por 25 minutos. Em seguida, as amostras foram retiradas e colocadas em um banho maria a 0°C por 10 minutos. Após esse procedimento cada amostra foi adicionada de 0,28 mL de ácido tricloroacético 40% e centrifugada a 9000 rpm por 15 minutos. O sobrenadante foi recuperado em balão volumétrico de 10 mL. O material retido no tubo de ensaio foi suspenso com 0,65 mL de ácido tricloroacético 4%, centrifugado e o sobrenadante somado ao balão volumétrico. Por fim foi adicionado 4,0 mL de tampão acetato a pH 4,76 e o volume do balão volumétrico completado com ácido tricloroacético 4% . Esta foi definida como a solução-amostra.

A solução-amostra foi avaliada por método espectrométrico, conforme descrito na metodologia 175/IV do INSTITUTO ADOLFO LUTZ (SÃO PAULO, 2008). O procedimento foi realizado em triplicata e os resultados expressos em mg/kg.

3.3.5. Prova de reconstituição

A reconstituição foi determinada conforme metodologia 452/IV do INSTITUTO ADOLFO LUTZ (SÃO PAULO, 2008), com algumas modificações. Em um tubo Falcon de 50 mL foram pesados 12 g de amostra e 28 mL de água destilada. A amostra foi mantida na geladeira por 12 horas. Após este período o material foi centrifugado a

4.000 rpm por 5 minutos. A massa de precipitado foi pesada e o valor anotado. O resultado foi expresso em % de sedimentação, o qual é uma razão percentual entre a massa de precipitado e a massa de amostra. O procedimento foi realizado em triplicata.

3.3.6. Avaliação Microscópica

A amostra foi homogeneizada e duas gotas da amostra foram adicionadas em lâmina previamente preparada. As lâminas foram lavadas anteriormente com sabão e álcool e secas à temperatura ambiente. As lâminas preparadas foram observadas em microscópio ótico com aumento de 400x. As fotografias foram realizadas com celular Motorola G4 plus e avaliadas com relação à presença de cristais de lactose.

4. Resultados e Discussão

4.1. pH e teor de Acidez

O leite fluido apresenta pH entre 6,6 e 6,8 e teor de acidez de 1,6 a 1,8 g/Kg. O teste de Dornic tem sido o mais utilizado para a avaliação de acidez do leite, tendo por objetivo detectar aumentos na concentração de ácido láctico, uma vez que esse ácido é formado pela fermentação da lactose por bactérias mesófilas. Outros componentes do leite também interferem na avaliação da acidez como citratos, fosfatos e proteínas (GALINA, 2010). Segundo BRONDI et al (2011), o leite condensado apresenta valor médio de pH 6,27 e teor de ácido láctico de 2,6 g/Kg. Os valores de pH se mostraram muito semelhantes no primeiro dia, estando entre 6,29 e 6,44. Para os produtos a 10°C houve uma leve tendência a um aumento do valor de pH de pouco mais de um décimo. Já para as temperaturas de 30°C e 50°C a tendência foi de queda, sendo maior com o aumento da temperatura. A queda chega a ser de 0,67 pontos para a temperatura de 30°C e de 2,02 para a temperatura de 50°C (Tabela 1).

Tabela 1 - Valor de pH do leite concentrado estocado em diferentes tempos (1, 7, 30, 60 e 90 dias) e temperaturas (10°C, 30°C e 50°C).

Temperatura (°C)	Dias de Estocagem				
	1	7	30	60	90
10	6,44	6,37	6,50	6,58	6,58
30	6,34	6,25	6,25	5,79	5,67
50	6,29	6,16	5,46	5,06	4,27

Para o teor de acidez observou-se valores muito próximos entre 5,7 e 5,9 g/Kg para todas as amostras no primeiro dia. No sétimo dia todos registraram valores menores em relação ao primeiro. Esta tendência de queda no valor de acidez se mantém para as amostras armazenadas a 10°C. Para as temperaturas de 30°C e 50°C houve um aumento do teor de acidez após o sétimo dia. Observou-se que o

aumento para os tratamentos a 30°C foi mais acentuado entre os dias 60 e 90. Já para os tratamentos estocados a 50°C houve uma elevação intensa em dois períodos, do dia 7 para o 30 e depois do dia 60 para o 90 (Tabela 2).

Tabela 2 - Teor de acidez (g/Kg) do leite concentrado estocado em diferentes tempos (1, 7, 30, 60 e 90 dias) e temperaturas (10°C, 30°C e 50°C).

Temperatura (°C)	Dias de Estocagem				
	1	7	30	60	90
10	5,8	5,7	4,3	3,2	2,8
30	5,9	3,4	3,8	4,6	11,6
50	5,7	4,1	9,2	10,0	16,0

A acidez é um importante parâmetro para avaliar o estado de conservação do leite, uma vez que leites com teores de acidez fora dos padrões físico-químicos são considerados anormais e/ou impróprios para o consumo. Valores superiores ou inferiores de acidez encontrados também podem ser devido às variações da composição do leite, bem como a raça do animal, a individualidade, o colostro, o período de lactação e o processo de esterilização (CAMARA; WESCHENFELDER, 2014).

