UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ZOOTECNIA E ENGENHARIA DE ALIMENTOS

CAROLINA RODRIGUES DA FONSECA

**Efeito do tempo de armazenamento do leite de cabra *in natura* sobre a qualidade e a
estabilidade do leite de cabra em pó**

Pirassununga

2010

CAROLINA RODRIGUES DA FONSECA

Efeito do tempo de armazenamento do leite de cabra *in natura* sobre a qualidade e a estabilidade do leite de cabra em pó

Tese apresentada à Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Doutor em Zootecnia.

Área de concentração: Qualidade e produtividade animal.

Orientador: Prof. Dr. Carlos Augusto Fernandes de Oliveira.

Pirassununga

2010

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação

Serviço de Biblioteca e Informação da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da
Universidade de São Paulo

F676e	<p>Fonseca, Carolina Rodrigues da</p> <p>Efeito do tempo de armazenamento do leite de cabra <i>in natura</i> sobre a qualidade e a estabilidade do leite de cabra em pó. / Carolina Rodrigues da Fonseca. -- Pirassununga, 2010.</p> <p>91 f.</p> <p>Tese (Doutorado) -- Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos - Universidade de São Paulo. Departamento de Engenharia de Alimentos.</p> <p>Área de Concentração: Qualidade e Produtividade Animal.</p> <p>Orientador: Prof. Dr. Carlos Augusto Fernandes de Oliveira.</p> <p>1. Refrigeração do leite 2. Psicotróficos 3. Lipólise 4. Proteólise 5. Análise descritiva quantitativa (ADQ) 6. Desidratação 7. Vida útil do leite em pó. I. Título.</p>
-------	--

*Aos meus pais, Antonio e Dirce,
por todo amor e compreensão.*

À Nina, a sobrinha querida que mora longe.

AGRADECIMENTOS

À Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos pela oportunidade de aprendizado e acolhimento durante estes anos.

A toda minha família pelo imenso apoio, carinho e compreensão.

Ao Prof. Carlos Augusto Fernandes de Oliveira pela orientação.

À amiga Estela Kobashigawa por todo o auxílio nas análises estatísticas e toda a amizade dentro e fora do laboratório.

À Roice, técnica do Laboratório de Microbiologia e Micotoxilogia de Alimentos (LMMA), pela ajuda nas análises cromatográficas, disponibilidade e amizade.

À Fernanda pela realização das análises cromatográficas por CLAE.

À Prof. Dra. Andrezza pelos ensinamentos, momentos de descontração e risadas.

À Diane, Keliani, Natália Mazzuchelli, Natália Gagliardi e Thaiana, as estagiárias mais especiais do mundo, por toda a ajuda, amizade e responsabilidade durante o experimento.

Aos estagiários Milena e Vítor pela ajuda durante os testes iniciais de produção do leite em pó.

Ao Sr. Osvaldo, Fábio e Juliana, funcionários do Laticínio da Coordenadoria do Campus de Pirassununga (CCPS), por toda a ajuda durante o experimento.

À Roseli e Rosilda, técnicas do Laboratório de Bromatologia do Departamento de Zootecnia, por toda a ajuda e boa vontade durante as análises.

À Ednelí, técnica do Laboratório de Processos de Engenharia de Alimentos, por toda a amizade e ajuda durante o processamento do leite em pó.

À Prof. Dra. Ana Lúcia Gabas, por todo o carinho e aprendizado.

À Prof. Dra. Christianne e à Keila, técnica do Laboratório de Separações, por toda a ajuda nas análises cromatográficas.

Ao Prof. Dr. Paulo Sobral e à Ana Mônica, do Laboratório de Tecnologia de Alimentos, e à Prof. Dra. Carmen e ao Marcelo, do Laboratório de Alimentos Funcionais, pelo aprendizado e disponibilização de equipamentos.

Ao Prof. Dr. João Negrão, do Laboratório de Fisiologia Animal e ao Capril da Prefeitura do Campus de Pirassununga, pela disponibilização do leite de cabra utilizado no experimento.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pela bolsa concedida.

À minha equipe de provadores sensoriais, por toda a paciência e ajuda nos testes sensoriais.

À amiga Jaqueline, por toda compreensão, carinho e amizade.

Ao Prof. Steve Flint, do *Institute of Food Nutrition and Human Health (Massey University – Nova Zelândia)* pela oportunidade e pelo intenso aprendizado.

À Weiping Liu, Ann-Marie Jackson e Judy Farrand-Collins, funcionárias do *Microbiology Suite (Massey University – Nova Zelândia)*, por toda a compreensão e ensinamentos.

À empresa *Fonterra Co-operative Group*, em especial ao *Fonterra Research Centre* (Palmerston North – Nova Zelândia) e à Betty Smythe, pela oportunidade e pelo enriquecedor aprendizado.

E todos aqueles que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

Muito obrigada.

*"You create your own universe as you go along. The stronger
your imagination, the more variegated your universe.
When you leave off dreaming, the universe ceases to exist".*

Winston Leonard Spencer Churchill

RESUMO

FONSECA, C.R. **Efeito do tempo de armazenamento do leite de cabra *in natura* sobre a qualidade e a estabilidade do leite de cabra em pó.** 2010. 91 f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2010.

Este trabalho avaliou os efeitos de diferentes períodos de armazenamento do leite de cabra *in natura* sobre a qualidade do produto em pó. Foram avaliadas as alterações microbiológicas, físico-químicas e bioquímicas do leite cru e a influência nas características microbiológicas, físicas, bioquímicas e sensoriais do leite em pó durante o armazenamento por 0, 60, 120 e 180 dias. Foram realizados 3 ensaios idênticos nos quais cerca de 105 L de leite de cabra recém-ordenhado foram igualmente divididos em 3 partes e armazenados a temperatura controlada de 4 °C por até 5 dias. Nos dias 1, 3 e 5 após a coleta do leite *in natura*, uma alíquota de 500 mL foi coletada para a realização das análises. O restante da fração (aproximadamente 35L) foi submetido à pasteurização (65 °C por 30 min), concentração sob vácuo (40% de sólidos totais) e secagem por atomização. Os lotes de leite de cabra em pó obtidos foram avaliados através de análises de composição (umidade, teores de proteína, gordura, lactose e cinzas), dispersibilidade, cor, atividade de água, índice de peróxidos, atividades proteolítica e lipolítica e análise sensorial por uma equipe de provadores treinados. Foram observados efeitos ($P < 0,05$) do período de armazenamento do leite *in natura* e/ou do leite em pó, ou mesmo interação destes efeitos sobre determinadas características durante o armazenamento do leite em pó, como: aumento linear das populações de micro-organismos mesófilos, psicrotróficos lipolíticos e psicrotróficos proteolíticos do leite *in natura*, aumento da intensidade da cor branca (L^*) do leite em pó, da atividade lipolítica e da oxidação do leite em pó. Também foram observados efeitos ($P < 0,05$) em características sensoriais como: redução da coloração amarela do pó de do leite reconstituído, aumento do odor cáprico e dos sabores rançoso e amargo do leite reconstituído. Considerando-se a avaliação global das variáveis estudadas, recomenda-se que o período de armazenamento a 4 °C do leite de cabra *in natura* não ultrapasse 3 dias, para que ocorra a preservação da qualidade do leite de cabra em pó por até 180 dias.

Palavras-chave: refrigeração do leite, psicrotróficos, lipólise, proteólise, análise descritiva quantitativa (ADQ), desidratação, vida-útil do leite em pó.

ABSTRACT

FONSECA, C.R. 2010. **Effect of storage time of *in natura* goat milk on the quality and stability of goat milk powder.** 91 f. Ph.D. Thesis – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2010.

This study evaluated the effects of different storage periods of raw goat milk on the quality of the powder product. Alterations in microbiological and physical-chemical properties of raw milk and their influence on the microbiological, physical, biochemical and sensory characteristics of milk powder during storage for 0, 60, 120 and 180 days were evaluated. There were 3 identical tests in which about 105 L of recently milked goat milk were divided into 3 parts and stored at controlled temperature of 4 °C for up to 5 days. On days 1, 3 and 5 after storage, an aliquot (500 mL) of raw milk was collected to perform microbiological, physico-chemical and biochemical analysis. The remaining fraction (about 35 L) was subjected to pasteurization (65 °C for 30 min), vacuum concentration (40% of total solids) and spray drying. The powders produced were evaluated through analysis of composition (moisture, protein, fat, lactose and ash), dispersibility, color, water activity, granulometry, peroxide value, proteolytic and lipolytic activities and sensory analysis by a selected team of panelists. Effects of storage of raw milk or/and powdered milk or their interaction were observed ($P < 0.05$) on certain characteristics during storage of milk powder, as the increasing of mesophilic, lipolytic psychrotrophic and proteolytic psychrotrophic microorganisms populations in raw milk, increasing of the white color (L^*), the lipolytic activity and the peroxide value of milk powder. There were also observed effects ($P < 0.05$) on sensory characteristics such as decreasing of yellow color of milk powder and reconstituted milk, increasing of capric smell, rancid and bitter flavour of reconstituted milk. Considering the overall evaluation of studied variables, it's recommended that the raw goat milk storage at 4 °C does not exceed 3 days to preserve the quality of goat milk powder until 180 days.

Keywords: refrigerated milk, psychrotrophic, lipolysis, proteolysis, quantitative descriptive analysis (QDA), dehydration, milk powder shelf-life.

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

Faculdade de Ciências Farmacêuticas

Comitê de Ética em Pesquisa - CEP

Ofício CEP nº 41/2007

São Paulo, 27 de março de 2007.

Ilmo(a). Sr(a).
Prof. Dr. Carlos Augusto Fernandes de Oliveira
FZEA

Prezado(a) Senhor(a),

O Comitê de Ética em Pesquisa da FCF/USP, em reunião realizada em 26 de março de 2007, **APROVOU** o projeto "Efeito do tempo de resfriamento do leite de cabra in natura sobre a qualidade e a estabilidade do leite de cabra em pó" (Protocolo CEP nº 423) apresentado por Vossa Senhoria, devendo apenas, providenciar as seguintes alterações no TCLE:

- incluir no item III. 1. e 10 "...leite de cabra integral reconstituído (**leite em pó**)...";
- esclarecer o volume da amostra no item III.10;
- excluir o item IV.4.

Lembramos que após a execução de 50% do cronograma do projeto, deverá ser apresentado um relatório parcial, de acordo com o Artigo 18 – item C, da Portaria FCF-111/97.

Atenciosamente,

Profa. Dra. Valentina Porta
Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa
FCF/USP

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Pasteurizador-tanque.	31
Figura 2 – Concentrador a vácuo.	31
Figura 3 – <i>Spray dryer</i> utilizado para fabricação de leite de cabra em pó.	32
Figura 4 – Controle da quantidade de oxigênio residual no interior da embalagem.	33
Figura 5 – Ficha sensorial utilizada para identificação de gostos básicos.	41
Figura 6 – Ficha sensorial utilizada para o teste de sensibilidade para gosto.	41
Figura 7 – Termos descritivos de atributos de aparência do leite de cabra em pó e do leite de cabra reconstituído, odor e sabor do leite de cabra reconstituído.	43
Figura 8 – Ficha de análise descritiva quantitativa do leite de cabra em pó e do leite reconstituído a 12%.	44
Figura 9 – Evolução do crescimento de micro-organismos em leite de cabra durante o armazenamento por 1, 3 e 5 dias a 4 °C.....	47
Figura 10 – Relação caseína/proteína verdadeira e concentração total de AGL em leite de cabra <i>in natura</i> durante o armazenamento por 1, 3 e 5 dias a 4 °C.	49
Figura 11 – Correlações (r) entre o crescimento de micro-organismos e a concentração total de AGL e a relação C/PV em leite de cabra <i>in natura</i>	50
Figura 12 – Perfil individual de caseínas (g/100 mL de leite) em leite de cabra <i>in natura</i> armazenado por 1, 3 e 5 dias a 4 °C.....	51
Figura 13 – Perfil individual de AGL (mg/ L de leite) em leite de cabra <i>in natura</i> armazenado por 1, 3 e 5 dias a 4 °C.....	52
Figura 14 – Fotografia de gel contendo fragmento amplificado de DNA de cepas de <i>B. cereus</i> isoladas de leite de cabra em pó analisadas através da técnica PCR.	57
Figura 15 – Relação caseína/proteína verdadeira de leite de cabra em pó durante o armazenamento por até 180 dias a 25 °C em função do período de armazenamento do leite de cabra <i>in natura</i> a 4 °C.....	57

Figura 16 – Perfil de caseínas (g/100 g de pó) de amostras (<i>Ai-j</i>) de leite de cabra em pó durante o armazenamento por até 180 dias (<i>j</i>) a 25 °C em função do período de armazenamento do leite de cabra <i>in natura</i> a 4 °C (<i>i</i>).....	58
Figura 17 – Efeitos dos períodos de armazenamento do leite de cabra <i>in natura</i> (eixo z) e do leite de cabra em pó (eixo x) na lipólise (eixo y) do leite em pó.	61
Figura 18 – Perfil individual de AGL (mg/100 g de pó) de amostras (<i>Ai-j</i>) de leite de cabra em pó durante o armazenamento por até 180 dias (<i>j</i>) a 25 °C em função do período de armazenamento do leite de cabra <i>in natura</i> a 4 °C (<i>i</i>).....	62
Figura 19 – Efeitos dos períodos de armazenamento do leite de cabra <i>in natura</i> (eixo z) e do leite de cabra em pó (eixo x) no índice de peróxidos (eixo y) do leite em pó.....	64
Figura 20 – Distribuição do tamanho de partículas de amostras (<i>Ai-j</i>) de leite de cabra em pó durante o armazenamento por até 180 dias (<i>j</i>) a 25 °C em função do período de armazenamento do leite de cabra <i>in natura</i> a 4 °C (<i>i</i>).....	68
Figura 21 – Perfil e intensidade de características de aparência de amostras (<i>Ai-j</i>) de leite de cabra em pó durante o armazenamento por até 180 dias (<i>j</i>) a 25 °C em função do período de armazenamento do leite de cabra <i>in natura</i> a 4 °C (<i>i</i>).	70
Figura 22 – Perfil e intensidade de características de odor de amostras (<i>Ai-j</i>) de leite de cabra em pó durante o armazenamento por até 180 dias (<i>j</i>) a 25 °C em função do período de armazenamento do leite de cabra <i>in natura</i> a 4 °C (<i>i</i>).	72
Figura 23 – Perfil e intensidade de características de sabor de amostras (<i>Ai-j</i>) de leite de cabra em pó durante o armazenamento por até 180 dias (<i>j</i>) a 25 °C em função do período de armazenamento do leite de cabra <i>in natura</i> a 4 °C (<i>i</i>).	73

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Composição e caracterização físico-química de leite de cabra <i>in natura</i> após o armazenamento a 4 °C por 1, 3 e 5 dias.	46
Tabela 2 – Valores de P do efeito do período de armazenamento a 4 °C sobre a qualidade microbiológica do leite de cabra <i>in natura</i>	48
Tabela 3 – Composição de leite de cabra em pó durante o armazenamento por até 180 dias a 25 °C em função do período de armazenamento do leite de cabra <i>in natura</i> a 4 °C.	53
Tabela 4 – Valores de P dos efeitos dos períodos de armazenamento do leite de cabra <i>in natura</i> e do leite de cabra em pó sobre a composição do leite em pó.	54
Tabela 5 – Qualidade microbiológica de leite de cabra em pó durante o armazenamento por até 180 dias a 25 °C em função do período de armazenamento do leite de cabra <i>in natura</i> a 4 °C.	55
Tabela 6 – Valores de P dos efeitos dos períodos de armazenamento do leite de cabra <i>in natura</i> e do leite de cabra em pó sobre a relação caseína/proteína verdadeira e sobre as frações de caseína do leite de cabra em pó.	59
Tabela 7 – Concentração de AGL totais (meq/kg de leite em pó) de leite de cabra em pó durante o armazenamento por até 180 dias a 25 °C em função do período de armazenamento do leite de cabra <i>in natura</i> a 4 °C.	60
Tabela 8 – Valores de P dos efeitos dos períodos de armazenamento do leite de cabra <i>in natura</i> e do leite de cabra em pó sobre o perfil de AGL de leite de cabra em pó.	63
Tabela 9 – Índice de peróxido (meq/kg de gordura) de leite de cabra em pó durante o armazenamento por até 180 dias a 25 °C em função do período de armazenamento do leite de cabra <i>in natura</i> a 4 °C.	63

Tabela 10 – Dispersibilidade, índice de insolubilidade, atividade de água, luminosidade (L*), componente a* e componente b* de leite de cabra em pó durante o armazenamento por até 180 dias a 25 °C em função do período de armazenamento do leite de cabra <i>in natura</i> a 4 °C.	65
Tabela 11 – Valores de P dos efeitos do período de armazenamento do leite de cabra <i>in natura</i> e do leite de cabra em pó sobre as propriedades físicas de leite de cabra em pó.	66
Tabela 12 – Valores de P dos efeitos do período de armazenamento do leite de cabra <i>in natura</i> e do leite de cabra em pó sobre as características sensoriais do leite de cabra em pó e do leite reconstituído (LR).	71

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AG	Ácidos graxos
AGL	Ácidos graxos livres
aw	Atividade de água
C	Caseína
CLAE	Cromatografia líquida de alta eficiência
CCPS	Coordenadoria do Campus de Pirassununga
FZEA	Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos
g	Grama
GLM	<i>General linear mode</i>
kg	Quilograma
L	Litro
LMMA	Laboratório de Microbiologia e Micotoxicologia de Alimentos
LR	Leite reconstituído
log	Logarítmo
meq	Miliequivalente
mg	Miligrama
min	Minutos
mL	Mililitro
NMP	Número mais provável
NNC	Nitrogênio não caseinoso
NNP	Nitrogênio não protéico
NT	Nitrogênio total
PCR	Reação da polimerase em cadeia
PE	Polietileno
PET	Politereftalato de etileno
PV	Proteína verdadeira
rpm	Rotações por minuto
s	Segundos
SAS®	Statistical System Analysis
UAT	Ultra Alta Temperatura
UFC	Unidades formadoras de colônia
USP	Universidade de São Paulo

LISTA DE SÍMBOLOS

α	Alfa
β	Beta
κ	Kapa
a^*	Componente verde-vermelho
b^*	Componente amarelo-azul
$^{\circ}\text{C}$	Graus centígrados
$^{\circ}\text{D}$	Graus Dornic
L^*	Luminosidade
P	Probabilidade
r	Coeficiente de correlação
R^2	Coeficiente de determinação
®	Marca registrada
™	<i>Trade mark</i>
μ	Micro
$=$	Igual
$>$	Maior
$<$	Menor
$\pm$	Mais ou menos

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	17
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	19
2.1 Composição do leite de cabra	19
2.2 Atuação de micro-organismos psicrotróficos durante o armazenamento	20
2.3 Tecnologia da produção de leite em pó	22
2.4 Influência da qualidade do leite <i>in natura</i> na qualidade do leite em pó	25
2.5 Oxidação lipídica e utilização de atmosfera modificada em embalagens	27
3. OBJETIVOS	29
3.1 Objetivo geral	29
3.2 Objetivos específicos	29
4. METODOLOGIA.....	30
4.1 Obtenção dos lotes de leite em pó	30
4.2 Caracterização do leite <i>in natura</i>	33
4.2.1 Avaliação da composição	33
4.2.2 Avaliação microbiológica.....	33
4.2.3 Avaliação da proteólise	34
4.2.4 Avaliação da lipólise.....	35
4.3 Caracterização do leite em pó	36
4.3.1 Avaliação da composição	36
4.3.2 Avaliação microbiológica.....	36
4.3.3 Avaliação da proteólise	38

4.3.4	Avaliação da lipólise.....	38
4.3.5	Índice de peróxidos	38
4.3.6	Avaliação das propriedades físicas	39
4.3.7	Avaliação sensorial	40
4.4	Análise estatística	45
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	46
5.1	Caracterização do leite cru	46
5.1.1	Avaliação da composição e avaliação microbiológica	46
5.1.2	Avaliação da proteólise e da lipólise	49
5.2	Caracterização do leite em pó	53
5.2.1	Avaliação da composição	53
5.2.2	Avaliação microbiológica.....	55
5.2.3	Avaliação da proteólise	57
5.2.4	Avaliação da lipólise.....	60
5.2.5	Índice de peróxido.....	63
5.2.6	Avaliação das propriedades físicas.....	64
5.2.7	Avaliação sensorial	69
6.	CONCLUSÕES	76
7.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	77
8.	APÊNDICES.....	88

1. INTRODUÇÃO

A produção do leite de cabra (*Capra hircus*) é de significativa importância para a economia e sobrevivência de uma grande parte das populações em vários países do mundo, tanto em países em desenvolvimento (países da Ásia, África, América do Sul, Oriente Médio e países mediterrâneos) como nos países desenvolvidos da América do Norte, Europa e Oceania (BILLON, 2003).

Nas últimas décadas, houve um crescimento do interesse pela produção de leite de cabra e sua conversão em produtos de alto valor agregado assim como uma renovação no interesse pelo leite de cabra como uma fonte alternativa para pessoas intolerantes ao leite bovino (TZIBOULA-CLARKE, 2003). O leite de cabra tem sido utilizado no tratamento de crianças que apresentam alergia à proteína do leite de vaca, e é muitas vezes indicado como seu melhor substituto. No entanto, seu sabor e odor característicos comprometem sua aceitabilidade pelos consumidores (LUIZ et al., 1999).

A produção de leite de cabra em pó tem despertado crescente interesse por parte dos laticínios. Com o intuito de aumentar a vida útil do leite de cabra sem alterar suas características nutritivas e sensoriais, a desidratação surge como uma importante alternativa de conservação, assegurando o atendimento ao mercado consumidor durante todo o ano, mesmo em períodos de entressafra ou de baixa estação, e expandem este mercado a regiões mais distantes do centro produtor, tanto no que diz respeito à maior vida útil do produto quanto à facilidade e o menor custo de transporte.

O processo de secagem por *spray drying* envolve a atomização do leite num fluxo de ar quente, no qual a água é progressivamente evaporada das gotículas até que as partículas de leite em pó sejam produzidas (NIJDAM; LANGRISH, 2006). Geralmente, as condições práticas de armazenamento do leite em pó (temperatura e umidade relativa) são estabelecidas em função da garantia da segurança microbiológica e da manutenção da aceitação da aparência do produto pelo consumidor (principalmente pela cor clara e pela fluidez), o que tecnicamente não é correto, já que alterações físico-químicas e bioquímicas, como a cristalização da lactose, o escurecimento não enzimático (Reação de Maillard) e a oxidação lipídica, ocorrem durante o armazenamento prolongado (THOMAS et al., 2004).

Há algum tempo, o leite em pó era considerado um produto relativamente inerte aos processos biológicos por causa da sua baixa umidade que inibe o crescimento da maioria dos micro-organismos. Entretanto, algumas evidências têm mostrado que as alterações no leite em pó durante o armazenamento não são causadas apenas por reações químicas (RENNER, 1988; STAPELFELDT; NIELSEN; SKIBSTED, 1997), mas também pela atividade

das enzimas termorresistentes produzidas por determinados micro-organismos (CELESTINO; IYER; ROGINSKI, 1997).

As pequenas produções individuais, a sazonalidade da produção e as dificuldades de transporte e industrialização afetam a oferta do leite de cabra *in natura* no país, deixando muitas vezes como única opção o congelamento e esterilização do leite. Estas dificuldades levam à prática do acúmulo do leite produzido em mais de um dia, sob refrigeração, antes de ser submetido ao beneficiamento (FERREIRA; THAMA; NEUMANN, 1992). Este armazenamento do leite em temperaturas de refrigeração tem resultado em novos problemas de qualidade para a indústria. A qualidade do leite é determinada por um conjunto de fatores que englobam aspectos físico-químicos, biológicos, sanitários e microbiológicos. A qualidade bacteriológica do leite é um dos principais fatores responsáveis pela manutenção de suas características químicas e organolépticas em níveis adequados. A freqüente prática de estocagem do leite cru a 4-7 °C por 3 a 4 dias antes do processamento, permite o crescimento de bactérias psicrotróficas (SILVA, 1991; GOMES, 1988).

Mudanças físico-químicas e bioquímicas no leite estocado a frio são importantes nas características do produto final. A produção de enzimas pelas bactérias psicrotróficas, como as proteases e as lipases, podem alterar o sabor e afetar o rendimento industrial. As proteases atuam sobre as proteínas, hidrolisando-as para compostos menores acarretando perdas de rendimento e dando origem a peptídeos, que podem ser responsáveis por sabores desagradáveis, principalmente o amargor. As lipases, agindo sobre a gordura do leite produzem uma lipólise excessiva e descontrolada que pode descaracterizar o produto, conferindo-lhe um sabor de ranço, sabão e outros (MOURA, 1997). As lipases e proteases produzidas pelas bactérias psicrotróficas não podem ser inativadas pelos sistemas convencionais de pasteurização (ZALL; CHAN, 1981).

Este experimento foi conduzido no período de julho de 2009 a fevereiro de 2010 e teve como finalidade analisar as possíveis alterações físico-químicas, bioquímicas e microbiológicas no leite de cabra *in natura* durante o armazenamento a 4 °C por 1, 3 e 5 dias e também analisar a influência deste período de armazenamento do leite *in natura* na qualidade do leite de cabra em pó, através de análises físico-químicas, bioquímicas, microbiológicas e sensoriais.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Composição do leite de cabra

A utilização do leite de cabra para a produção de derivados tem aumentado nos últimos anos, entretanto a proporção ainda é muito menor quando comparada às produções mundiais de leite de vaca e búfala. A produção de leite de cabra, seja comercial ou artesanalmente na fazenda, é feita com sucesso para o leite pasteurizado, leite UAT, leite evaporado, sorvete, leite em pó, queijos e iogurtes em alguns países. A rejeição pelo consumidor ao sabor característico do animal nos derivados de leite de cabra pode existir em algumas regiões, mas produtos como sorvete e leite em pó feitos com o leite desta espécie, devido aos seus altos valores nutricionais e suas propriedades antialergênicas, podem ser uma ótima alternativa para crianças, jovens e pessoas convalescentes (PANDYA; GHODKE, 2007).

Para desenvolver produtos derivados do leite de cabra, como por exemplo, o leite em pó integral, a indústria leiteira é dependente da matéria-prima com alto conteúdo de sólidos totais, qualidades microbiológicas e organolépticas consistentes e satisfatórias. Jaubert e Kalantzopoulos (1996) citam que a qualidade do leite de cabra pode ser considerada como o seu potencial em ser submetido ao processamento e adicionalmente resultar num produto que atenda às expectativas dos consumidores em relação à saúde (valor nutricional), segurança (qualidade higiênica) e satisfação (atributos sensoriais).

A composição do leite de cabra varia amplamente de acordo com fatores nutricionais, ambientais, raça, estágio da lactação, número de partos e estação do ano (BOYAZOGLU; MORAND-FEHR, 2001).

O conteúdo de lactose no leite caprino é idêntico ao leite bovino, variando em função do estágio da lactação, de 4,4 a 4,7%. A acidez do leite de cabra no momento da ordenha varia entre 12 e 14 °D. Essa acidez natural é função do período de lactação, já que a concentração de caseína varia nos diferentes estágios da lactação. A acidez natural do leite depende do conteúdo de caseína, sais minerais e íons (MENS, 1991).

Características peculiares do leite de cabra são a menor estabilidade das micelas de caseína ao calor e a maior quantidade de β -caseína em relação à α 1-caseína, se comparado ao leite bovino (PARK, 2001). Aproximadamente 77% da proteína do leite de cabra é composta por caseína e o conteúdo total de proteína é geralmente maior do que no leite de vaca (3,4% e 3,0% respectivamente). Segundo Mens (1991), o leite de cabra é mais pobre em proteínas que o leite bovino (2,81% e 3,11%, respectivamente), mas com concentração de caseína semelhante (2,33%). Remeuf e Lenoir (1986) encontraram valores

médios de α 1-caseína e β -caseína nos leites caprino e bovino de 5,6 e 3,8 e 5,5 e 3,6% da quantidade total de caseína, respectivamente. O leite de cabra também possui maior quantidade de α 2-caseína e κ -caseína que o leite bovino (JENNESS, 1980).

Alguns estudos citam que o sabor característico do leite de cabra está ligado ao polimorfismo genético da α 1-caseína, que influencia não apenas o sabor do leite, mas também a composição e textura dos produtos derivados (DELACROIX-BUCHET; LAMBERET, 2000). Entretanto, Carunchia-Whetstine (2005) cita que, embora as diferenças no conteúdo e na composição da proteína possam desempenhar um papel importante no sabor e na textura do leite caprino, outros estudos demonstram que os ácidos graxos de cadeia ramificada são os responsáveis pelo sabor característico do animal associados ao leite e derivados de cabra.

Os glóbulos de gordura do leite de cabra são menores que os do leite bovino e possuem maior proporção de ácidos graxos de cadeia curta (C6-C10) na posição sn-3 (CHILLIARD et al., 2003). O leite de cabra geralmente possui mais gordura que o leite bovino e esta diferença também tem forte influência no sabor do produto (CARUNCHIA-WHETSTINE, 2005). A alta proporção de glóbulos de gordura de tamanho pequeno no leite de cabra aumenta a superfície de exposição à ação das lipases. Aproximadamente 65% dos glóbulos possuem diâmetro menor que 3 μ m frente a 43% no leite bovino. Sabe-se também que o leite caprino possui aproximadamente o dobro da quantidade de ácidos graxos voláteis se comparado ao leite bovino (MENS, 1991). De acordo com Jenness (1980), a gordura do leite de cabra difere significativamente do leite bovino em relação às quantidades médias dos ácidos graxos, sendo encontrado no primeiro quantidades maiores dos ácidos butírico (C4:0), capróico (C6:0), caprílico (C8:0), cáprico (C10:0), láurico (C12:0), mirístico (C14:0), palmítico (C16:0) e linoléico (C18:2), mas em quantidades menores os ácidos esteárico (C18:0) e oléico (C18:1).

2.2 Atuação de micro-organismos psicrotóxicos durante o armazenamento

O armazenamento do leite cru sob baixas temperaturas e a sua homogeneização aumentam a intensidade do sabor cáprico do leite caprino, assim como o sabor rançoso do leite. Estas duas etapas do processamento de leite causam um aumento no conteúdo de ácidos graxos livres do leite devido ao aumento da área de superfície, expondo os glóbulos de gordura à ação das lipases. A membrana dos glóbulos de gordura intactos de certa forma os protege da ação das lipases. Durante a homogeneização, a membrana é rompida. A multiplicação microbiana também ocorre durante o armazenamento do leite resfriado, o que também pode aumentar o nível de lipases e consequentemente dos ácidos graxos livres (CARUNCHIA-WHETSTINE, 2005).

A rancidez lipolítica pode ser iniciada tanto pelas lipases endógenas do leite como pelas lipases microbianas. As bactérias psicrotróficas, conhecidamente capazes de produzir lipases e proteases termorresistentes, também podem produzir ésteres dos ácidos butírico, isovalérico e hexanóico, os quais podem causar sabor de frutas no leite. O aumento da intensidade do sabor cáprico no leite fresco resfriado está relacionado com o aumento da concentração de ácidos graxos livres, especialmente os de cadeia curta (C6, C8 e C10), os quais são mais abundantes nos leite dos pequenos ruminantes do que no leite bovino (DELACROIX-BUCHET; LAMBERET, 2000). Se a taxa de lipólise no leite é alta, o sabor rançoso causado pelo ácido butírico livre (C4:0) pode aparecer (LAMBERET et al., 1996). A concentração total dos ácidos graxos livres pode indicar grau de lipólise no leite.

Com as práticas de resfriamento do leite, há uma redução da taxa de crescimento microbiano, principalmente dos micro-organismos mesófilos. Por outro lado, esta prática favorece a seleção de micro-organismos, beneficiando o crescimento de bactérias psicrotróficas (MOURA, 1997). As bactérias denominadas psicrotróficas são aquelas que capazes de crescer a baixas temperaturas ($\leq 7\text{ }^{\circ}\text{C}$), independentemente de sua temperatura ótima de crescimento (FONSECA; SANTOS, 2000). Segundo os mesmos autores, as bactérias dos gêneros *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Serratia*, *Listeria*, *Yersinia*, *Lactobacillus*, *Flavobacterium*, *Corynebacterium*, *Micrococcus* e *Clostridium* são as principais bactérias psicrotróficas. Estes micro-organismos, considerados termossensíveis, são na maioria das vezes destruídos pela pasteurização, porém produzem enzimas extracelulares (lipases e proteases) que são resistentes a elevadas temperaturas, permanecendo no leite após a pasteurização (MOURA, 1997). Em pesquisa realizada por Craven e Macauley (1992), amostras de leite pasteurizado contendo *Pseudomonas* tiveram menor vida útil do que as amostras contendo *Flavobacterium* e *Acinetobacter*.

No leite, as bactérias psicrotróficas predominam em situações onde há deficiência de higiene na ordenha, problemas de limpeza e sanitização do equipamento de ordenha, ou mesmo quando ocorre resfriamento marginal do leite (resfriamento à temperatura entre 5 e 15 $^{\circ}\text{C}$) ou quando o tempo de estocagem é demasiadamente longo (CUNHA; BRANDÃO, 2000).

As *Pseudomonas* e os *Bacillus* tem sido amplamente estudados pelo fato da produção de proteinases e lipases no leite (COUSIN, 1982; GRIFFITHS; PHILLIPS, 1990; MATTA; PUNJ, 1999). Priest (1977) cita que algumas espécies de *Bacillus* podem sintetizar uma grande variedade de enzimas extracelulares. O mesmo autor cita ainda que as proteinases produzidas por estes micro-organismos podem converter uma célula vegetativa em um esporo em poucas horas. A germinação de esporos e consequente sobrevivência e

crescimento dos *Bacillus* foram citados em estudo realizado por Stadhouders et al. (1982) durante a produção de leite em pó integral e desnatado.

Os *Bacillus* estão largamente distribuídos no ambiente e podem ser introduzidos no leite e seus derivados durante a produção, manipulação e processamento (MATTA; PUNJ, 1999). Um problema adicional com as espécies de *Bacillus* é o fato delas esporularem durante o processamento de leite em pó, já que os esporos são extremamente resistentes ao calor (GRIFFITHS; PHILLIPS, 1990). Os *Bacillus* são reconhecidamente capazes de produzir maior diversidade de enzimas proteolíticas que as *Pseudomonas*, e muitas cepas podem ainda produzir mais de um tipo de proteinase (CHEN; DANIEL; COOLBEAR, 2003).