Esta evolução poderia estar associada a presença de micro-organismos, porém todas as amostras foram adicionadas de azida sódica na concentração de 0,05% e não foi observado nenhum odor estranho nas amostras. A azida sódica é um conservante, um sólido branco, inodoro e de fórmula molecular NaN_3 com massa molar de 65,0 g/mol (DAMASIO, 2012). Muito utilizada como agente bacteriostático, sendo recomendada para a conservação de amostras de leite, porém sua eficiência é afetada pela temperatura de estocagem (VANCIN et al, 2020). Esse conservante age como inibidor da respiração aeróbia de microrganismos gram-negativos (LINCHSTEIN, 1943), mas possui pouca eficácia para microrganismos gram-positivos e anaeróbios (EMBRAPA, 2011).

A característica ácida do leite não se baseia apenas na presença do ácido láctico. Sais solúveis e mesmo as proteínas têm contribuições no valor do pH e da acidez titulométrica.

4.2. Evolução da cor

A cor pelo sistema CIELAB é dividida em três componentes, o L, que representa a luminosidade, o a*, que representa uma escala de verde a vermelho, e o b*, que representa uma escala de azul a amarelo.

Para o parâmetro de luminosidade, o L, observou-se uma tendência a uma variação muito discreta para as temperaturas de 10°C e 30°C, com valores oscilando entre 71,32 e 76,39. Para a temperatura de 50°C houve uma tendência de redução da luminosidade com o tempo, sendo a queda mais drástica ocorrendo do dia 60 para o 90 (Tabela 3).

Tabela 3 - Parâmetro de cor L (luminosidade) do leite concentrado estocado em diferentes tempos (1, 7, 30, 60 e 90 dias) e temperaturas (10°C, 30°C e 50°C).

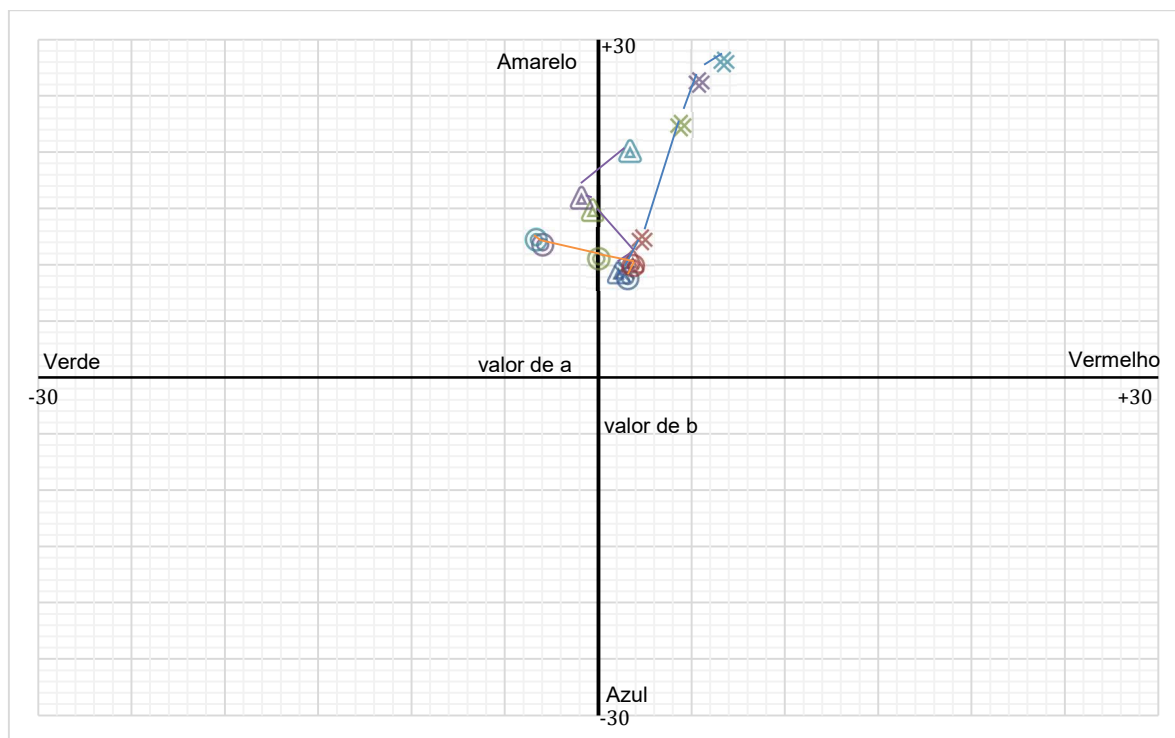
Temperatura (°C)	Dias de Estocagem				
	1	7	30	60	90
10	71,32	73,03	73,84	74,16	74,14
30	73,86	71,98	74,82	76,39	71,63
50	73,58	73,36	72,06	69,53	64,77

Existem efeitos independentes do escurecimento não enzimático e outros processos químicos associados ao calor na cor do leite. Em temperaturas entre 5 e 50° C há um clareamento com aumento de temperatura. Essas mudanças decorrem da migração de cálcio na micela com aumento da temperatura, causando assim um aumento no tamanho da micela e um aumento na dispersão de luz. Em temperaturas mais altas, acima de 60 °C, há um irreversível branqueamento do leite que aumenta com o tempo a qualquer temperatura, e parece atingir níveis mais elevados com temperaturas mais altas (Burton, 1994).