O leite recém-ordenhado possui uma carga inicial de psicotróficos baixa (cerca de 10% da carga total), porém, podem tornar-se dominantes caso o leite fique exposto sob temperatura ambiente por algum tempo (FAIRBAIRN; LAW, 1986). Estes micro-organismos crescem sob baixas temperaturas, mas na maioria das vezes sua faixa ideal de crescimento corresponde à faixa dos micro-organismos mesófilos.

Fonseca (2006) estudou o crescimento dos micro-organismos psicotróficos lipolíticos e proteolíticos em leite de cabra cru refrigerado a 4 e 10 °C e observou que na segunda temperatura as populações destes micro-organismos ultrapassaram 10⁶ UFC/mL já no terceiro dia de armazenamento, enquanto a 4 °C esse nível só foi ultrapassado no sexto dia. A mesma autora cita que, embora a pasteurização lenta do leite caprino tenha praticamente eliminado a população de psicotróficos independente da temperatura de armazenamento do leite cru, a quantidade de ácidos graxos livres (AGL) continuou aumentando durante o armazenamento do leite pasteurizado, sendo maior nos tratamentos onde o leite permaneceu cru a 10 °C. Este aumento de AGL provavelmente esteja relacionado com o crescimento dos micro-organismos psicotróficos lipolíticos e liberação das lipases termorresistentes no leite cru durante o armazenamento.

As dificuldades em gerenciar a qualidade sanitária do leite de cabra vem de uma série de fatores incluindo a baixa produção por animal, os sistemas de ordenha, as dificuldades envolvendo os equipamentos de ordenha e as condições nas quais os rebanhos são criados (KLINGER; ROSENTHAL, 1997).

2.3 Tecnologia da produção de leite em pó

O leite em pó integral é um valioso produto, geralmente utilizado pelo consumidor como substituto do leite fresco. Suas propriedades de reconstituição em água, sob uma vasta faixa de temperatura, são importantes para sua aceitabilidade. Na produção do leite em pó integral, o leite é submetido a uma série de processos como agitação, bombeamento, aquecimento, concentração, homogeneização e atomização. Estes tratamentos ocasionam

algumas interações físicas e químicas entre os componentes do leite (micelas de caseína, proteínas do soro, glóbulos de gordura e minerais), as quais são de fundamental importância para determinar as propriedades do leite ao ser reconstituído em água (McKENNA et al., 1999).

A atomização é utilizada atualmente quase que com exclusividade na produção de leite em pó. A pulverização do leite previamente concentrado em um *spray dryer* aumenta a área de superfície da gotícula, facilitando a desidratação. As gotículas são pulverizadas no topo de uma câmara de secagem e são colocadas em contato direto com ar aquecido. Conforme as gotículas passam através do secador, a umidade evapora e a temperatura das gotículas permanece relativamente estável (SINGH; NEWSTEAD, 1992).

Na secagem em câmara *spray*, a alimentação fluida, constituída de sólidos finos em suspensão, é atomizada em uma corrente de ar quente. Este ar, injetado continuamente na câmara, entra em contato direto com as gotículas formadas, proporcionando a troca de calor necessária para evaporar parte do líquido (geralmente água) contido na suspensão. O vapor, assim formado, se difunde na corrente gasosa e é transportado para a saída da câmara. Durante esta secagem, as gotículas são transformadas em um produto sólido particulado com baixos teores de umidade (MASTERS, 1976).

A eliminação de água por secagem é um processo de alto custo energético, e mesmo que não fosse, não seria a melhor técnica para eliminar toda água do leite e obter o leite em pó. O produto elaborado a partir de um líquido com baixa concentração de sólidos totais é de péssima qualidade, com densidade global muito baixa e perdas elevadas durante o processo. Para a obtenção de um produto de melhor qualidade, é necessário eliminar do leite a maior quantidade de água possível antes de proceder a secagem por pulverização, e na maioria dos casos, o método utilizado é a evaporação sob vácuo. A viscosidade do leite evaporado influi no tamanho das gotículas a serem pulverizadas na secagem por atomização. Quanto maior a viscosidade, maior será o tamanho das gotículas. Além disso, o tamanho das partículas é proporcional à vazão de alimentação no *spray dryer* (EARLY, 2000). Ye, Anema e Singh (2007) obtiveram leite bovino em pó de boa qualidade a partir do leite previamente concentrado a 49% de sólidos totais em concentrador de três efeitos, com temperaturas de 70, 63 e 51 °C, respectivamente.

De acordo com Schuck (2002), as características físicas e funcionais (densidade do pó, higroscopicidade, termo-estabilidade, solubilidade, dispersibilidade, grau de aglomeração, umectabilidade, tamanho da partícula, etc.) dependem tanto dos parâmetros durante a secagem (tipo de equipamento, tipo do bico injetor, vazão do ar e do líquido, pressão do ar, temperatura do ar de secagem) como das características do concentrado a ser desidratado (composição, características físico-químicas, viscosidade, termo-estabilidade e disponibilidade de água), indicando que o leite a ser desidratado em leite em

pó deve ser de alta qualidade para garantir a qualidade e prolongada vida útil do produto final (CARIC, 1994).

As altas temperaturas de secagem podem produzir alterações físicas e sensoriais indesejáveis no produto, o que ressalta a importância do controle do processo. Geralmente, estas alterações só são percebidas depois da reconstituição. Na prática, os fatores mais determinantes para as alterações negativas do produto são as temperaturas de entrada e saída do ar de secagem. Os efeitos de altas temperaturas de secagem incluem a desnaturação das proteínas do soro e o aumento da insolubilidade do pó (WALSTRA et al., 2001).

As alterações microbianas e enzimáticas não são muito frequentes em leites em pó. Para que ocorra crescimento microbiano, a atividade de água (a_w) do produto deve ser superior a 0,6 (e para a maioria das bactérias, deve ser muito maior). Estes valores de a_w só são alcançados se o leite em pó permanece em contato com ar bastante úmido. Por este motivo, o conteúdo de água é uma das propriedades de maior importância no controle de qualidade de leite em pó, já que influencia as condições de estocagem e a vida útil do produto (LAI; SCHIMIDT, 1990).

Os parâmetros da qualidade microbiológica do leite em pó estão mais relacionados com as populações dos micro-organismos termodúricos, que resistem às temperaturas utilizadas na pasteurização, e termófilos, que possuem temperaturas ótimas de crescimento em temperaturas na faixa de 45-55 °C. É importante ressaltar que a ausência ou a baixa contagem destes micro-organismos no leite em pó pode simplesmente significar que as bactérias não estão viáveis, mas não indicam necessariamente que as enzimas microbianas tenham sido destruídas, podendo, portanto, estar ativas. Inversamente, a alta contagem de células viáveis não significa obrigatoriamente que suas enzimas comprometam a funcionalidade do leite em pó. Por exemplo, um leite em pó que apresenta população baixa de micro-organismos pode apresentar baixa funcionalidade, ainda que outros leites em pó com alta população microbiana apresentem excelente funcionalidade. A população de bactérias no processamento do leite em pó talvez seja menos relevante que os níveis de proteinases e lipases no produto, o que engrandece a importância da qualidade da matéria-prima no processamento do leite (CHEN; DANIEL; COOLBEAR, 2003).

A solubilidade do leite em pó depende das diferentes etapas de dissolução na água: umectabilidade, capacidade do pó afundar-se na água e dispersibilidade (THOMAS et al., 2004). A capacidade do pó se separar em partículas individuais através da agitação com água denomina-se dispersibilidade. É evidente que as partículas individualizadas se dissolvem mais facilmente que os grumos, nos quais ocorre a formação de uma capa úmida que inibe tanto a umidificação como a dispersão. Os leites em pó com baixa dispersibilidade formam sedimentos, tornando-se necessária uma agitação mais enérgica para conseguir

sua completa dissolução. Tanto do ponto de vista industrial como doméstico, a presença de grumos e/ou sedimentos após a reconstituição do leite em pó é considerada como defeito de produto (EARLY, 2000).

As etapas de dissolução são muito difíceis de serem estudadas independentemente e a solubilidade, que é a etapa final do processo de dissolução, parece ser o melhor critério para avaliar o comportamento do pó em relação à água (THOMAS et al., 2004).

Os atributos funcionais do leite em pó incluem ainda a absorção de água e formação de liga, espumabilidade, emulsificação, viscosidade, formação de gel e estabilidade térmica (VARNAM; SUTHERLAND, 1994).

O leite em pó contém grande concentração de lactose, o que o torna susceptível à reação de Maillard (De BLOCK et al., 2003). A cristalização da lactose devido às alterações de temperatura e umidade do leite em pó durante o armazenamento pode afetar a quantidade de lactose disponível para a reação de Maillard. No leite em pó recém-fabricado, a lactose está no estado metaestável (como o vidro), mas durante o armazenamento ela é transformada em cristais estáveis. A cristalização da lactose pode aumentar a atividade de água, que por sua vez, aumenta a cristalização da lactose e inicia reações químicas que podem deteriorar o produto (THOMSEN et al., 2005). A reação de Maillard leva a uma perda gradual de solubilidade do pó, associada a uma alteração do sabor/odor, às vezes caracterizado como “de velho” ou “caramelizado”, e o desenvolvimento de uma coloração amarronzada (LA GRANGE; HAMMOND, 1993). Esta reação também é indesejável para leite em pó por reduzir a qualidade nutricional do produto devido a destruição de aminoácidos essenciais, redução da digestibilidade e inibição de enzimas e pela formação de produtos antinutricionais ou tóxicos (FRIEDMAN, 1996; DAMODARAN, 1996). A taxa de escurecimento devido à Reação de Maillard no leite depende da atividade de água e da temperatura. A taxa de escurecimento aumenta consideravelmente em altas temperaturas de secagem (FELLOWS, 2006). Embora saiba-se que o leite em pó armazenado não será exatamente igual, química e fisicamente, ao leite em pó fresco, os consumidores deste produto esperam que as diferenças não sejam tão grandes a ponto do leite em pó ser rejeitado durante o prazo de validade do produto (HOUGH et al., 2002). Geralmente, a vida útil do leite em pó é de 6 meses a temperatura ambiente, mas ela pode ultrapassar 12 meses se o produto for embalado a vácuo ou sob atmosfera modificada com nitrogênio (CELESTINO; IYER; ROGINSKI, 1997).

2.4 Influência da qualidade do leite *in natura* na qualidade do leite em pó

O armazenamento correto do leite cru é muito importante no controle das características organolépticas do leite em pó, minimizando a variação e a formação de

defeitos de sabor. Segundo Walstra et al. (2001), o leite que será processado em pó pode ser mantido por até 2 dias antes da secagem. Os mesmos autores reforçam que o tempo de estocagem do leite fluido possui um efeito definitivo na qualidade sensorial do leite em pó.

Quando tenta-se entender o sabor e aroma dos leites em pó, é importante primeiro entender a matéria-prima, ou seja, o leite fluido. O leite é uma mistura contendo água, lipídios, proteínas, carboidratos, minerais, vitaminas. A degradação das proteínas e dos lipídios são as primeiras fontes de formação de aromas nos produtos lácteos (LEE; MORR, 1994). A pasteurização do leite é importante não somente do ponto de vista da segurança do alimento, mas também porque muitos compostos aromáticos são formados durante o tratamento térmico. A degradação das proteínas e dos lipídios pelo calor podem formar compostos sulfurados, metilcetonas e lactonas (BADINGS; NEETER, 1980). O sulfeto de hidrogênio é o principal composto sulfurado presente no leite tratado termicamente e é formado pela degradação de alguns aminoácidos, especialmente os da β -lactoglobulina (CALVO; de la HOZ, 1992). Estes aminoácidos sulfurados formam compostos aromáticos ativos e contribuem para o sabor do leite em pó durante a pasteurização do leite fluido e durante a desidratação. O leite cru não possui aroma de lactonas, mas durante a pasteurização, as lactonas são formadas através do calor. Por esse motivo o leite processado pelo processo UAT possui maior intensidade de compostos aromáticos que o leite tratado em temperaturas mais baixas. Isso é causado pelas reações de Maillard e de oxidação térmica de lipídios (BADINGS; NEETER, 1980). O calor também pode formar compostos aromáticos pelo aumento da reatividade dos ácidos graxos insaturados, já que o aquecimento do leite durante a pasteurização pode rearranjar as duplas ligações destes AG, que são em sua maioria razoavelmente estáveis (AURAND; BOONE; GIDDINGS, 1976).

Além da formação de sabores durante o processamento térmico, a qualidade do leite cru, o tempo e as condições de estocagem também tem papel importante no sabor do leite em pó. A lipólise e a proteólise podem ocorrer no leite antes do processamento do leite em pó. A rancidez lipolítica pode ser iniciada tanto pela lipase endógena do leite como pelas lipases microbianas. Celestino, Iyer e Roginski (1997) obtiveram leites em pó feitos de leite bovino fresco e leite estocado cru por 4 dias e observaram que o aumento dos níveis de AGL foram maiores no leite em pó obtido do leite cru estocado por 4 dias do que do leite em pó obtido do leite fresco. Os mesmos autores também observaram que o ranço causado pela lipólise teve o sabor mais pronunciado do que o sabor amargo causado pela proteólise quando os leites em pó foram reconstituídos a 12,5%.

A proteólise é especialmente importante em produtos maturados como queijos e produtos armazenados como o leite em pó. A degradação enzimática das proteínas tende a produzir peptídeos e aminoácidos que reagem com a lactose, formando produtos da reação de Maillard (De BLOCK et al., 2003). No estudo realizado por Celestino, Iyer e Roginski

(1997), o armazenamento não afetou significativamente a atividade proteolítica no leite em pó. No entanto, o conteúdo de NNP, que reflete a degradação da proteína, aumentou durante o armazenamento. Como as proteinases de origem microbiana permanecem estáveis após o processamento térmico, existe a tendência da atividade proteolítica se intensificar durante o armazenamento do leite em pó, o que pode resultar na perda de qualidade do leite reconstituído, principalmente devido à produção de alguns peptídeos conhecidamente responsáveis por proporcionar sabor amargo em derivados lácteos (THOMAS et al., 2004).

2.5 Oxidação lipídica e utilização de atmosfera modificada em embalagens

Alguns dos fatores que influenciam a vida útil e a aceitação sensorial do leite em pó integral incluem a qualidade inicial do leite, as variáveis de processamento do pó, a exposição ao oxigênio, a umidade do produto, a adição de antioxidantes, a exposição à luz e a temperatura de estocagem (STAPELFELDT; NIELSEN; SKIBSTED, 1997).

O leite em pó integral possui entre 26 e 40% de gordura, tornando-o um produto altamente susceptível à oxidação (LLOYD; HESS; DRAKE, 2009). Existem dois tipos de deterioração lipídica: a hidrolítica (lipólise) e a oxidativa. Na lipólise, os AG são liberados do triglicerídeo pela ação de enzimas presentes naturalmente no leite, que são destruídas quase em sua totalidade durante o tratamento térmico, e também por lipases de origem microbiana. Os resultados finais da lipólise são: o aumento da acidez, sabor desagradável, aumento da susceptibilidade dos AG às reações de oxidação (BRUM, 2004).

A auto-oxidação lipídica ocorre basicamente em três etapas: iniciação, propagação e terminação. A fase de iniciação começa quando o átomo de hidrogênio adjacente à dupla ligação do ácido graxo insaturado por ação da luz, calor, etc. Forma-se um radical livre que reage com o oxigênio atmosférico para formar um radical peróxido instável, o qual pode tornar a liberar um ácido graxo insaturado para a formação de um hidroperóxido e de um novo radical livre. Este novo radical livre prossegue a oxidação e contribui para as reações em cadeia aumentarem cada vez mais a oxidação da gordura (SHAIDI, 1995). Na terminação, os hidroperóxidos formados cada vez em maiores quantidades, decompõem-se em substâncias como aldeídos, cetonas, alcoóis, hidrocarbonetos e ácidos; os quais são os reais responsáveis pela rejeição do alimento devido ao ranço (BRUM, 2004).

Para controlar e minimizar o processo oxidativo na gordura do leite em pó, deve-se evitar o contato com luz e a presença de oxigênio no interior da embalagem. Assim, as embalagens para leite em pó integral devem apresentar como características principais: barreira à luz, ao oxigênio e ao vapor de água (TOKLEY, 1995). No mercado de leite em pó, tem sido bastante utilizadas embalagens à base de PET metalizado laminado com PE, cujas

características de barreira ao oxigênio e ao vapor d'água dependem da qualidade da metalização do PET (ALVES et al., 2008).