A desnaturação das proteínas do soro sobre a caseína do leite, a qual aumenta o tamanho das partículas, é responsável por um aumento na refletância. O efeito de clareamento é significativo no leite UHT e em outros produtos lácteos. Leite e creme UHT são invariavelmente mais brancos do que o produto não processado (Burton, 1994).

Os valores de a^* e b^* podem ser plotados em forma de coordenadas, conforme mostrado na Figura 1. A cor de todos os produtos vai se diferenciando com o tempo e a temperatura de estocagem. Inicialmente as coordenadas mostram produtos com cores muito próximas no primeiro dia de estocagem. Já no dia 90 os tons são diferentes, sendo o tratamento a 30°C um tom intermediário entre os dois tratamentos extremos.

Figura 1 - Gráfico de cor a (eixo x) e b (eixo y) nas temperaturas 10°C (círculo), 30°C (triângulo) e 50°C (xis) com 1 dia (cinza), 7 dias (vermelho), 30 dias (verde), 60 dias (roxo) e 90 dias (azul).



Nas tabelas 4 e 5 observou-se este comportamento diferente relacionado a cada temperatura. Na temperatura de 10°C há uma diminuição do componente vermelho e uma tendência a uma cor mais próxima de verde, indicado pela diminuição

do valor de a^* . Em uma mesma proporção tem-se um aumento do tom amarelado das amostras, observado pelo aumento do valor de b^* . Para a temperatura de 30°C observou-se uma tendência de diminuição da cor vermelha até o dia 60. A mudança de cor foi menos acentuada para a temperatura de 10°C. Porém, entre os dias 60 e 90, houve um aumento deste valor, sendo este maior do que o inicial. Para o valor de b a 30°C um aumento sempre é observado. Já para os tratamentos a 50°C houve uma evolução contínua dos valores de a^* e b^* , sendo a evolução maior para os valores de b^* do que de a^* .

Tabela 4 - Parâmetro de cor a^* (verde a vermelho) do leite concentrado estocado em diferentes tempos (1, 7, 30, 60 e 90 dias) e temperaturas (10°C, 30°C e 50°C).

Temperatura (°C)	Dias de Estocagem				
	1	7	30	60	90
10	1,58	1,87	0,08	-2,96	-3,30
30	1,08	1,83	-0,30	-0,88	1,67
50	1,40	2,32	4,41	5,42	6,72

Tabela 5 - Parâmetro de cor b^* (azul a amarelo) do leite concentrado estocado em diferentes tempos (1, 7, 30, 60 e 90 dias) e temperaturas (10°C, 30°C e 50°C).

Temperatura (°C)	Dias de Estocagem				
	1	7	30	60	90
10	8,82	9,93	10,53	11,76	12,17
30	9,36	10,29	14,90	15,96	20,07
50	9,36	12,18	22,37	26,21	28,02

O escurecimento é uma consequência da reação de Maillard entre a lisina das proteínas do leite e a lactose. A reação de Maillard no leite é extremamente complexa. Neste processo compostos intermediários incolores são produzidos nas etapas iniciais e então convertidos em melanoidinas, compostos de cor escura que dão origem à cor marrom do produto. Apesar desta complexidade, o progresso geral

da reação pode ser seguido por medição. A medição da queda em refletância em qualquer comprimento de onda conveniente na região do espectro visível é uma maneira simples de seguir a reação de escurecimento durante o tratamento térmico. O desenvolvimento da cor marrom envolve uma queda progressiva na refletância do leite, a queda sendo leve na extremidade vermelha do espectro visível (comprimento de onda de 650-700 nm), mas tornando-se progressivamente maior em direção à extremidade azul-violeta do espectro (400- 450 nm) (BURTON, 1994).

Sabe-se que os Produtos de Reação de Maillard (PRM), correspondem a um grupo heterogêneo de substâncias de baixo peso molecular. O HMF é considerado um destes produtos e não existe em alimentos crus e frescos, porém é produzido rapidamente durante o processamento térmico e no armazenamento prolongado, principalmente em alimentos ricos em carboidratos e lipídeos (FRANCISQUINI et al, 2017)

Na Tabela 6 são apresentados os teores de 5-hidroximetilfurfural das amostras. Os dados demonstraram uma elevação brusca dos valores até o dia 30. Após este período houve uma diferenciação entre os tratamentos. Para 10°C houve uma redução gradual, já para os tratamentos a 50°C houve um leve aumento na concentração. Já para a temperatura de 30°C as amostras apresentaram uma oscilação entre os valores de 834,49 mg/kg e 927,84 mg/kg.

Tabela 6 – Teores de 5-Hidroximetilfurfural (mg/kg) das amostras de leite concentrado estocado em diferentes tempos e temperaturas.

Temperatura (°C)	Dias de Estocagem				
	1	7	30	60	90
10	680,73	630,77	777,95	667,37	551,19
30	1.778,24	681,85	834,49	927,84	908,88
50	700,19	713,49	915,67	984,54	1.008,38

O 5-hidroximetilfurfural (HMF) é um indicador de intensidade de tratamentos térmicos, pois é um composto intermediário da reação de Maillard detectável por técnica espectrofotométrica (MORTIER et al., 2000). Estudos recentes demonstram

a interferência desses produtos da reação de Maillard em processos biológicos, os quais estão relacionados com a inibição do crescimento celular, a redução da digestibilidade e a absorção de proteínas, a hipertrofia de órgãos, a redução de atividades enzimáticas e intestinais; além de possíveis perdas nutricionais por causa da reação de aminoácidos essenciais com o açúcar redutor presente no alimento (SHIBAO; BASTOS, 2011; FRANCISQUINI et al., 2016).

4.3. Sedimentação e Cristalização

O percentual de sedimentação pode ser observado na Tabela 7. No dia 1 obteve-se valores aproximados para as três temperaturas (10; 30 e 50°C), variando muito pouco entre si, com valores abaixo de 3%, o que mostra uma alta capacidade de se reconstituir. Porém, a partir do dia 7 o tratamento a 10°C continuou bem próximo de uma recomposição completa, mantendo tal comportamento até 30 dias. Já os tratamentos às temperaturas de 30 e 50°C demonstraram insolubilidade completa a partir do dia 7. Ao longo do tempo de estocagem houve aumento dos valores no tratamento à 10°C, sendo os valores após 60 dias críticos em relação à solubilidade. Apesar de ter ocorrido um decréscimo do pH com o tempo de estocagem, somente esta característica não explica o comportamento observado.

Tabela 7 – Percentual de sedimentação (% p/p) do leite concentrado estocado em diferentes tempos (1, 7, 30, 60 e 90 dias) e temperaturas (10°C, 30°C e 50°C).

Temperatura (°C)	Dias de Estocagem				
	1	7	30	60	90
10	0,38	0,60	1,32	7,03	30,83
30	0,42	83,34	78,27	88,91	91,75
50	2,57	94,23	92,82	89,02	77,12

Segundo Silva (2004) a sedimentação é uma desestabilização proteica do leite quando submetido ao tratamento térmico, pois promove a desnaturação de proteínas e precipitação de sais minerais.

As estruturas das caseínas podem ser divididas em subgrupos, estando todos presentes na estrutura da micela de caseína. As principais caseínas responsáveis pela estabilização do produto são a β -caseína, pois na refrigeração ela se separa da micela, e a κ -caseína por ser a porção mais externa e portanto mais atacada pelo seu posicionamento (SANTOS et al, 1999).

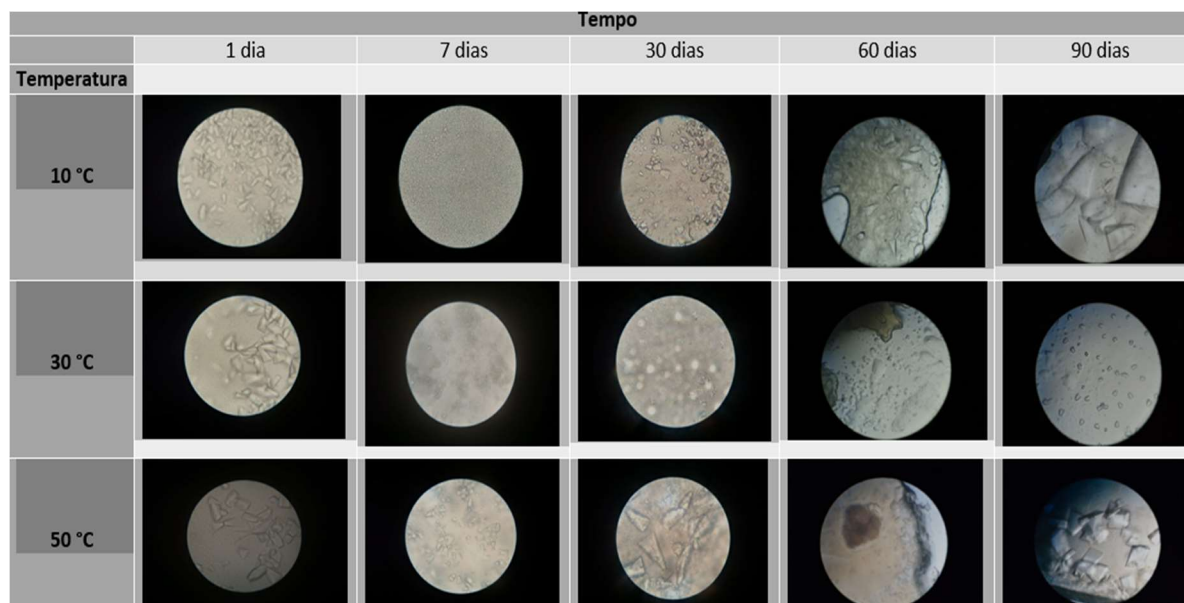
A desestabilização do leite também está relacionada às enzimas proteolíticas e lipolíticas nativas ou de origem microbiana, que são termoestáveis, portanto, permanecem no produto mesmo após o tratamento de altas temperaturas. Proteases são enzimas que hidrolisam as caseínas, consideradas as maiores proteínas do leite, e α -lactalbumina e β -globulina as menores que pertencem à fase do soro (MELO-JUNIOR, 2005).