A habilidade em aumentar a vida útil dos alimentos através de sistemas de atmosfera modificada nas embalagens tem sido reconhecida por muitos anos (CHURCH, 1994). Os procedimentos que modificam a atmosfera interior da embalagem desenvolveram-se muito rapidamente, já que existe uma à ampla possibilidade de utilização em vários tipos de alimentos. Um dos métodos mais empregados para modificar a atmosfera é a injeção de gases por diluição ou vácuo seguido da injeção de gases. Na injeção de gases por diluição, o ar existente na embalagem é substituído por uma corrente contínua de gases (*flushing*) que dilui o ar em torno do produto, antes de lacrar a embalagem. Já pelo processo de vácuo, o ar é simplesmente retirado da embalagem através do vácuo e rapidamente, um ou mais gases são injetados. Neste procedimento, a remoção do ar é quase total, apresentando maior eficiência e utilizando menor quantidade do gás injetado (SARANTÓPOULOS et al., 2002).

Os gases normalmente utilizados em embalagens com atmosfera modificada são aqueles encontrados naturalmente na atmosfera: O_2 , CO_2 e N_2 . O nitrogênio é um gás inerte, sem gosto, com baixa solubilidade tanto em água quanto em lipídios. Geralmente é utilizado para remover o O_2 dentro das embalagens como forma de minimizar a rancidez oxidativa e inibir o crescimento de micro-organismos aeróbicos no alimento (CHURCH, 1994).

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

O objetivo geral do experimento foi avaliar o efeito do tempo de armazenamento do leite de cabra *in natura* sobre a qualidade e a estabilidade do leite de cabra em pó durante sua vida-útil.

3.2 Objetivos específicos

a) Avaliar o crescimento de micro-organismos psicotróficos lipolíticos e proteolíticos durante o armazenamento do leite de cabra *in natura* por 1, 3 e 5 dias a 4 °C;

b) Co-relacionar o crescimento de micro-organismos psicotróficos lipolíticos e proteolíticos com o aumento dos índices de lipólise e proteólise do leite de cabra *in natura*;

c) Determinar as alterações físico-químicas e bioquímicas do leite de cabra *in natura* durante o período de armazenamento a 4 °C;

d) Determinar os efeitos dos períodos de armazenamento tanto do leite *in natura* quanto do leite em pó nas características microbiológicas, físico-químicas, bioquímicas e físicas dos leites de cabra em pó, obtidos a partir dos leites de cabra *in natura* armazenados a 4 °C, durante o período de 180 dias de vida útil.

e) Determinar os efeitos dos períodos de armazenamento tanto do leite *in natura* quanto do leite em pó no perfil sensorial (aparência, odor e sabor) do leite em pó e do leite reconstituído a 12%.

4. METODOLOGIA

Entre julho e agosto de 2009, logo após a ordenha dos animais, 85 L da produção de leite do Laboratório de Fisiologia Animal da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos (FZEA/USP) e 20L da produção de leite do Setor de Caprinocultura da Coordenadoria do Campus de Pirassununga (CCPS/USP) foram coletados em latões previamente higienizados com detergente alcalino e solução de hipoclorito de sódio, seguido de enxágue com água. Estes 105 L de leite foram transportados para o Laticínio da CCPS/USP (menos de 20 minutos após a coleta) onde foram higienicamente misturados e divididos em 3 porções de aproximadamente 35 L cada, sendo o leite acondicionado em latões higienizados, os quais foram armazenados em câmara refrigerada a temperatura controlada de $4,0 \pm 0,5$ °C, também no Laticínio da CCPS/USP.

Foram realizadas 3 repetições idênticas, entre julho e agosto de 2009, totalizando 9 porções de leite cru e posteriormente, 9 lotes de leite em pó.

4.1 Obtenção dos lotes de leite em pó

Nos dias 1, 3 e 5 após a coleta do leite, uma das 3 porções do leite armazenado foi utilizada para a produção do leite em pó. Uma alíquota de 500mL foi retirada para as análises do leite cru e o restante foi destinado ao processamento, nas etapas descritas a seguir:

A) Pasteurização: Utilizou-se a pasteurização lenta (65 °C por 30 minutos) em pasteurizador tanque, conforme mostra a Figura 1.

B) Concentração de sólidos totais: Após a pasteurização, o leite foi imediatamente transferido para um concentrador a vácuo (marca Incapri) com capacidade para 50L (Figura 2), onde foi concentrado até 40% de sólidos totais sob temperatura de 60°C. A concentração de sólidos totais foi determinada em analisador automático de leite Lactoscan Boecolac (Boeco, Germany).

Figura 1 – Pasteurizador-tanque.

Figura 2 – Concentrador a vácuo.

C) Secagem por atomização: o leite previamente concentrado foi transportado higienicamente, em latões de alumínio previamente esterilizados a $121\text{ }^{\circ}\text{C}/20$ minutos, ao Laboratório de Operações Unitárias FZEA/USP, onde foi homogeneizado em um agitador de alta velocidade (Ultra Turrax digital IKA T25) durante 20 minutos sob 20.000 rotações/min. A secagem do leite foi realizada em um *spray dryer* semi-industrial (Labmaq do Brasil, modelo SD 5.0, com capacidade para 5 L/h). As condições de processo foram: temperaturas de entrada $147 \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ e de saída em torno de $115\text{ }^{\circ}\text{C}$ (a temperatura de saída não é ajustável e

depende da temperatura de entrada), a vazão de alimentação no processo foi de 16 mL/min; a vazão do ar comprimido entre 40 e 60 L/min e vazão do ar de secagem de 12 m³/min. A abertura do bico de atomização foi de 2 mm (Figura 3).

D) Embalagem do leite em pó: cada lote de leite em pó obtido foi dividido em porções de cerca de 150 g e embalados através da modificação da atmosfera com aplicação de nitrogênio (Linde Gases). Foram utilizadas embalagens do tipo *pouche*, compostas por PET metalizado + Poli 45, densidade de 70 g/m² (Rangel Embalagens). Os pacotes de leite em pó foram embalados em equipamento Selovac 200B, no qual em testes preliminares foram estabelecidos os parâmetros de aplicação de vácuo, nitrogênio e tempo de solda das embalagens. Para verificação da quantidade de oxigênio residual (menor que 3%) no interior das embalagens, a cada lote de leite em pó algumas amostras foram submetidas à análise, através de equipamento Check Point O₂/CO₂ (PBI), conforme Figura 4. As embalagens de leite em pó foram então armazenadas em estufa a 25 °C por até 180 dias.

Figura 3 – *Spray dryer* utilizado para fabricação de leite de cabra em pó.

Figura 4 – Controle da quantidade de oxigênio residual no interior da embalagem.

4.2 Caracterização do leite *in natura*

4.2.1 Avaliação da composição

Foram realizadas análises de acidez titulável e pH (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 1985) e de composição (proteína bruta, gordura, lactose, extrato seco total e cinzas) através de analisador automático, previamente calibrado, de leite Lactoscan Boecolac (Boeco-Germany).

4.2.2 Avaliação microbiológica

As análises do leite *in natura* foram realizadas no Laboratório de Microbiologia e Micotoxilogia de Alimentos do Departamento de Engenharia de Alimentos da FZEA/USP, seguindo os procedimentos descritos no *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods* (APHA, 2001).

Para a análise de micro-organismos mesófilos, foi utilizada a técnica de semeadura em profundidade em meio PCA (*Plate Count Agar*, Oxoid), com incubação por 48 h a 35 °C. Os psicrotróficos proteolíticos foram analisados através da técnica de plaqueamento em superfície, em meio Ágar Cálcio Caseinato (Merck), após incubação a 7 °C por 10 dias. Os micro-organismos psicrotróficos lipolíticos foram incubados a 7 °C por 10 dias, em placas

com meio Agar Tributirina (Merck). Para os micro-organismos do grupo coliformes, optou-se pela análise específica de micro-organismos da espécie *E. coli*. A análise foi realizada de acordo com a técnica de tubos múltiplos contendo meio caldo Lauril Sulfato Triptose (LST, Oxoid) adicionado de 4-metil-umbelifenil- β -D-glucuronídeo (MUG) e com incubação a 35 °C por 48 h. Após a incubação, observou-se a produção de gás nos tubos de fermentação (tubo de Durham). A *E. coli* produz uma enzima (β -glucuronidase) que degrada o complemento MUG. O produto resultante (4-metilumbeliferona) é fluorescente sob luz ultravioleta. Utilizando os tubos positivos de LST-MUG, foi observado sob lâmpada de luz ultravioleta (0 a 6 W), ondas longas (365 nm), numa cabine escura. Foram considerados positivos todos os tubos que apresentaram fluorescência azul, confirmativa da presença de *E. coli*. Anotou-se o número de tubos positivos e determinou-se o Número Mais Provável (NMP) em uma tabela adequada às diluições utilizadas e o resultado foi expresso em NMP de *E. coli*/mL. Para a estimativa do NMP/mL de coliformes totais, repicou-se o caldo LST-MUG dos tubos com presença de gás (indicando a fermentação da lactose) para tubos contendo Caldo Verde Brilhante. Após a incubação a 35 °C por 48 h, observou-se o número de tubos positivos (com formação de gás) e determinou-se o Número Mais Provável (NMP) de coliformes totais/mL de leite.

4.2.3 Avaliação da proteólise

A proteólise do leite de cabra foi estimada quantitativamente através da relação caseína (C) / proteína verdadeira (PV), expressos em termos de nitrogênio (N) - equivalente de proteína, cujos valores foram obtidos conforme descrito abaixo:

$$PV = [\text{Nitrogênio Total (NT)} - \text{Nitrogênio Não Protéico (NNP)}] \times 6,38$$

$$C = [\text{Nitrogênio Total (NT)} - \text{Nitrogênio Não Caseinoso (NNC)}] \times 6,38$$

Para a determinação do NT, utilizou-se o método de *Kjeldahl*, conforme metodologia descrita pela AOAC (1995). A determinação do NNP foi efetuada após prévia precipitação das proteínas do leite com ácido tricloroacético a 15%, seguido de filtração e análise do filtrado através do método de *Kjeldahl* (AOAC, 1995). A determinação do NNC foi efetuada através da precipitação da caseína com solução de ácido acético e acetato de sódio (pH = 4,6), seguida de filtração e análise da concentração de N no filtrado mediante o método de *Kjeldahl*. O resultado final (NNC) foi subtraído do valor de NT, fornecendo assim a concentração de caseína na amostra.

O grau de proteólise individual das proteínas do leite foi avaliado através da determinação quantitativa das frações de caseína e proteínas do soro por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), de acordo com a metodologia preconizada por Bobe et al. (1998). A separação, identificação e quantificação das proteínas e peptídeos foram realizadas em sistema CLAE (Shimadzu) equipado com detector de luz UV, disponível no Laboratório de Microbiologia e Micotoxicologia de Alimentos. Utilizou-se coluna Júpiter 5 μ m (Phenomenex) 4,6 x 250 mm, precedida de pré-coluna Shim-pack (5 μ m) 4 x 10 mm. A corrida cromatográfica foi realizada nas condições preconizadas por Bobe et al. (1998). A fase móvel utilizada foi uma mistura acetonitrila: água: ácido trifluoroacético (100 : 900 : 1, pH 2,0); fluxo – de 1,2 mL/minuto e o comprimento de onda do detector foi 220 nm.

A quantificação das frações (caseínas α , β e κ) nas amostras foi realizada usando-se a equação de regressão das curvas de calibração construídas utilizando-se padrões de proteínas de leite bovino purificadas (Sigma, USA), preparados nas mesmas condições descritas para as amostras de leite de cabra.

4.2.4 Avaliação da lipólise

A avaliação da quantificação da acidez total do leite foi realizada segundo o método descrito por Deeth et al. (1975), onde 4 mL de leite foram adicionados de uma mistura de isopropanol: éter de petróleo: solução 4 N de H_2SO_4 e posteriormente misturados e agitados com éter de petróleo e água. Após a separação da fase orgânica, uma alíquota foi titulada com solução metanólica 0,02 N de KOH. Os resultados da acidez foram expressos em meq/Kg de leite.

Para a identificação e quantificação dos AGL individuais do leite, utilizou-se a metodologia descrita por De Jong e Badings (1990), onde 10 mL de leite foram misturados com 10 mL de álcool etílico e 1 mL de H_2SO_4 2,5 M. Após a mistura, a extração dos lipídios totais foi realizada com éter etílico:heptano (2:1) seguida de agitação e centrifugação por 5 minutos a 14000 rpm. A extração foi repetida por 2 vezes. A separação dos AGL da fração lipídica total foi realizada por extração em fase sólida (SPE), em colunas StrataTM (Phenomenex®) revestidas com aminopropil 500 mg (capacidade 6 mL) e condicionadas com heptano. Para a eluição dos lipídios neutros, utilizou-se clorofórmio: isopropanol (2:1). A recuperação dos AGL foi feita através da eluição com 2,5 mL de éter etílico padrão cromatográfico (Sigma-Aldrich) adicionado de 2% de ácido fórmico (Merck). Exatamente 1 μ L do extrato contendo os AGL foi injetado em modo *splitless* em cromatógrafo gasoso Shimadzu, disponível no Laboratório de Engenharia de Separações da FZEA/USP, utilizando-se coluna capilar Phenomenex ZB-

FFAP (comprimento: 30 m, diâmetro interno: 0,32 mm e espessura do filme: 0,25 µm). As corridas cromatográficas foram realizadas nas seguintes condições: Hélio (He) como gás de arraste na taxa de 0,89 mL/min, temperatura do injetor de 250 °C, temperatura da coluna entre 65 a 240 °C, com taxa de 10 °C/min e 240 °C por 20 min e temperatura do detector de 280 °C.

4.3 Caracterização do leite em pó

As análises de caracterização das amostras do produto final em pó obtido foram realizadas no período máximo de 10 dias após o processo de secagem e posteriormente, nos dias 60, 120 e 180 de armazenamento a 25 °C.

4.3.1 Avaliação da composição

As análises de composição (proteína, gordura, lactose, umidade e cinzas) foram realizadas de acordo com o descrito em AOAC (1995).

4.3.2 Avaliação microbiológica

Além das análises microbiológicas descritas anteriormente no item 4.2.2, foram realizadas análises para detecção e enumeração de *Staphylococcus* coagulase positivos, *Bacillus cereus* e ausência de *Salmonella* spp. em 25 g de amostra. Estas análises foram realizadas de acordo com o preconizado pela RDC n. 12 da ANVISA (BRASIL, 2001).

4.3.2.1 Staphylococcus coagulase positivos

Para a análise de *Staphylococcus* coagulase positivos foi utilizado o plaqueamento em superfície em meio ágar Baird Parker e incubação a 35 °C/48 h.

4.3.2.2 Salmonella spp.

A análise de ausência de *Salmonella* em 25 g de amostra foi realizada através de teste imunoenzimático visual, utilizando-se o kit rápido VIP™ para análise para *Salmonella* (BioControl®).

4.3.2.3 Grupo *Bacillus cereus*

Para os micro-organismos do grupo *Bacillus cereus*, utilizou-se plaqueamento em superfície em meio Polymixin pyruvate egg yolk mannitol bromothymol blue agar (PEMBA) e incubação a 35 °C por 24 h. Uma amostragem total de 40 colônias suspeitas (denteadas, azuis-turquesa, com halo característico) foram isoladas em tubos contendo Agar Nutriente, e analisadas através de testes bioquímicos como: utilização anaeróbia da glicose, hidrólise da gelatina e crescimento radial.

Como complementação, as colônias analisadas fenotipicamente foram submetidas à confirmação genotípica, através da técnica de reação da polimerase em cadeia (PCR) para detecção do gene *GroEL*, utilizando-se os *primers* *baF1* (5'-TGCAACTGTATTAGCACAAAGCT-3') e *baR1* (5'-TACCACGAAGTTTGTTCCTACTACT-3'), conforme a metodologia descrita por Chang et al. (2003). As análises genotípicas foram realizadas no Laboratório de Microbiologia do Institute of Food, Nutrition and Human Health da Massey University (IFNHH/UM/Nova Zelândia).

As culturas puras isoladas em microtubos contendo meio ágar nutriente foram repicadas em meio caldo Soja Tryptose (TSB) por 18 h a 30 °C. Para a obtenção do molde de DNA, exatamente 1 mL de cada cultura contendo aproximadamente 10⁵ células/mL foi colocado em microtubo de 1,5 mL e centrifugado a 10.000 rpm durante 10 minutos. Em seguida, a camada superior foi removida e as células foram lavadas duas vezes com água deionizada estéril. Por fim, as células foram ressuspensas em 0,1 mL de água deionizada estéril e levadas ao aquecimento em banho-maria a 100 °C durante 15 minutos para extração do DNA.

Cada amplificação de fragmento de DNA foi conduzida em um volume de 75 µL, contendo 4,0 µL de PCR *buffer* 20X, 4,4 µL de MgCl₂ 25mM, 16 µL de mistura de dNTPs 1,25 mM, 0,1 µL de cada *primer*, 1,0 µL de TFL polimerase e 49,6 µL de água deionizada. Foram adicionados 5 µL do molde de DNA da amostra. Todas as amplificações foram conduzidas em termociclador Perkin Elmer 480, programado para um ciclo inicial a 94 °C por 2 minutos, seguido de 35 ciclos (desnaturação a 94 °C por 1 minuto; anelamento a 51 °C por 1 minuto e extensão a 72 °C por 1 minuto), com extensão final a 72 °C por 5 minutos. Os produtos de PCR (10 µL) foram analisados por eletroforese em gel de agarose a 2% contendo 20 µL de solução pura de brometo de etídio e em solução-tampão Tris-Acetato/EDTA. Após 18 h armazenado em container plástico com água destilada a 4 °C, os géis de agarose foram analisados em sistema fotodocumentador Unisave. Os tamanhos dos produtos foram determinados pela comparação ao padrão de migração eletroforética de um biomarcador de tamanho molecular de 1000 bp. A confirmação das cepas como *B. cereus*

deu-se através da comparação com o produto de PCR de uma cepa positiva de *B. cereus* do acervo do Laboratório de Microbiologia do IFNHH/MU.

4.3.3 Avaliação da proteólise

Foi realizada de acordo com o item 4.2.3. Para isso, na determinação dos valores de NNC e separação das frações de caseína e proteínas do soro por CLAE, as amostras de leite em pó foram reconstituídas analiticamente a 12% com água destilada, das quais foram retiradas alíquotas idênticas às análises realizadas no leite *in natura*. Para a determinação posterior dos valores, fez-se os cálculos para expressar os resultados em 100 g de leite em pó.

4.3.4 Avaliação da lipólise

Para as análises de quantificação da acidez total (meq/Kg de leite em pó) e de separação e isolamento dos AGL, as amostras de leite em pó foram previamente reconstituídas analiticamente a 12% com água destilada, das quais foram retiradas alíquotas idênticas às análises realizadas no leite *in natura*. Optou-se pela reconstituição do leite em pó pelas dificuldades encontradas durante a extração da fase lipídica com os solventes orgânicos, na qual o pó apresentou formação de muitos grumos, impedindo a correta extração. Os procedimentos de extração, isolamento e separação de AGL por cromatografia gasosa foram realizados de acordo com o item 4.2.4.

4.3.5 Índice de peróxidos

Para a determinação do Índice de Peróxidos das amostras de leite em pó, utilizou-se o procedimento de extração da gordura descrito por Bligh e Dyer (1959). Cerca de 1 g da gordura do leite em pó foi misturado com clorofórmio:ácido acético (1:3) e solução saturada de iodeto de potássio. A mistura foi então titulada com solução de tiosulfato de sódio 0,01 N e o resultado foi expresso em meq/kg de gordura (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 1985).

4.3.6 Avaliação das propriedades físicas

4.3.6.1 Dispersibilidade

Adaptando-se a metodologia proposta pela Instrução Normativa 68, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Desenvolvimento (BRASIL, 2006), 13 g da amostra foram agitados com 100 gramas de água a 50 °C em béquer por aproximadamente 15 s. A solução foi filtrada com papel filtro qualitativo, sendo a matéria seca estimada, medindo-se a umidade do filtrado em estufa a 105 °C por 7 h em duplicata.

A dispersibilidade foi calculada através da equação:

$$DS(\%) = \frac{(w + a)S_p}{a.S_j}$$

onde w = peso da água (g); S_p = sólido total presente no pó; S_j = matéria seca do leite reconstituído; a = peso da amostra (g).

4.3.6.2 Índice de insolubilidade

Seguindo a metodologia descrita na IN 68, do MAPA (BRASIL, 2006), foi determinado o volume, em mL, de sedimento (resíduo insolúvel) obtido quando o leite em pó foi reconstituído e centrifugado. Os resultados foram expressos em volume de sedimento (mL)/ temperatura do procedimento.

4.3.6.3 Determinação da cor

Os valores de cor para o leite em pó foram avaliados em colorímetro (MiniScan XE Plus), com amostras em triplicata, através do Sistema de Cores Hunter L a b, obtendo-se os valores de luminosidade (L^*), variando entre 0 (preto) e 100 (branco), intensidade de preto (a^*), variando de -a (vermelho) a +a (verde) e intensidade de branco (b^*), variando de -b (azul) a +b (amarelo).

4.3.6.4 Determinação da atividade de água (a_w)

As análises de atividade de água foram realizadas em triplicatas utilizando-se medidor de atividade de água (Aqualab Series 3 TE) disponível no Laboratório de Tecnologia de Alimentos da FZEA.

4.3.6.5 Distribuição granulométrica do leite em pó

A distribuição granulométrica do leite em pó foi determinada utilizando-se um analisador de partículas por *laser* de alta sensibilidade (Shimadzu SALD 201V). As amostras de leite em pó foram suspensas em etanol e colocadas em banho ultrassônico por 5 minutos antes de serem inseridas no analisador de partículas, seguindo as recomendações do fabricante do equipamento para análise de amostras sólidas.

4.3.7 Avaliação sensorial

A avaliação sensorial foi desenvolvida em duas etapas distintas, sendo que na primeira etapa realizou-se a seleção, e na segunda etapa realizou-se o treinamento dos provadores e a avaliação sensorial dos atributos das amostras leite de cabra em pó e de leite de cabra reconstituído a 12% de sólidos totais, através da “Análise Descritiva Quantitativa”, utilizando uma escala não estruturada de 0 a 10 cm (STONE et al., 1974). Todas as atividades envolvendo análise sensorial do leite de cabra foram realizadas após a aprovação do protocolo de pesquisa pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo.

4.3.7.1 Seleção dos provadores

Na seleção dos provadores foram aplicados dois métodos analíticos de diferença. Inicialmente fez-se o teste de reconhecimento de gostos básicos e, após, o teste de sensibilidade para gosto.

No teste de reconhecimento de sabores, utilizou-se, como material, soluções puras de gostos básicos: doce (2% de sacarose), amargo (0,02% de cafeína), ácido (0,07% de ácido cítrico) e salgado (0,2% de cloreto de sódio), segundo Meilgaard, Vance e Civille (1999). Essas soluções foram oferecidas aos provadores em copos plásticos arranjados

aleatoriamente em bandejas. Através de uma tabela de números aleatórios de três algarismos, foram identificadas alíquotas de 25 mL para cada um dos estímulos.

Este teste foi realizado em cabines individuais no Laboratório de Análise Sensorial de Alimentos da FZEA/USP, sob luz vermelha. Cada cabine continha as amostras, ficha de avaliação, copo com água para a limpeza da boca entre as avaliações. Foram selecionados apenas os provadores que obtiveram 100% de acerto neste teste.

No teste de sensibilidade para gosto, foi realizado o teste triangular (MEILGAARD; VANCE; CIVILLE, 1999), utilizando-se leite de cabra pasteurizado fresco com diferentes concentrações (0% e 0,02%) de cafeína (Figura 5). Foram realizadas seis combinações para cada provador. O teste foi conduzido nas mesmas condições do teste de reconhecimento de gostos básicos. A Figura 6 apresenta o modelo de ficha utilizada. Foram selecionados apenas os provadores que obtiveram mais de 50% de acerto, sendo selecionados 8 provadores.

Nome: _____ Data: ____/____/____	
Por favor, prove as amostras, identificando os gostos básicos (ácido, amargo, doce e salgado) na frente das numerações das amostras. Lave a boca após provar cada amostra.	
Amostra (Nº)	Gosto básico
_____	_____
_____	_____
_____	_____
_____	_____

Figura 5 – Ficha sensorial utilizada para identificação de gostos básicos.

Nome: _____ Data: ____/____/____	
Por favor, prove as amostras codificadas da esquerda para direita. Duas amostras são iguais e uma é diferente. Identifique a amostra diferente.	
_____	_____
_____	_____

Figura 6 – Ficha sensorial utilizada para o teste de sensibilidade para gosto.

4.3.7.2 Treinamento dos provadores e avaliação sensorial

Na etapa de seleção de provadores, foram selecionados 8 provadores (6 mulheres e 2 homens). Estes provadores, juntamente com a líder, desenvolveram a terminologia descritiva (utilizando-se amostras diversas de leite de cabra em pó e reconstituídos) através do método de rede, no qual amostras apresentadas aos pares eram comparadas pelas suas semelhanças e diferenças. Após esta etapa, foram definidos os termos descritivos e foram apresentados os materiais de referência (Figura 7), visando o uso consensual dos mesmos, resultando na elaboração da ficha de avaliação das amostras (Figura 8). Posteriormente foram aplicadas sessões periódicas de treinamentos para a Análise de Perfil de Atributos, sendo estas encerradas quando os provadores demonstraram não apresentar dificuldades em avaliar as amostras utilizando a Ficha de Análise Descritiva Quantitativa. Para medir a intensidade de cada atributo na Análise Descritiva Quantitativa, foi utilizada escala não estruturada de 0 a 10 cm (STONE et al., 1974) ancorada nos limites com termos que indicassem os extremos, como por exemplo “inexistente” e “forte”.

Nos dias 0, 60, 120 e 180 após o processamento do leite em pó, as análises foram realizadas em cabines individuais, sendo servidas 3 amostras (originadas dos lotes de leite em pó obtidos dos leites *in natura* armazenados por 1, 3 e 5 dias) codificadas com três dígitos e apresentadas aos provadores. Cada cabine continha a amostra, copo com água e bolacha *cream cracker* para a limpeza da boca entre as avaliações.

Os provadores realizaram 3 repetições da avaliação sensorial dos ensaios 2 e 3 deste experimento (totalizando 6 repetições de notas para cada atributo avaliado em cada período de avaliação, para cada amostra). As amostras do ensaio 1 não foram utilizadas para a avaliação, tendo em vista a contaminação de um dos lotes por *Bacillus cereus* em níveis acima ao permitido pela legislação (BRASIL, 1997).

Para a análise estatística dos dados obtidos na avaliação sensorial, um dos provadores foi excluído por apresentar muitas notas discrepantes em relação aos demais do grupo, sendo a equipe constituída, portanto, por sete provadores ao final do experimento.

APARÊNCIA DO LEITE EM PÓ

COR: refere-se à coloração observada visualmente da amostra, variando de branco a amarelo.

Parâmetros: talco e leite de cabra em pó aquecido em forno convencional a 180 °C por 5 minutos.

GRANULOMETRIA: refere-se ao tamanho das partículas na amostra, variando de fino a grosso.

Parâmetros: talco e leite Molico.

APARÊNCIA DO LEITE RECONSTITUÍDO

COR: refere-se à coloração observada visualmente da amostra, variando de branco a amarelo.

Parâmetros: leite de cabra em pó reconstituído em água a 12% marca Capry's e leite de cabra em pó aquecido em forno convencional a 180 °C por 5 minutos e reconstituído em água a 12%.

ODOR DO LEITE RECONSTITUÍDO

DOCE: refere-se em caracterizar o quanto a amostra apresenta odor adocicado, variando de pouco a muito doce. Parâmetros: leite de cabra pasteurizado fresco diluído em água destilada (1:2) e leite de cabra em pó marca Capry's reconstituído a 48%.

CÁPRICO: refere-se à percepção do odor característico da cabra (animal), variando de inexistente à forte. Parâmetros: leite desnatado bovino UHT e leite de cabra integral UHT marca Capry's adicionado de 1 gota de ácido caprótico/100 mL.

COZIDO: refere-se em caracterizar o quanto amostra apresenta odor característico dos compostos produzidos pela Reação de Maillard, variando de inexistente a forte. Parâmetros: leite de cabra pasteurizado fresco e leite de cabra reconstituído a 24% e aquecido em chapa aquecedora a 300 °C por 10 minutos.

SABOR DO LEITE RECONSTITUÍDO

DOCE: refere-se em caracterizar o quanto a amostra apresenta sabor adocicado, variando de pouco a muito doce. Parâmetros: leite de cabra pasteurizado fresco diluído em água destilada (1:2) e leite de cabra em pó marca Capry's reconstituído a 48%.

CÁPRICO: refere-se em caracterizar o quanto a amostra apresenta sabor característico de cabra (animal) variando de inexistente a muito cáprico. Parâmetros: leite desnatado bovino UHT e leite de cabra integral UHT marca Capry's adicionado de 1 gota de ácido caprótico/100 mL.

RANÇOSO: refere-se em caracterizar o quanto a amostra apresenta sabor de óleo oxidado, variando de nada a muito ranço. Parâmetros: leite de cabra pasteurizado fresco e leite de cabra pasteurizado fresco adicionado de 1 gota de ácido caprótico/100 mL.

COZIDO: refere-se em caracterizar o quanto amostra apresenta sabor característico dos compostos produzidos pela Reação de Maillard, variando de inexistente a forte. Parâmetros: leite de cabra pasteurizado fresco e leite de cabra reconstituído a 24% e aquecido em chapa aquecedora a 300 °C por 10 minutos.

AMARGO: refere-se à caracterização do amargor da amostra, variando de nada a muito amargo. Parâmetros: leite de cabra pasteurizado fresco e leite de cabra pasteurizado fresco adicionado de 0,02% de cafeína.

Figura 7 – Termos descritivos de atributos de aparência do leite de cabra em pó e do leite de cabra reconstituído, odor e sabor do leite de cabra reconstituído.

Nome: _____ Data: _____ Amostra: _____

Por favor, avalie cada um dos atributos abaixo, indicando com um traço vertical o ponto da escala que melhor quantifique a intensidade do atributo.

APARÊNCIA DO PÓ

Cor | _____ |
branco amarelo

Granulometria | _____ |
(tamanho de partículas) finas grossas

APARÊNCIA DO LEITE RECONSTITUÍDO

Cor | _____ |
branco amarelo

ODOR DO LEITE RECONSTITUÍDO

Doce | _____ |
inexistente forte

Cáprico | _____ |
inexistente forte

Cozido | _____ |
inexistente forte

SABOR DO LEITE RECONSTITUÍDO

Doce | _____ |
inexistente muito

Cáprico | _____ |
inexistente forte

Rançoso | _____ |
inexistente forte

Cozido | _____ |
inexistente forte

Amargo | _____ |
inexistente forte

Figura 8 – Ficha de Análise Descritiva Quantitativa do leite de cabra em pó e do leite reconstituído a 12%.

4.4 Análise estatística

O delineamento experimental utilizado na avaliação do efeito do tempo de armazenamento sobre a qualidade do leite *in natura* foi o inteiramente casualizado com esquema fatorial (3 períodos de armazenamento X 3 repetições de experimento). A análise estatística foi realizada utilizando-se o procedimento *General Linear Mode* (GLM) do software SAS® (SAS, 2002) e o posterior estudo de regressão foi realizado através de contrastes ortogonais. Os resultados obtidos das análises microbiológicas do leite de cabra *in natura* foram utilizados para determinar o coeficiente de correlação de Pearson (r) entre os valores do $\log_{10}$ das contagens de micro-organismos mesófilos, psicrotróficos lipolíticos e psicrotróficos proteolíticos e os índices de lipólise e proteólise, ao nível de 5% de significância, através do procedimento *proc corr* do SAS® (SAS, 2002).

Para avaliar tanto o efeito do período de armazenamento do leite *in natura* quanto o período de armazenamento do leite em pó sobre as características do leite em pó, utilizou-se delineamento experimental inteiramente casualizado com esquema fatorial (3 períodos de armazenamento do leite *in natura* x 4 períodos de armazenamento do leite em pó X 3 repetições de experimento). A análise estatística foi realizada utilizando-se, após a análise e retirada de dados discrepantes (*outliers*), o procedimento *General Linear Mode* (GLM) do software SAS® (SAS, 2002) e o posterior estudo de regressão foi realizado através de contrastes ortogonais.

Para os resultados obtidos na avaliação sensorial, não foi considerada a diferença entre os provadores, mas sim os efeitos dos períodos de armazenamento do leite *in natura* e do leite em pó, bem como as possíveis interações desses efeitos. A análise estatística também foi realizada pelo procedimento *General Linear Mode* (GLM) do software SAS® (SAS, 2002) após a análise e retirada de *outliers* e o posterior estudo de regressão foi realizado através de contrastes ortogonais.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Caracterização do leite cru

5.1.1 Avaliação da composição e avaliação microbiológica

Os resultados da composição do leite de cabra *in natura* durante os diferentes períodos de armazenamento podem ser observados na Tabela 1.

Tabela 1 – Composição e caracterização físico-química de leite de cabra *in natura* após o armazenamento a 4 °C por 1, 3 e 5 dias.

	Valor P	Dias de armazenamento a 4 °C		
		1	3	5
Água (%)	0,3097	88,3 ± 0,2	88,1 ± 0,2	88,3 ± 0,3
Extrato Seco Total (%)	0,8209	11,7 ± 0,2	11,9 ± 0,2	11,7 ± 0,3
Proteína bruta (%)	0,4375	3,1 ± 0,0	3,1 ± 0,0	3,1 ± 0,0
Gordura (%)	0,6630	3,4 ± 0,2	3,5 ± 0,1	3,4 ± 0,3
Lactose (%)	0,2190	4,5 ± 0,0	4,5 ± 0,0	4,5 ± 0,0
Cinzas (%)	N.A.*	0,7 ± 0,0	0,7 ± 0,0	0,7 ± 0,0
Acidez (°D)	0,0753	15,3 ± 0,5	15,5 ± 0,5	16,2 ± 0,7
pH	0,1697	6,72 ± 0,02	6,64 ± 0,09	6,71 ± 0,09

* Não analisado.

As análises mostram que o leite de cabra *in natura* utilizada apresentou gordura e proteína em quantidades semelhantes às encontradas na literatura científica. Em estudo realizado por Brasil et al. (2000), foram obtidos valores entre 3,2, e 3,4% para gordura e 2,8 e 3,0% de proteína. Já para a lactose os mesmos autores encontraram valor de 4,6%, também semelhante ao encontrado no presente experimento. Prata et al. (1998) obtiveram valores de 3,2 e 3,7% para proteína e gordura, respectivamente, para leite caprino da raça Saanen. Em relação às cinzas, os autores encontraram o valor de 0,7%. No entanto, sabe-se que a composição físico-química do leite de cabra é bastante variável em função de múltiplos fatores, tais como raça, período de lactação, clima, estação do ano, alimentação, idade do animal e produção de leite (BENEDET; CARVALHO, 1996).