Um estudo com leite UAT (Ultra Alta Temperatura) determinou que a sedimentação está diretamente relacionada com a temperatura de armazenamento (MALMGREN, et al, 2017). Este fato corrobora com o observado nas amostras deste estudo.

O leite pasteurizado utilizado para elaboração do produto evaporado pode conter enzimas proteolíticas termorresistentes e isso pode ter favorecido o aparecimento de géis ao longo do tempo de armazenamento nas diferentes temperaturas. Apesar de não ter sido feita a identificação das enzimas por meio de análises foi possível observar que os géis formados foram mais intensos quanto maior a temperatura. Isso indica uma maior desestabilização da suspensão de proteínas no meio, reflexo da ação de enzimas com temperatura de armazenamento mais elevada e a redução do pH do meio.

Já nas imagens em microscópio óptico podemos observar a formação de cristais, principalmente nas amostras que ficaram estocadas a 10° C. Nelas foram encontrados cristais de tamanho visualmente superior às amostras de outras temperaturas (Figura 2). Entre os dias 1 até 60, esses cristais foram observados apenas com o auxílio do microscópio, mas no dia 90 a consistência arenosa predominou em todas as amostras.

Figura 2 - Imagens obtidas das lâminas contendo leite concentrado para avaliar o aparecimento de cristais de lactose em diferentes tempos e temperaturas. (Aumento de 400x).



Fonte: Os Autores

As amostras armazenadas a 50° C em todas as avaliações (1, 7, 30, 60 e 90 dias), apresentaram cristais grandes em grupos isolados. Nas avaliações das amostras de 10° C houve o aparecimento dos cristais, em maior tamanho e quantidade, podendo ser visualizados a olho nu bem como a percepção visual de uma grande arenosidade ao final de 90 dias de estocagem. Enquanto nas amostras a 30° C e 50° C percebeu-se uma diminuição na quantidade dos núcleos de cristais.

Os açúcares que possuem carbonos assimétricos, como a lactose, desviam o plano de vibração da luz polarizada, e portanto são ativos opticamente. A lactose é encontrada em duas formas ativas opticamente: a α -lactose e a β -lactose (PERRONE, 2006).

HOLSINGER (1997) descreveu que a lactose em sua forma cristalina nos lácteos pode ser encontrada na forma de α -hidratada ou β -anidra, ou ainda como uma mistura vítrea amorfa de α e β -lactose.

A mutarrotação é um fenômeno importante ao analisar a cristalização, uma vez que as frações possuem diferentes solubilidades (PERRONE, 2006). A forma α é

convertida na forma β através da mudança de posição da hidroxila e do hidrogênio do grupo redutor.

Estudos mostram que a solubilidade da lactose em solução aquosa é variável de 14,61g a 156,96g por 100g de água em temperaturas entre 10°C e 90°C. A α -lactose se cristaliza como forma hidratada, sendo cristais duros e não higroscópicos. Já a β -lactose possui uma solubilidade 10 vezes maior, pois seus cristais são menores e aumentam a área de contato (MONTES, 2003).

Para evitar a agregação e aparecimento de arenosidade (causado pela cristalização) nos produtos lácteos, os cristais não podem ser maiores que 10 μm (WALSTRA et al, 2001). E solventes, sais ou sacarose, podem influenciar na solubilidade da lactose, podendo reduzir sua solubilidade em até 80% do valor normal (PERRONE, 2006).

Pode-se observar a formação de cristais de tamanho maior em amostras estocadas a temperaturas mais baixas, isso se relaciona à diminuição da solubilidade da lactose no meio. A lactose possui menor solubilidade em temperaturas mais baixas, portanto possui maior probabilidade de formação de cristais no produto concentrado em temperaturas mais baixas. Porém, em temperaturas superiores este fenômeno também foi observado. Em temperaturas maiores foi observado o aparecimento dos cristais, porém eles possuíam tamanhos menores, indicando uma saturação do meio.

4.4. Efeito do tempo e temperatura de estocagem

Os fatores de variação e sua interação foram avaliados em função de modelo linear. Na Tabela 8 observa-se os valores de p para cada uma das variáveis dependentes, sendo destacado as com valores de $p < 0,05$. Todas as variáveis estudadas foram afetadas pela temperatura de estocagem. Já o tempo de estocagem isoladamente não é fator significativo para a concentração de HMF e o valor de cor a^* . A interação (temperatura*tempo) foi irrelevante para a sedimentação e a concentração de HMF. Vale destacar o fato da dependência exclusiva da concentração de HMF da temperatura. Pelos valores da ANOVA para a regressão linear é de se esperar que a concentração de HMF atinja a um patamar e mantenha seus valores em uma faixa média. Já para o valor de cor a há uma importância maior

da temperatura do que do tempo, uma vez que este segundo só é significativo na interação (Temperatura*Tempo).

Tabela 8 - Nível de significância (p) das variáveis independentes em relação aos parâmetros avaliados

	Sedimentação	HMF	pH	Acidez	Cor L	Cor a	Cor b
Temperatura	<0,001*	0,010*	<0,001*	<0,001*	0,002*	<0,001*	<0,001*
Tempo	0,044*	0,614	<0,001*	0,001*	0,043*	0,550	<0,001*
Temperatura*Tempo	0,449	0,077	<0,001*	<0,001*	<0,001*	<0,001*	0,009*

* Correlações significativas ($p < 0,05$)

A correlação linear entre as variáveis dependentes foi avaliada (Tabela 9), sendo as correlações significativas ($p < 0,05$) destacadas na tabela. O teor de HMF tem correlação linear com o pH, e os parâmetros de cor a e b, sendo positivo para estes dois últimos. Assim, um aumento do teor de HMF indica também um aumento dos valores de a e b. Já para o pH uma redução desses valores tende a um aumento do teor de HMF.

A Reação de Maillard é uma das reações mais conhecidas do escurecimento não enzimático e surge principalmente durante aquecimento e armazenamento prolongado de alimentos e favorece a formação de compostos responsáveis pela alteração de sabor, aroma e cor de produtos que sofrem tratamento térmico (FRANCISQUINI, 2016).

Em forma de cascata, a primeira reação é a condensação da carbonila do açúcar redutor com a amina livre de aminoácidos, proteínas ou peptídeos, formando uma base de Schiff instável, gerando água e glicosilamina. A base de Schiff sofre alterações formando um açúcar aldose ou um açúcar cetose, conhecido também como produto de Amadori ou produto de Heyns, respectivamente, ambos sendo estáveis e sem cor. Com a continuação do aquecimento ou armazenamento esses produtos são quebrados e ocasionam reações de desidratação, enolização e retroaldolização, gerando produtos como redutonas, derivados de furfural como a 5-hidroxi metilfurfural. Estes compostos possuem capacidade de absorção de radiação

UV, são reativos e se polimerizam com resíduos de lisina e arginina, formando pigmentos escuros chamados de melanoidinas, levando à coloração desejável ou não em produtos (ARAÚJO, 2008; BASTOS et al., 2011).

A reação de Maillard pode ser afetada pela temperatura e pelo pH, onde em temperaturas baixas a reação é lenta e duplica a cada aumento de 10°C, enquanto para o pH a descoloração máxima é na faixa de pH 9 e 10 (FENNEMA, 2010).

Verifica-se uma correlação negativa entre pH e todos os outros fatores, com exceção da luminosidade (cor-L), que apresenta correlação linear positiva. Uma redução do pH tende a aumentar a sedimentação. Durante a estocagem, pode ocorrer uma redução de 0,15 unidades no pH, favorecendo assim o depósito de sedimentos no leite UHT, uma vez que a redução no pH está diretamente relacionado com o aumento de cálcio iônico. O cálcio iônico é aumentado pela dissociação do fosfato de cálcio da micela de caseína e aumento da solubilidade (COSTA, 2010).

A estabilidade térmica do leite é mínima em pH inferior à 6,2, pois a quantidade de cálcio iônico está elevada. Enquanto em pH 5,2 ou 5,3 as ligações que mantêm as micelas de caseína juntas são fracas, reduzindo a carga e a hidratação das proteínas (BRASIL et al., 2015).

Para a acidez houve uma esperada correlação linear negativa com o pH, já que por definição o aumento da concentração de ácidos gera um aumento dos íons da concentração de íons H^+ no meio. Os parâmetros de cor a^* e b^* tem correlação com o pH, apresentando aumento dos valores com a diminuição do pH. Já o parâmetro de cor L tende a diminuir com a diminuição do pH.

Uma das variáveis para controlar a reação de Maillard é o pH, onde em valores menores reduz a velocidade da reação, favorecendo então maiores valores dos parâmetros a^* e b^* , verde a vermelho e azul a amarelo, respectivamente (FENNEMA, 2010).

Os parâmetros de cor a^* e b^* tem correlação com o pH, apresentando aumento dos valores com a diminuição do pH. Já o parâmetro de cor L tende a diminuir com a diminuição do pH.

Tabela 9 – Valor de correlação linear entre os parâmetros avaliados em diferentes tempos e temperaturas.

	HMF	pH	Acidez	Cor-L	Cor-a*	Cor-b*
Sedimentação	0,20	-0,52*	0,32*	-0,22	0,42*	0,57*
HMF		-0,36*	0,30	-0,26	0,33*	0,42*
pH			-0,71*	0,47*	-0,66*	-0,83*
Acidez				-0,50*	0,59*	0,67*
Cor-L					-0,74*	-0,52*
Cor-a*						0,62*

* Correlações significativas ($p < 0,05$)

A acidez também mostra uma correlação linear positiva com a sedimentação, ou seja, um aumento acidez aumenta também a sedimentação. Esta característica está relacionada à aproximação do ponto isoelétrico das micelas de caseína e uma diminuição da repulsão destas estruturas coloidais. Já os parâmetros de cor têm uma relação inversa ao pH, com o aumento da acidez há um aumento dos valores de a* e b* e uma diminuição de L. As causas são as mesmas que as apresentadas para o pH.