Não foi observado efeito do período de armazenamento sobre a composição e parâmetros físico-químicos do leite *in natura*. Entretanto, pôde-se notar um pequeno aumento na acidez titulável no leite armazenado por 5 dias, enquanto as amostras do leite armazenado por 1 e 3 dias apresentaram acidez semelhante (15,3 e 15,5 °D, respectivamente). De qualquer forma, pode-se dizer que a acidez do leite armazenado por 5 dias (16,2 °D) está dentro dos padrões normais para leite de cabra.

A Instrução Normativa nº 37 (BRASIL, 2000) exige porcentagem mínima de proteína de 2,8, valor este inferior aos encontrados no presente estudo para proteína, e de 0,7 para

as cinzas. Os valores encontrados no estudo para cinzas foram semelhantes à porcentagem mínima permitida pela IN 37. A acidez titulável e a densidade do leite cru também estiveram dentro dos padrões da legislação vigente.

A Instrução Normativa nº 37 (BRASIL, 2000) exige contagem máxima para micro-organismos mesófilos de $5,0 \times 10^5$ UFC/mL para o leite cru. A qualidade do leite no presente estudo atendeu às exigências da legislação vigente entre os dias 1 e 3 do período do armazenamento (populações de $4,3 \times 10^5$ e $4,6 \times 10^5$ UFC/mL, respectivamente), mas não no quinto dia, quando a população de mesófilos atingiu $3,6 \times 10^6$ UFC/mL (Figura 9).

Figura 9 – Evolução do crescimento de micro-organismos em leite de cabra durante o armazenamento por 1, 3 e 5 dias a 4 °C.

Através dos resultados encontrados para a contagem de mesófilos, há o indício de possíveis falhas durante o processo de ordenha, pois a qualidade do leite já no primeiro dia do armazenamento está bem próxima do limite estabelecido pela legislação. A qualidade bacteriológica do leite é um dos principais fatores responsáveis pela manutenção de suas características químicas e organolépticas em níveis adequados (SILVA, 1991). Segundo Alfenas (1994), a microbiota inicial influencia fortemente a qualidade do leite cru e consequentemente dos produtos com ele fabricados, pois a deterioração é determinada pelo número e tipo de micro-organismos presentes.

As contagens dos micro-organismos psicrotróficos lipolíticos variaram de $5,2 \times 10^4$ e $2,1 \times 10^6$ UFC/mL e as dos psicrotróficos proteolíticos variaram de $2,1 \times 10^5$ e $6,0 \times 10^6$

UFC/mL (Figura 9). Assim como para os micro-organismos mesófilos, o crescimento de psicrotróficos lipolíticos e proteolíticos foi mais intenso após o terceiro dia de armazenamento. Entre os dias 1 e 3 do armazenamento a 4 °C, as populações destes micro-organismos mantiveram-se semelhantes. Champagne et al. (1994) relatam que normalmente é preciso que o leite tenha uma contagem acima de $1,0 \times 10^6$ UFC/mL de micro-organismos psicrotróficos para que se torne perceptível as mudanças de aroma e sabor do leite. A baixa contagem de psicrotróficos no leite é de fundamental importância para sua qualidade, pois a atividade metabólica desses micro-organismos leva a alterações bioquímicas nos constituintes do leite, as quais limitam a vida de prateleira dos produtos (FONSECA; SANTOS, 2000).

Através da análise dos resultados, foi observado aumento linear ($P < 0,05$) das populações de micro-organismos mesófilos, psicrotróficos lipolíticos e psicrotróficos proteolíticos do leite *in natura*, como pode ser observado na Tabela 2. Este efeito era esperado, já que a temperatura de armazenamento utilizada no experimento (4 °C) favorece o crescimento de micro-organismos psicrotróficos. Além disso, sabe-se que este grupo de micro-organismos possui temperatura ótima de crescimento na faixa dos mesófilos, o que justifica o aumento linear na população de mesófilos no leite *in natura* durante o armazenamento.

Tabela 2 – Valores de P do efeito do período de armazenamento a 4 °C sobre a qualidade microbiológica do leite de cabra *in natura*.

Micro-organismos	Valor P	Equação
Mesófilos	0,0140*	$y = 0,48x + 4,76$ ($R^2 = 0,96$)
Psicrotróficos lipolíticos	< 0,0001*	$y = 0,80x + 3,98$ ($R^2 = 0,97$)
Psicrotróficos proteolíticos	0,0003*	$y = 0,72x + 4,50$ ($R^2 = 0,95$)
Coliformes totais	0,8626	-
<i>E. coli</i>	0,4872	-

*Significativo.

Conforme observado na Figura 9, as populações de coliformes a 35 °C (coliformes totais) e de *E. coli* mantiveram-se estáveis durante todo o período de armazenamento (entre 270 e 600 NMP/mL para coliformes totais e 24 e 31 NMP/mL para *E. coli*), mostrando que o armazenamento correto do leite sob baixas temperaturas é muito eficiente para o controle do crescimento deste grupo de micro-organismos. Não foi observado efeito do período de armazenamento (Tabela 2) sobre a população de coliformes totais e *E. coli* ($P > 0,05$). A legislação específica para leite de cabra não prevê limites para estes micro-organismos, porém os resultados obtidos neste estudo apresentaram valores superiores aos

apresentados por Fonseca et al. (2006), que encontraram valores de 168 e 0,7 NMP/mL para coliformes totais e termotolerantes, respectivamente e por Poiatti (2001), que citou valores entre 38,7 e 63,8 NMP/mL para coliformes totais e 3,3 e 7,0 NMP/mL para coliformes a 45 °C. Os coliformes são absolutamente indesejáveis na indústria de laticínios, pois são causadores de diversas alterações no leite e seus derivados (MACHADO, 1975).

5.1.2 Avaliação da proteólise e da lipólise

A Figura 10 apresenta a relação caseína/proteína verdadeira (C/PV) e a concentração de ácidos graxos livres totais (AGL) no leite *in natura* durante o armazenamento. A redução da relação C/PV indica o aumento atividade proteolítica no leite e o aumento da concentração de AGL indica o aumento da atividade lipolítica no leite. Ambas as variáveis mostraram que houve atividades proteolíticas e lipolíticas relativamente mais intensas no quinto dia do armazenamento, apresentando valores de C/PV de 0,85 e AGL de 1,088 meq/L de leite, para proteólise e lipólise respectivamente.

Figura 10 – Relação caseína/proteína verdadeira e concentração total de AGL em leite de cabra *in natura* durante o armazenamento por 1, 3 e 5 dias a 4 °C.

Entre os dias 1 e 3, a quantidade de AGL mostrou resultados não muito diferentes (0,530 e 0,693 meq/L). A relação caseína/proteína verdadeira também foi semelhante para os 2 períodos (0,88 e 0,89 respectivamente). Estes resultados corroboram com crescimento mais intenso dos micro-organismos psicrotróficos lipolíticos e proteolíticos entre o terceiro e quinto dias de armazenamento, mostrando uma intensa atividade enzimática (tanto lipolítica quanto proteolítica) destes micro-organismos durante o armazenamento refrigerado do leite. Entretanto, não foi observado efeito ($P = 0,2530$) do período de armazenamento sobre a

atividade proteolítica (C/PV) do leite *in natura*. Já para a atividade lipolítica, foi observado aumento linear ($P = 0,0389$) obedecendo a equação $y = 0,34x + 0,12$ ($R^2 = 0,89$).

Foram observadas correlações altamente significativas ($P < 0,05$) entre o crescimento dos micro-organismos mesófilos, psicrotróficos proteolíticos e psicrotróficos lipolíticos e as atividades proteolítica e lipolítica (Figura 11). Os coeficientes de correlação observados entre a extensão da proteólise e as contagens de micro-organismos mesófilos, psicrotróficos proteolíticos e psicrotróficos lipolíticos foram de - 0,70, - 0,70 e - 0,49, respectivamente, indicando que o crescimento destes grupos de bactérias diminui a proporção de caseína em relação à proteína verdadeira do leite, que por sua vez, indica um aumento da atividade proteolítica no leite *in natura* durante o armazenamento. Já os coeficientes de correlação entre a extensão da lipólise e os mesmos grupos de micro-organismos foram 0,87, 0,81 e 0,74, respectivamente, mais uma vez indicando um aumento da atividade lipolítica no leite *in natura* em função do crescimento destes grupos de micro-organismos. É importante salientar que muitos dos micro-organismos psicrotróficos produzem tanto enzimas lipolíticas quanto proteolíticas, o que explica a alta correlação entre as contagens de micro-organismos proteolíticos e a atividade lipolítica e entre as contagens de micro-organismos lipolíticos e a atividade proteolítica. Segundo Fonseca e Santos (2000), cerca de 70% dos isolamentos de *Pseudomonas fluorescens* em leite apresentam tanto atividade proteolítica quanto lipolítica.

Figura 11 – Correlações (r) entre o crescimento de micro-organismos e a concentração total de AGL e a relação C/PV em leite de cabra *in natura*.

O perfil das caseínas do leite de cabra *in natura* pode ser observado na Figura 12. Nota-se que no primeiro dia de armazenamento houve predominância da β -caseína, seguida

pela k-caseína e uma quantidade inferior de α -caseína, com resultados de 0,79, 0,72 e 0,57 g/100 mL de leite, respectivamente.

Em relação às alterações durante o armazenamento, houve um pequeno aumento da k-caseína no quinto dia de armazenamento, se comparado ao primeiro e terceiro dias (0,72, 0,77 e 0,84 g/100 mL de leite), para os dias 1, 3 e 5 respectivamente). As quantidades de α -caseína também mostraram resultados um pouco maiores ao fim do período de armazenamento. A β -caseína permaneceu com quantidades semelhantes durante o armazenamento. Apesar das diferenças numéricas nos conteúdos de k- e α -caseínas, não foi observado efeito significativo ($P > 0,05$) do período de armazenamento do leite *in natura* sobre o perfil das frações de caseína do leite.

Armazenamento do leite *in natura* (dias)

Figura 12 – Perfil individual de caseínas (g/100 mL de leite) em leite de cabra *in natura* armazenado por 1, 3 e 5 dias a 4 °C.

Os resultados encontrados no presente estudo estão diferentes dos encontrados na literatura específica para proteínas do leite de cabra fresco *in natura*. Moatsou et al. (2006) encontraram valores de 0,40; 1,05 e 1,30 g/100 mL de leite para k, α e β -caseína, respectivamente. Em outro estudo, Moatsou et al. (2008) compararam o perfil protéico do leite de rebanhos da Grécia com o leite de rebanhos caprinos internacionais e encontraram valores de 0,39 e 0,37; 1,08 e 0,68; 1,32 e 1,15 g/100 mL de leite de k, α e β -caseína, respectivamente para amostras da Grécia e internacionais. Segundo Jenness (1980), a caseína do leite de cabra é formada principalmente pela β -caseína enquanto a α -caseína é o maior componente no leite bovino.

O perfil individual de AGL no leite *in natura* durante o armazenamento a 4 °C mostra a predominância de ácidos graxos livres de cadeias mais longas (C14-C18), como os ácidos palmítico (C16:0) e esteárico (C18:0), com valores de 5,06 e 6,32; 10,15 e 8,10, 10,96 e 13,69 mg/L de leite para os leites armazenados por 1, 3 e 5 dias, respectivamente (Figura 13). O ácido butírico (C4:0), não foi detectado em nenhuma das amostras, possivelmente pela sua alta volatilidade. Os ácidos capróico (C6:0) e caprílico (C8:0) também não foram detectados nas amostras de leite armazenado por 1 dia, entretanto o ácido cáprico (C10:0) foi detectado em quantidade de 0,65 mg/L de leite. Durante o armazenamento do leite *in natura*, houve alterações nas quantidades dos AGL de cadeia curta e média (C6-C12), com valores para os ácidos capróico, caprílico e cáprico de 1,34 e 0,47; 0,85 e 0,29, 2,17 e 2,11, respectivamente para o terceiro e quinto dias de armazenamento.

Apesar de alterações numéricas visíveis nas quantidades individuais de AGL durante o armazenamento, principalmente dos ácidos palmítico e esteárico, não foi observado efeito significativo ($P > 0,05$) do período de armazenamento do leite *in natura* sobre o perfil dos AGL (Figura 13), bem como para a somatória dos AGL estudados ($P = 0,3657$), que apresentou valores de 13,86; 27,03 e 32,39 mg/L de leite para os dias 1, 3 e 5, respectivamente.

Figura 13 – Perfil individual de AGL (mg/ L de leite) em leite de cabra *in natura* armazenado por 1, 3 e 5 dias a 4 °C.

A maior proporção de AGL de cadeias mais longas encontradas neste estudo concordam com estudo realizado por Kondyli e Katsiari (2002), que relataram valores de

626,2 e 697,8 mg/Kg de gordura de leite para os ácidos C16:0 e C18:0, respectivamente. Já em relação aos AGL de cadeias curtas e médias, os autores encontraram quantidades bem inferiores em relação aos AGL de cadeia longa (28,5; 96,7 201,9; 261,4 e 214,3 mg/kg de gordura de leite, respectivamente para os ácidos C6:0, C8:0, C10:0, C12:0, C14:0).

Pereira, Martins e Vicente (2008) caracterizaram amostras de leite de cabra *in natura* em relação aos AGL de cadeia curta e média, encontrando valores variando de 8,49 a 13,47; 9,23 a 20,4 e 18,53 a 61,10 mg/L de leite para os ácidos capróico, caprílico e cáprico, respectivamente; valores estes bem acima dos encontrados no presente estudo.

5.2 Caracterização do leite em pó

5.2.1 Avaliação da composição

Os valores encontrados na composição dos leites em pó estão descritos na Tabela 3. A umidade do produto variou de 1,5% a 2,0%, estando bem abaixo do limite máximo permitido pela legislação vigente para leite bovino em pó, que é de 3,0% para leite integral (BRASIL, 1997).

Tabela 3 – Composição de leite de cabra em pó durante o armazenamento por até 180 dias a 25 °C em função do período de armazenamento do leite de cabra *in natura* a 4 °C.

Composição (%)	Armazenamento do leite <i>in natura</i> (dias)	Armazenamento do leite em pó (dias)			
		0	60	120	180
Umidade	1	2,0 ± 0,5	2,0 ± 0,5	1,9 ± 0,4	1,8 ± 0,3
	3	1,8 ± 0,1	2,0 ± 0,7	1,5 ± 0,3	1,9 ± 0,4
	5	1,7 ± 0,1	1,9 ± 0,7	1,9 ± 0,4	1,8 ± 0,3
Proteína	1	24,7 ± 0,1	24,3 ± 0,1	24,3 ± 0,2	24,5 ± 0,3
	3	24,5 ± 0,2	24,3 ± 0,3	24,4 ± 0,3	24,5 ± 0,2
	5	24,3 ± 0,3	24,5 ± 0,2	24,6 ± 0,3	24,3 ± 0,2
Gordura	1	31,8 ± 0,5	28,5 ± 1,0	28,6 ± 0,4	28,2 ± 0,3
	3	32,1 ± 0,7	29,1 ± 0,6	28,6 ± 0,4	28,3 ± 0,3
	5	31,3 ± 0,7	28,7 ± 1,1	28,4 ± 0,3	28,3 ± 0,3
Lactose	1	37,3 ± 1,1	38,5 ± 1,6	38,7 ± 0,8	39,0 ± 0,6
	3	37,1 ± 0,6	37,9 ± 0,9	39,3 ± 0,9	39,1 ± 0,7
	5	37,1 ± 0,3	38,1 ± 0,9	38,7 ± 0,2	39,3 ± 0,3
Cinzas	1	6,3 ± 0,0	6,3 ± 0,1	6,3 ± 0,1	6,3 ± 0,1
	3	6,3 ± 0,0	6,2 ± 0,1	6,2 ± 0,1	6,1 ± 0,1
	5	6,2 ± 0,1	6,3 ± 0,1	6,2 ± 0,1	6,3 ± 0,1

Os valores encontrados também foram menores que os encontrados por Campos, Treptow e Soares (1998), que encontraram valores entre 2,08% a 3,68% para leites em pó

armazenados por até 12 meses. Já Diniz et al. (2005) obtiveram leite de cabra em pó com 6,3% de umidade. A ausência de efeito dos períodos de armazenamento do leite *in natura* e do leite em pó ($P > 0,05$) na umidade dos pós (Tabela 4) indica que a embalagem flexível utilizada foi bastante eficiente como barreira ao vapor d'água do ambiente.

A quantidade de proteínas variou de 24,3 a 24,7%. Apesar da pequena variação nos teores de proteína durante o armazenamento do leite em pó, foi observada interação ($P = 0,0194$) dos efeitos dos armazenamentos do leite *in natura* e do leite em pó (Tabela 4).

Tabela 4 – Valores de P dos efeitos dos períodos de armazenamento do leite de cabra *in natura* e do leite de cabra em pó sobre a composição do leite em pó.