Por fim, observou-se que os próprios parâmetros de cor têm uma correlação linear entre si. A luminosidade apresenta uma correlação linear negativa em relação aos parâmetros *a e b*. Já os parâmetros a* e b* se correlacionam linearmente de forma positiva. Isto possivelmente está associado à formação ou degradação de componentes de cor que afetam os dois parâmetros em conjunto.

5. Conclusão

A temperatura e o tempo de estocagem afetaram a cor, a aparência e a consistência do leite concentrado. Pode-se constatar por meio do aspecto visual e das análises físico-químicas que a exposição às temperaturas de 30°C e 50°C promoveram alterações já nos primeiros dias. Entretanto, em baixas temperaturas (10° C), foram verificadas mudanças físicas associadas à formação de cristais, mas com maior estabilidade em relação aos outros parâmetros. A temperatura afetou diretamente todos os parâmetros estudados. Em temperaturas mais baixas, nos primeiros dias de armazenamento, foi possível observar que houve uma tendência da aproximação para a cor verde, diminuindo então o valor do parâmetro de cor a^* . Ao longo dos dias, especificamente, na mudança no dia 60 para 90, ocorreu um aumento do parâmetro de cor a . Já para o parâmetro de cor b , foi possível observar que houve um aumento em todas as temperaturas ao longo do armazenamento. Pode-se observar um comportamento diferente nos tratamentos de 50°C, onde tanto o parâmetro de cor a , quanto o parâmetro de cor b , tiveram aumentos contínuos. Para o parâmetro de luminosidade, o L , foi possível observar uma variação muito discreta para as temperaturas de 10°C e 30°C. Para a temperatura de 50°C houve uma tendência de redução da luminosidade com o tempo.

Já o tempo só não afetou diretamente o parâmetro de cor a e a concentração de HMF. Observou-se também uma correlação significativa para grande parte dos parâmetros avaliados. Apenas quatro pares de parâmetros não apresentaram correlação, sendo 3 deles associados ao HMF.

Observa-se que para o produto em questão os pontos mais importantes foram a sedimentação e a formação de cristais. O primeiro está associado à desestabilização de proteínas por ação de enzimas proteolíticas e, em parte, a ação de micro-organismos que não foram inibidos pelo azida sódica. O segundo associa-se à lactose possuir menor solubilidade em temperaturas mais baixas e possuir maior probabilidade de formação de cristais no produto concentrado em temperaturas mais baixas. Porém, em temperaturas superiores este fenômeno também foi observado entretanto em tamanhos menores. A observação destes demonstram a necessidade de se associar outras formas de conservação para a maior estabilidade do produto, como a refrigeração ou a esterilização após concentração. Já a formação de cristais

é oriunda da saturação de lactose no meio, o que pode ser controlada por meios enzimáticos ou de controle da formação de cristais.

6. Referências

ARAÚJO, J. M. A. **Química de Alimentos - Teoria e Prática**. 4. Ed. Viçosa: Ed. UFV, 2008. 596 p.

BASTOS, D. H. M et al. Produtos da reação de Maillard em alimentos industrializados. **Nutrire: rev. Soc. Bras. Alim. Nutr.**, v. 36, n. 3, p. 63-78, 2011.

BRASIL, R. F.; et al. Estrutura e estabilidade das micelas de caseína do leite bovino. **Ciência Animal** 25 (2): 71-80, 2015.

BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA E ABASTECIMENTO. INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 11, DE 20 DE OUTUBRO DE 2000. **Aprova o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Mel**. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/suasa/regulamentos-tecnicos-de-identidade-e-qualidade-de-produtos-de-origem-animal-1/IN11de2000.pdf> Acessado em: 07 de maio de 2021

BRONDI, J. Z et al. Avaliação físico-química de diferentes marcas de leite condensado. **Higiene Alimentar**, v. 25, p. 305-306, 2011.

BURTON, H. **Ultra-High-Temperature Processing of Milk and Milk Products**. Boston, MA: Springer US, 1994. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/978-1-4615-2157-0>>. Acesso em: 07 maio 2021.

CAMARA, F. A.; WESCHENFELDER, S. Leite UHT Integral: Avaliação Da Rotulagem Nutricional E Dos Padrões De Identidade E Qualidade. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 69, n. 4, p. 268, 2014.

CORTÉS-YÁÑEZ, D. A. et al. Antioxidant activity developed at the different stages of Maillard reaction with milk proteins. **LWT - Food Science and Technology** v. 89, p. 344–349, mar. 2018.

COSTA, A. M. C. **Avaliação de características físico-químicas e alterações em leite UHT (UAT) produzido no estado de Goiás do longo da estocagem**. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). 55 p. Universidade Federal de Goiás, Goiânia, Goiás, 2010.

DAMASIO, D. S. N. **Desenvolvimento de comprimidos de azidiol para uso na conservação do leite**. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) - MG. 92p. 2012.

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) . **Coleta de amostras para análises laboratoriais do leite cru: determinação dos teores de gordura, proteína, lactose, sólidos totais e contagem de células somáticas**. Revisado em 12/12/2011. Disponível em <http://www.cnpqgl.embrapa.br/nova/laboratorios/arquivos/circ tecnica62.doc> Acesso em 21 de março de 2021..

FENNEMA, O. R.; SRINIVASAN, D.; KIRK, L. P. Química de Alimentos de Fennema. Tradução Adriano Brandelli (*et al.*) 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2010. 900 p.

FRANCISQUINI, J. A. et al. Avaliação da intensidade da reação de Maillard, de atributos físico-químicos e análise de textura em doce de leite [Evaluation of Maillard Reaction intensity, physico-chemical attributes and texture analysis of dulce de leche]. **Revista Ceres**, v. 63, n. 5, p. 589–596, 2016.

FRANCISQUINI, J.A. et al. Reação de Maillard: Uma revisão. **Revista Inst. Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v72, n.1, p. 48-57, jan/mar, 2017.

GALINA, C. Produção de Leite Condensado, Trabalho de Conclusão de Curso - Universidade Regional de Blumenau, Blumenau, 2010. 168p.

HOLSINGER, V. H. Physical and chemical properties of lactose. In: FOX, P. F. Advanced dairy chemistry. 2 ed. London: Chapman & Hall, 1997. v. 3, p. 1-38.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ (SÃO PAULO). **Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos**. 4a edição ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008. Disponível em: [/www.ial.sp.gov.br/resources/editorinplace/ial/2016_3_19/analisedealimentosial_2008.pdf](http://www.ial.sp.gov.br/resources/editorinplace/ial/2016_3_19/analisedealimentosial_2008.pdf). Acesso em: 14 nov. 2017.

LEIVA, G. E.; NARANJO, G. B.; MALEC, L. S. A study of different indicators of Maillard reaction with whey proteins and different carbohydrates under adverse storage conditions. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 215, n. Supplement C, p. 410–416, 2017.

LINCHSTEIN, H.C.; Malcolm, H. S. Studies of the Effect of Sodium Azide on Microbic Growth and Respiration. *Journal of Bacteriology*. v. 47, p. 221-230, 1943.

LIU, D. Z et al. Evaporative concentration of skimmed milk: Effect on casein micelle hydration, composition, and size. **Food Chemistry** v. 134, n. 3, p. 1446–1452, out. 2012.

MAGALHÃES, F. A. R. et al. AVALIAÇÃO DE DIFERENTES TECNOLOGIAS PARA PRODUÇÃO DE QUEIJO PRATO A PARTIR DE LEITE CONCENTRADO POR EVAPORAÇÃO A VÁCUO. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes** v. 65, n. 376, p. 42–46, 2010.

MALMGREN, B. et al. Changes in proteins, physical stability and structure in directly heated UHT milk during storage at different temperatures. *International Dairy Journal*, v. 71, p. 60-75, 2017.

MELO-JUNIOR, A. S. Influência da contagem de células somáticas e microrganismos psicotróficos na geleificação e sedimentação do leite UHT. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos), 63p. Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, 2005.

MENDES, P. N. **Leite condensado: comparação entre o processo tradicional e empregando pré-concentração por membranas**. Dissertação de Mestrado – UFJF, Juiz de Fora, 2011. 57 f. p.

MONTES, E. J. N. Dados da solubilidade da lactose em diferentes temperaturas. *Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes, Juiz de Fora*, v. 58, n. 333, p. 259-260, 2003.

MORTIER, L, et al. Intrinsic indicators for monitoring heat damage of consumption milk. **Biotechnology, Agronomy, Society and Environment**, 4:221-225. 2000. Disponível em : <https://popups.uliege.be/1780-4507/index.php/base/index.php?id=17504&file=1&pid=15102> Acessado em: 15 abril 2018.

PERRONE, I. T. Efeito da nucleação secundária sobre a cristalização do doce de leite. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos). 49 p. Universidade Federal de Lavras, Lavras, Lavras, MG, 2006.

RIZELIO, V. M. et al. Development of a fast MECK method for determination of 5 HMF in honey samples. **Food chemistry** v. 133, n. 4, p. 1640–1645, 2012.

ROCHA, L. O. F. et al. Storage time effect on ‘Dulce de leche’ characteristics with coffee and whey. **Acta Scientiarum. Technology** v. 39, n. 4, p. 503–510, 15 set. 2017.

SANTOS, E. S.; CARVALHO, E. P.; ABREU, L. R.; Psicotróficos: consequências de sua presença em leites e queijos. **Boletim Sociedade Brasileira Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 33, n. 22, p. 129-138, jul./dez. 1999.

SHIBAO, J.; BASTOS, D. H. M. Produtos da reação de Maillard em alimentos: implicação para saúde. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 24, n. 6, p. 895-904, 2011.

SILVA, P. H. F. Leite UHT: fatores determinantes para sedimentação e gelificação. Do autor: Juiz de Fora, 2004. 128p.

VANCIN, F. R. et al . Effects of different concentrations of sodium azide and chloramphenicol on the preservation of raw milk samples. **Ciencia Rural**, Santa Maria , v. 50,n. 2, 2020 . Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782020000200750&lng=en&nrm=iso>. Acessado em: 17 Maio 2021.

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