	P valor		
	Armazenamento do leite <i>in natura</i> (A)	Armazenamento do leite em pó (B)	Interação A X B
Umidade	0,5000	0,6320	0,7483
Proteína	0,8254	0,6750	0,0194*
Gordura	0,1940	< 0,0001*	0,6434
Lactose	0,6004	< 0,0001*	0,7510
Cinzas	0,0538	0,3882	0,4078

* Significativo.

Os teores de gordura (Tabela 3) dos leites em pó variaram entre 28,2 e 32,1%, estando bem acima do limite mínimo exigido de 26,0% pela Portaria 369 de 4 de setembro de 1997 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 1997). Em estudo realizado por Diniz et al. (2005), o leite de cabra em pó apresentou teor de gordura de 30,4%. Observou-se uma redução linear ($P < 0,0001$) da quantidade de gordura durante o período de armazenamento do leite em pó (Tabela 4), obedecendo a equação $y = -1,07x + 32,02$ ($R^2 = 0,72$). Entretanto, não foi verificado efeito ($P > 0,05$) do período de armazenamento do leite *in natura* sobre a quantidade de gordura do leite em pó. Celestino, Iyer e Roginski (1997) também relataram efeito significativo ($P < 0,05$) do período de armazenamento do leite em pó no teor de gordura de leite em pó bovino, com valores de 28,87% de gordura no leite em pó recém-obtido e de 27,72% no leite em pó armazenado por 8 meses a 25 °C.

O conteúdo de lactose variou de 37,1 a 39,3%, sendo observado um aumento linear ($P < 0,0001$) desta variável no período de armazenamento do leite em pó (Tabela 4), seguindo a equação $y = 1,11x + 35,20$ ($R^2 = 0,75$). A porcentagem de cinzas (Tabela 3) praticamente não apresentou variação ao longo do período de armazenamento do leite em

pó, nem sofreu efeito ($P > 0,05$) dos períodos de armazenamento do leite *in natura* ou do leite em pó (Tabela 4).

5.2.2 Avaliação microbiológica

As populações de micro-organismos mesófilos variaram entre $3,3 \times 10^2$ a $6,0 \times 10^3$ UFC/g (Tabela 5). A legislação referente à qualidade do leite em pó (BRASIL, 1997) estipula o máximo de $3,0 \times 10^4$ UFC/g de mesófilos, estando todas as médias obtidas neste estudo dentro do padrão estabelecido para este grupo de micro-organismos.

Tabela 5 – Qualidade microbiológica de leite de cabra em pó durante o armazenamento por até 180 dias a 25 °C em função do período de armazenamento do leite de cabra *in natura* a 4 °C.

Micro-organismos	Dias de armazenamento do leite <i>in natura</i>	Dias de armazenamento do leite em pó			
		0	60	120	180
Mesófilos (log UFC/g)	1	2,52 ± 0,33	2,50 ± 0,09	2,83 ± 0,34	2,52 ± 0,28
	3	3,10 ± 0,23	3,16 ± 0,32	3,32 ± 0,44	3,01 ± 0,17
	5	3,62 ± 0,39	3,78 ± 0,56	3,34 ± 0,98	3,54 ± 0,25
Psicrotróficos lipolíticos (UFC/g)	1	< 10	< 10	< 10	< 10
	3	< 10	< 10	< 10	< 10
	5	< 10	< 10	< 10	< 10
Psicrotróficos proteolíticos (UFC/g)	1	< 10	< 10	< 10	< 10
	3	< 10	< 10	< 10	< 10
	5	< 10	< 10	< 10	< 10
Coliformes totais (NMP/g)	1	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
	3	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
	5*	< 3,0	< 3,0	< 3,0	Ausente
<i>E. coli</i> (NMP/g)	1	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
	3	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
	5	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
<i>Bacillus cereus</i> (log UFC/g)	1	< 10	< 10	< 10	< 10
	3	< 10	< 10	< 10	< 10
	5*	1,48 ± 0,64	1,62 ± 0,28	1,31 ± 0,52	1,45 ± 0,30
<i>Staphylococcus</i> coagulase-positivos (UFC/g)	1	< 10	< 10	< 10	< 10
	3	< 10	< 10	< 10	< 10
	5	< 10	< 10	< 10	< 10
<i>Salmonella</i> em 25g de amostra	1	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
	3	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
	5	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente

* Médias de 3 repetições em duplicata. Em apenas uma das repetições houve contaminação do leite em pó por coliformes e *Bacillus cereus*.

Foi verificado efeito linear ($P < 0,0001$) do período de armazenamento do leite *in natura* sobre a qualidade microbiológica do leite em pó, no qual leites em pó obtidos de leite *in natura* armazenados por 5 dias apresentaram maiores populações de micro-organismos

mesófilos, conforme descrito na equação de regressão linear $y = 0,49x + 2,12$ ($R^2 = 0,99$). Entretanto, não houve efeito do período de armazenamento do leite em pó ($P = 0,7443$) sobre as populações de mesófilos, indicando que a desidratação é um eficiente método de conservação da qualidade do leite, já que não permite o desenvolvimento de micro-organismos. Também não houve interação significativa ($P = 0,4084$) entre os efeitos dos períodos de armazenamento do leite *in natura* e do leite em pó na população de mesófilos.

Pode-se perceber que os micro-organismos psicrotróficos proteolíticos e lipolíticos foram destruídos pelos tratamentos térmicos empregados para elaboração do leite em pó (Tabela 5). Os dados apresentados confirmam os obtidos por Weickbach e Langlois (1977), os quais observaram que os micro-organismos psicrotróficos são facilmente destruídos pelos processos convencionais de pasteurização. Entretanto, acredita-se que, apesar dos micro-organismos não estarem mais presentes no leite em pó, as enzimas produzidas por eles durante o armazenamento do leite *in natura*, por serem termorresistentes, continuaram a agir durante a estocagem do leite em pó.

Em relação aos coliformes totais, em apenas 1 das repetições dos leites em pó obtidos a partir de leite *in natura* armazenado por 5 dias houve a detecção destes micro-organismos (Tabela 5). No entanto, a quantidade de coliformes totais detectada esteve abaixo do limite máximo permitido pela Portaria 369 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 1997), que é de 10,0 NMP/g. A Tabela 5 também mostra que micro-organismos como *Escherichia coli*, *Staphylococcus coagulase positivos* e *Salmonella* sp. não foram detectados nas amostras de leite em pó, independente do período de armazenamento do leite em pó.

Em apenas uma das repetições (a mesma na qual houve a detecção de coliformes totais), foi observada a presença de *Bacillus cereus* (Tabela 5). Estes micro-organismos são considerados importantes na qualidade de leite em pó, haja vista sua capacidade de formar esporos em condições adversas como altas temperaturas. A legislação brasileira (BRASIL, 1997) permite a presença de no máximo 100 UFC/g de *Bacillus cereus* em leite em pó. Os resultados entre 1,31 e 1,62 log de UFC/g refletem a média entre as 3 repetições, entretanto estes resultados devem ser analisados com cautela, já que em 2 das repetições não houve a detecção destes micro-organismos. A Figura 14 mostra a confirmação de cepas de *B. cereus* através da técnica de reação da polimerase em cadeia (PCR). Das 40 colônias isoladas (10 colônias para cada período de armazenamento do leite em pó com contaminação suspeita), 39 foram confirmadas genotipicamente em relação à presença do gene *GroEL* e sendo portanto, consideradas bactérias do grupo *B. cereus*.

Figura 14 – Fotografia de gel contendo fragmento amplificado de DNA de cepas de *B. cereus* isoladas de leite de cabra em pó analisadas através da técnica PCR.

M= biomarcador 1000 bp, P = cepa controle-positivo, N= controle-negativo (água), 1 a 10 = cepas testadas.

5.2.3 Avaliação da proteólise

A relação caseína/proteína verdadeira dos leites em pó durante o armazenamento pode ser observada na Figura 15.

Figura 15 – Relação caseína/proteína verdadeira de leite de cabra em pó durante o armazenamento por até 180 dias a 25 °C em função do período de armazenamento do leite de cabra *in natura* a 4 °C.

Os valores variaram de 0,87 a 0,90, sendo o maior valor encontrado no leite em pó recém-processado a partir do leite *in natura* armazenado por apenas 1 dia. Entretanto, essas pequenas variações na relação C/PV não sofreram efeitos significativos ($P > 0,05$).

tanto dos períodos de armazenamento do leite *in natura* como do leite em pó, conforme pode ser observado na Tabela 6.

As quantidades individuais de α -caseína variaram de 4,7 a 6,3 g/100g de leite em pó, sendo o menor valor encontrado no leite em pó recém-processado a partir do leite *in natura* armazenado por 1 dia, e o maior valor encontrado no leite em pó obtido a partir do leite *in natura* armazenado por 5 dias e após o armazenamento por 180 dias (Figura 16). Não foi observado efeito significativo ($P > 0,05$) dos períodos de armazenamento do leite *in natura* nem do leite em pó nas quantidades desta fração de caseína (Tabela 6).

Figura 16 – Perfil de caseínas (g/100g de pó) de amostras (A_i-j) de leite de cabra em pó durante o armazenamento por até 180 dias (j) a 25 °C em função do período de armazenamento do leite de cabra *in natura* a 4 °C (i).

Os valores encontrados de β -caseína (Figura 16) nas amostras de leite de cabra em pó variaram de 6,7 a 9,7 g/100g de pó, sendo geralmente maiores no leite em pó obtido a partir de leite *in natura* armazenado por 5 dias (9,0 e 9,7 g/100g no leite em pó recém-processado e no leite armazenado por 180 dias). Maiores quantidades de β -caseína eram esperadas no leite em pó obtido a partir de matéria-prima armazenada por 1 dia, já que a população de psicrotróficos no leite *in natura* ainda estava pequena. Apesar destas diferenças numéricas, não foram observados efeitos ($P > 0,05$) dos períodos de armazenamento do leite *in natura* e do leite em pó nas quantidades de β -caseína do leite em pó (Tabela 6). Por outro lado, as quantidades de β -caseína (Figura 16) foram superiores às quantidades de α -caseína, concordando com a citação de Jenness (1980) de que a caseína do leite de cabra é formada principalmente pela β -caseína enquanto a α -caseína é o maior componente no leite bovino. A proporção de β -caseína em relação à quantidade total de caseína das amostras de leite em pó variou de 42,0 a 44,7%, valores estes semelhantes aos

descritos por Clark e Sherbon (2000), que citam variações entre 42 e 64% de proporção da β -caseína no leite de cabra e de 32 e 41% no leite bovino.

Em relação à fração κ -caseína (Figura 16), observaram-se valores entre 4,3 e 6,9 g/100g de leite em pó, sendo o maior valor encontrado no leite em pó recém-processado obtido a partir do leite *in natura* armazenado por 5 dias. Mais uma vez, não foram observados efeitos significativos ($P > 0,05$) dos períodos de armazenamento tanto do leite *in natura* quanto do leite em pó, indicando que as amostras de leite em pó não sofreram alterações significativas nas frações de caseína durante o armazenamento e que os micro-organismos psicrotróficos proteolíticos que cresceram durante o armazenamento do leite *in natura* (Figura 9) ou não produziram enzimas proteolíticas ou as mesmas não apresentaram termorresistência aos tratamentos utilizados durante o experimento. A escassez de dados na literatura científica impossibilita comparações em relação às quantidades de caseína em leite de cabra em pó. Segundo Clark e Sherbon (2000), os leites caprino e bovino, e consequentemente seus produtos em pó, contêm proporções similares de κ -caseína (10 a 24%). No presente estudo, foram encontradas proporções maiores de κ -caseína em relação ao total de caseína, com valores entre 25,0 e 32,9%.

As médias obtidas nas análises para obtenção do perfil de caseínas das amostras de leite em pó encontram-se no Apêndice A.

Tabela 6 – Valores de P dos efeitos dos períodos de armazenamento do leite de cabra *in natura* e do leite de cabra em pó sobre a relação caseína/proteína verdadeira e sobre as frações de caseína do leite de cabra em pó.

	Valor P		
	Armazenamento do leite <i>in natura</i> (A)	Armazenamento do leite em pó (B)	Interação A X B
C/PV	0,1199	0,6140	0,4094
α	0,7580	0,1153	0,2189
β	0,7405	0,1006	0,8235
κ	0,2363	0,0570	0,4675

5.2.4 Avaliação da lipólise

Os valores obtidos para a quantificação de AGL totais nas amostras de leite de cabra em pó podem ser observados na Tabela 7. Os valores de AGL variaram de 5,11 a 15,44 meq/kg de leite em pó, sendo os maiores valores encontrados nos pós-armazenados por maiores períodos e obtidos de leite *in natura* também armazenado por maior período, o que coincide com a maior população de micro-organismos psicrotróficos lipolíticos (Figura 9) e consequentemente, maior produção de enzimas lipolíticas termorresistentes durante o armazenamento do leite *in natura*. Celestino, Iyer e Roginski (1997) relataram o aumento na quantidade de AGL durante o armazenamento de leite em pó bovino, com valores de 7,55 meq/kg de leite para o leite em pó recém-produzido e de 10,38 meq/kg de leite para o leite em pó armazenado por 180 dias a 25 °C. Ao comparar a quantidade de AGL em leite em pó produzido com leites *in natura* e armazenado por 4 dias a 4 °C, os mesmos autores observaram que a quantidade de AGL foi maior ($P < 0,05$) no leite em pó obtido do leite *in natura* armazenado, com valores de 9,07 e 10,20 meq/kg de leite em pó, respectivamente.

Tabela 7 – Concentração de AGL totais (meq/kg de leite em pó) de leite de cabra em pó durante o armazenamento por até 180 dias a 25 °C em função do período de armazenamento do leite de cabra *in natura* a 4 °C.

Período de armazenamento do leite <i>in natura</i> (dias)	Período de armazenamento do leite em pó (dias)			
	0	60	120	180
1	5,92 ± 1,77	5,11 ± 2,57	5,63 ± 1,80	6,34 ± 0,88
3	6,63 ± 0,82	7,04 ± 3,05	6,72 ± 0,80	7,16 ± 0,92
5	10,15 ± 0,23	9,54 ± 0,83	10,00 ± 1,45	15,44 ± 2,58

Foram observados aumentos significativos da quantidade total de AGL relacionados tanto ao período de armazenamento do leite *in natura* ($P < 0,0001$) quanto ao período de armazenamento do leite em pó ($P = 0,0012$). Além disso, foi observada interação significativa ($P = 0,0066$) entre estes efeitos. O aumento nas quantidades de AGL totais, e consequentemente, uma atividade lipolítica mais intensa em algumas das amostras de leite em pó durante o armazenamento podem ser visualizados melhor na Figura 17.

Figura 17 – Efeitos dos períodos de armazenamento do leite de cabra *in natura* (eixo z) e do leite de cabra em pó (eixo x) na lipólise (eixo y) do leite em pó.

Em relação ao perfil individual de AGL (Figura 18), foram observadas maiores concentrações dos ácidos palmítico e esteárico, com valores variando entre 14,2 e 17,0 mg/100g de leite em pó para o ácido palmítico e 12,6 e 17,3 mg/100g de leite em pó para o ácido esteárico. O ácido láurico também esteve presente em quantidades maiores em relação aos AGL de cadeia curta, com valores entre 5,11 e 10,03 mg/100g de leite em pó, encontrado inclusive em quantidades superiores às quantidades de ácido mirístico, que apresentou valores entre 2,58 e 4,22 mg/100g de leite em pó. Os ácidos capróico, caprílico e cáprico foram detectados em concentrações de 2,10 a 2,94, 1,28 a 3,21 e 1,20 e 1,72, respectivamente. O ácido butírico (C4:0) não foi detectado em nenhuma das amostras analisadas, provavelmente pela sua altíssima volatilidade. Páez et al. (2006) encontraram valores de 1,30; 1,07; 2,14; 3,32; 5,46; 20,15; 18,93 mg/100g de leite em pó bovino produzido durante o inverno dos ácidos capróico, caprílico, cáprico, láurico, mirístico, palmítico e esteárico, respectivamente.

Figura 18 – Perfil individual de AGL (mg/ 100g de pó) de amostras (A_{i-j}) de leite de cabra em pó durante o armazenamento por até 180 dias (j) a 25 °C em função do período de armazenamento do leite de cabra *in natura* a 4 °C (i).

A Tabela 8 apresenta os valores de P obtidos nas análises dos efeitos dos períodos de armazenamento do leite *in natura* e do leite em pó sobre a quantidade de AGL individuais nas amostras de leite em pó. Foi observado aumento linear do período de armazenamento do leite *in natura* sobre as quantidades dos ácidos caprílico ($y = 3,39x + 13,49$; $R^2 = 0,78$) e mirístico ($y = 0,43x + 2,27$; $R^2 = 0,98$) e efeito quadrático sobre a quantidade de ácido cáprico, obedecendo a equação $y = -1,37x^2 + 6,14x + 8,52$ ($R^2 = 1,00$). Em relação ao período de armazenamento do leite em pó, foi observado aumento linear nas quantidades de ácidos caprílico e cáprico, obedecendo as equações $y = 4,10x + 11,03$ ($R^2 = 0,94$) e $y = 1,56x + 10,53$ ($R^2 = 0,96$), respectivamente. Não foi observado efeito ($P > 0,05$) dos períodos de armazenamento do leite *in natura* e do leite em pó no total dos AGL estudados, indicando que outros AGL e compostos devem ter sido formados a partir da deterioração da gordura do leite em pó.

Páez et al. (2006) observaram efeito significativo ($P < 0,05$) do tempo de armazenamento a 21 °C nas quantidades dos ácidos graxos livres láurico e palmítico. Entretanto, os autores relataram aumento de 21% do ácido láurico durante o armazenamento por 6 meses, enquanto o ácido palmítico apresentou redução de 24% para o mesmo período de armazenamento.

As médias obtidas nas análises para obtenção do perfil de AGL das amostras de leite em pó encontram-se no Apêndice B.

Tabela 8 – Valores de P dos efeitos dos períodos de armazenamento do leite de cabra *in natura* e do leite de cabra em pó sobre o perfil de AGL de leite de cabra em pó.

	Valor P		
	Armazenamento do leite <i>in natura</i> (A)	Armazenamento do leite em pó (B)	Interação A X B
Capróico (C6:0)	0,8388	0,4916	0,8526
Caprílico (C8:0)	0,0005*	0,0001*	0,2825
Cáprico (C10:0)	<0,0001*	<0,0001*	0,1481
Láurico (C12:0)	0,3730	0,0744	0,9967
Mirístico (C14:0)	0,0118*	0,3241	0,7849
Palmítico (C16:0)	0,7591	0,8692	0,9234
Esteárico (C18:0)	0,5159	0,9433	0,4712
TOTAL AGL (C6-C18)	0,5677	0,3861	0,9286

* Significativo.

5.2.5 Índice de peróxido

Além da lipólise, outro fator que interfere na qualidade sensorial do leite em pó é a oxidação lipídica. Conforme pode ser observado na Tabela 9, houve aumento linear tanto relacionado ao período de armazenamento do leite *in natura* ($P = 0,0002$) quanto ao do leite em pó ($P < 0,0001$), expressos pelas equações $y = 0,13z + 0,08$ ($R^2 = 0,97$) e $y = 0,15x - 0,03$ ($R^2 = 0,96$), respectivamente (Figura 19).

Tabela 9 – Índice de peróxido (meq/kg de gordura) de leite de cabra em pó durante o armazenamento por até 180 dias a 25 °C em função do período de armazenamento do leite de cabra *in natura* a 4 °C.

Período de armazenamento do leite <i>in natura</i> (dias)	Período de armazenamento do leite em pó (dias)			
	0	60	120	180
1	0,049 ± 0,059	0,119 ± 0,132	0,261 ± 0,111	0,399 ± 0,160
3	0,167 ± 0,149	0,314 ± 0,362	0,459 ± 0,241	0,604 ± 0,234
5	0,051 ± 0,043	0,504 ± 0,283	0,711 ± 0,205	0,679 ± 0,373

A oxidação variou de 0,049 a 0,711 meq/kg de gordura, sendo maiores os índices de peróxidos quanto maiores forem os períodos de armazenamento tanto do leite *in natura* quanto do leite em pó. Estes valores são semelhantes aos encontrados por Campos, Treptow e Soares (1998), que avaliaram a oxidação em leite em pó integral acondicionados em embalagens semelhantes à utilizadas no presente estudo e com O₂ residual de 4% e encontraram índices de peróxido entre 0,0 a 0,66 meq/kg de gordura. Baldwin, Cooper e

Palmer (1991) relataram valores entre 0,03 a 3 meq/kg de gordura em leites em pó armazenados por até 18 meses sob atmosfera normal. Como os peróxidos são os produtos primários da oxidação lipídica, geralmente alcançam um nível máximo em determinado período e depois tendem a diminuir por causa da formação de compostos secundários de oxidação (McCLUSKEY et al., 1997). Os índices de peróxido encontrados correspondem a baixos teores, indicando baixa velocidade de oxidação. Entretanto, a observação dos efeitos dos períodos de armazenamento do leite *in natura* e do leite em pó reforça o afirmado por Brum (2004) de que a lipólise aumenta a susceptibilidade dos ácidos graxos à oxidação.

Figura 19 – Efeitos dos períodos de armazenamento do leite de cabra *in natura* (eixo z) e do leite de cabra em pó (eixo x) no índice de peróxidos (eixo y) do leite em pó.

5.2.6 Avaliação das propriedades físicas

A dispersibilidade dos pós variou de 81,1 a 88,4% (Tabela 10), sendo a menor dispersibilidade encontrada no leite em pó obtido do leite *in natura* armazenado por 1 dia, aos 60 dias de vida útil. Já o maior valor foi observado também aos 60 dias de armazenamento do leite em pó, porém quando obtido do leite *in natura* armazenado por 5 dias.

Tabela 10 – Dispersibilidade, índice de insolubilidade, atividade de água, luminosidade (L^*), componente a^* e componente b^* de leite de cabra em pó durante o armazenamento por até 180 dias a 25 °C em função do período de armazenamento do leite de cabra *in natura* a 4 °C.

		Armazenamento do leite em pó (dias)			
		0	60	120	180
Dispersibilidade (%)	1	82,6 ± 1,2	81,1 ± 4,0	85,2 ± 2,6	87,8 ± 1,7
	3	87,3 ± 7,2	84,6 ± 12,6	85,9 ± 1,0	85,6 ± 3,7
	5	86,9 ± 3,5	88,4 ± 1,0	84,20 ± 0,7	82,3 ± 5,9
Índice de insolubilidade (mL/ 24 °C)	1	0,3 ± 0,1	0,2 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,2 ± 0,0
	3	0,3 ± 0,1	0,3 ± 0,1	0,3 ± 0,2	0,2 ± 0,1
	5	0,3 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,3 ± 0,1	0,2 ± 0,0
a_w	1	0,12 ± 0,02	0,15 ± 0,02	0,16 ± 0,03	0,15 ± 0,03
	3	0,15 ± 0,02	0,15 ± 0,01	0,14 ± 0,03	0,16 ± 0,03
	5	0,16 ± 0,03	0,16 ± 0,02	0,15 ± 0,02	0,16 ± 0,03
L^*	1	92,12 ± 1,18	93,03 ± 1,12	92,53 ± 0,33	92,89 ± 0,75
	3	92,90 ± 0,75	93,36 ± 0,56	93,15 ± 0,20	93,48 ± 0,72
	5	93,71 ± 0,85	93,34 ± 0,32	93,15 ± 0,38	93,57 ± 0,31
a^*	1	-1,78 ± 0,02	-1,78 ± 0,05	-1,71 ± 0,01	-1,70 ± 0,01
	3	-1,78 ± 0,01	-1,74 ± 0,01	-1,76 ± 0,01	-1,73 ± 0,03
	5	-1,78 ± 0,02	-1,75 ± 0,04	-1,76 ± 0,04	-1,74 ± 0,03
b^*	1	12,85 ± 0,51	12,68 ± 0,26	11,73 ± 0,75	12,14 ± 0,41
	3	11,96 ± 0,51	11,15 ± 0,74	13,33 ± 0,52	11,08 ± 0,65
	5	13,16 ± 3,14	11,65 ± 1,55	12,10 ± 1,15	11,77 ± 1,47

a^* = componente verde-vermelho, b^* = componente azul-amarelo

Fonseca et al. (2010) encontraram valores entre 91,6 e 96,3 para amostras de leite de cabra em pó adicionados de diferentes níveis de β -ciclodextrina. Geralmente, o processo industrial de produção de leite em pó envolve etapas que não foram utilizadas no presente estudo, como a aglomeração e a instantaneização. Estes adjuntos de processo, entre outras vantagens, melhoram a dispersibilidade das partículas de leite em pó na água, inclusive permitindo sua fácil reconstituição em água a temperatura ambiente. Dados referentes à dispersibilidade de leite em pó são escassos na literatura científica. De acordo com Early (2000), as partículas de dispersão se originam pela umidificação superficial de partículas não aglomeradas de tamanho muito pequeno. A formação de uma capa gelificada impede a penetração de água, reduzindo a dispersibilidade e consequentemente a velocidade de dissolução das partículas. Conforme pode ser observado na Tabela 11, não houve efeito dos períodos de armazenamento do leite *in natura* ($P = 0,7842$) e do leite em pó ($P = 0,8823$), bem como nenhuma interação entre os efeitos foi observada ($P = 0,2050$) sobre a dispersibilidade dos pós.

O índice de insolubilidade não sofreu variações durante o período de armazenamento do leite em pó (Tabela 10). Os valores obtidos variaram entre 0,20 e 0,36 mL de sedimento a 24 °C, não sendo observados efeitos dos períodos de armazenamento do leite *in natura* e do

leite em pó (Tabela 11). Em estudo realizado por Celestino, Iyer e Roginski (1997), foi observado aumento significativo ($P < 0,0001$) do índice de insolubilidade de leite em pó bovino durante o armazenamento do pó, com valores de 0,13 mL para o leite em pó recém-produzido e de 0,30 mL para o leite em pó armazenado por 6 meses. Os autores também observaram que o leite em pó obtido a partir de leite *in natura* armazenado por 48h a 4 °C apresentaram índices de insolubilidade maiores (0,20 mL e 0,43 mL para pós armazenados por 0 e 6 meses, respectivamente) que os pós obtidos de leite *in natura* fresco. Segundo Thomas et al. (2004), a melhor medida para avaliar a real capacidade de solubilização do pó na água é a análise do índice de insolubilidade, na qual observa-se o volume de sedimento no leite reconstituído, que geralmente varia de 0,14 a 1,37 mL em leite em pó integral. Conforme pode ser observado na Tabela 11, não houve efeito dos períodos de armazenamento do leite *in natura* ($P = 0,1564$) e do leite em pó ($P = 0,1577$), bem como nenhuma interação entre os efeitos foi observada ($P = 0,2149$) sobre o índice de insolubilidade dos pós.

Tabela 11 – Valores de P dos efeitos do período de armazenamento do leite de cabra *in natura* e do leite de cabra em pó sobre as propriedades físicas de leite de cabra em pó.

	Valor P		
	Armazenamento do leite <i>in natura</i> (A)	Armazenamento do leite em pó (B)	Interação A X B
Dispersibilidade	0,7842	0,8823	0,2050
Insolubilidade	0,1564	0,1577	0,2149
aw	0,3598	0,4953	0,5045
L*	0,0001**	0,1442	0,2274
a*	0,4319	<0,0001**	0,0848
b*	0,2643	0,0862	0,2533

** Significativo. L* = luminosidade, a* = componente verde-vermelho, b* = componente azul-amarelo.

Na Tabela 10 também podem ser observados os resultados encontrados para atividade de água (aw). O leite em pó obtido de leite *in natura* armazenado por 3 dias apresentou a média mais alta (0,122). A média mais baixa foi observada no leite em pó obtido de matéria-prima armazenada por 5 dias (0,082). Mesmo com essas pequenas diferenças, pode-se dizer que a aw dos pós estão todas muito baixas. Sabe-se que um dos principais parâmetros que determinam a velocidade de deterioração do leite em pó é a atividade de água, já que as alterações microbianas e enzimáticas não são muito frequentes nos leites em pó. Para que ocorra crescimento microbiano a atividade de água tem que ser superior a 0,6, porém em valores de aw muito baixas aumenta notavelmente a velocidade

de auto-oxidação do leite em pó integral (WALSTRA, et al., 2001), o que pode representar um problema durante o estudo da vida útil dos leites em pó do presente estudo.

Observa-se na Tabela 10, que em relação ao parâmetro de luminosidade (L^*), os valores para todos os pós tenderam para o branco, com valores variando entre 92,12 e 93,71 (para os pós sem armazenamento e obtidos a partir de leite *in natura* armazenados por 1 e 5 dias, respectivamente). A intensidade da cor branca foi mais expressiva nos pós obtidos do leite *in natura* armazenado por 3 e 5 dias, o que é explicado pelo aumento linear relacionado ao período de armazenamento do leite *in natura* ($P < 0,0001$) sobre a luminosidade (L^*), seguindo a equação $y = 0,38x + 92,36$; $R^2 = 0,93$ (Tabela 11). Entretanto, não foi observado efeito do período de armazenamento do leite em pó sobre esta característica. Em relação ao componente a^* , todas as amostras tenderam para a cor vermelha (Tabela 10), sendo essa intensidade superior nas amostras de leite em pó recém-produzido, independente do período de armazenamento do leite *in natura*, com valor de -1,78. O menor valor encontrado para o componente a^* foi -1,70, para a amostra de leite em pó aos 180 dias, obtido a partir de leite *in natura* armazenado por 1 dia. Foi observado aumento linear da intensidade da coloração vermelha do leite em pó em função do efeito ($P < 0,0001$) do período de armazenamento do leite em pó (Tabela 11), obedecendo a equação $y = 0,01x - 1,79$ ($R^2 = 0,93$). Apesar do efeito significativo, pode-se dizer que a intensidade da coloração vermelha nos pós estabeleceu-se em níveis bem baixos. Nielsen, Stapelfeldt e Skibsted (1997) encontraram valores entre -2,1 a -0,9 na escala Hunter para cor vermelha em leite bovino em pó armazenado a 50 °C. Já em relação à luminosidade (L^*), os maiores valores para intensidade de cor branca encontrados foram próximos de 61,0 na escala Hunter, mostrando a importância da temperatura de armazenamento para manter as características de cor do leite em pó.

Em relação ao parâmetro b^* , todas as amostras apresentaram resultados que tenderam para a cor amarela (Tabela 10), sendo mais expressiva a coloração dos pós obtidos de leite *in natura* armazenado por 3 dias, com 180 e 120 dias de armazenamento (11,08 e 13,33, respectivamente). Entretanto, não foram observados efeitos significativos ($P > 0,05$) dos períodos de armazenamento do leite *in natura* e do leite em pó sobre a intensidade da cor amarela dos pós. De acordo com estudo realizado por Stapelfeldt, Nielsen e Skibsted (1997), as amostras de leite em pó bovino variaram de 13,6 a 14,4 na escala Hunter para intensidade da cor amarela. Em outro estudo realizado por Thomsen et al. (2005), o componente b^* variou entre 13 e 15 para amostras de leite em pó bovino armazenados a 37 °C enquanto amostras armazenadas a 45 °C apresentaram intensidade de cor amarela acima de 30,0 na escala Hunter ao final de 150 dias, sugerindo a influência da temperatura na formação de melanoidinas pela reação de Maillard. Em outro estudo com armazenamento de leite em pó bovino, os valores de b^* variaram entre 8,8 a 9,0 (NIELSEN;

STAPELFELDT; SKIBSTED, 1997). No entanto, é importante lembrar que o leite em pó bovino já possui naturalmente coloração mais amarelada que o leite caprino devido à presença de β -caroteno no primeiro, o que explica a menor intensidade de coloração amarela nas amostras de leite de cabra em pó obtidos no presente estudo.

O diâmetro das partículas no leite em pó variou de 1 μm a 120 μm (Figura 20). Houve predomínio de partículas com diâmetros menor que 25 μm em todas as amostras, com valores variando de 60,03% a 82,19% das partículas nesta faixa de diâmetro. Quando analisadas as partículas de até 50 μm , a porcentagem de partículas nesta faixa de diâmetro aumentou para valores entre 87,56% e 99,16%, não sendo observados efeitos nem do período de armazenamento do leite *in natura* ($P = 0,3440$) nem do período de armazenamento do leite em pó ($P = 0,1704$). Também não foi observada interação ($P = 0,4463$) dos efeitos dos períodos de armazenamento do leite *in natura* e do leite em pó.

Figura 20 – Distribuição do tamanho de partículas de amostras (A_i-j) de leite de cabra em pó durante o armazenamento por até 180 dias (j) a 25 °C em função do período de armazenamento do leite de cabra *in natura* a 4 °C (i).

Os resultados obtidos neste estudo mostram que os diâmetros médios das partículas, independente dos períodos de armazenamento do leite *in natura* e do leite em pó, estiveram bem abaixo dos relatados por Yan e Barbosa-Cánovas (1997), que observaram valores entre 75 e 850 μm para os diâmetros das partículas em leite em pó desnatado, com predomínio de partículas com diâmetros entre 106 e 425 μm . Thomas et al. (2004) afirmam

que geralmente, a média do diâmetro das partículas de leite em pó produzidos pelo processo *spray drying* varia de 10 a 250 μm . De acordo com Ilari e Mekkaoui (2005), a predominância de partículas muito pequenas tem efeito negativo nas propriedades de um pó, em relação às suas finalidades práticas de uso. Além disso, acredita-se que o diâmetro das partículas de leite em pó seja definido pelas características do secador e pelos parâmetros do processo de secagem, como o diâmetro da abertura do bico atomizador, a viscosidade do leite pré-concentrado, as temperaturas de entrada e saída do atomizador (TWOMEY et al., 2000; YETISMEYEN; DEVECI, 2000), fatores estes que não foram variáveis no presente estudo.

As médias obtidas nas análises para obtenção da distribuição do tamanho de partículas das amostras de leite em pó encontram-se no Apêndice C.

5.2.7 Avaliação sensorial

O perfil da aparência das amostras de leite em pó obtido através das médias de 7 provadores treinados para cada atributo encontra-se na Figura 21.

As notas para cor do pó (0 = branca e 10 = amarela) variaram entre 1,5 e 2,6, mostrando que todas as amostras apresentaram coloração muito mais próxima da cor branca. Foi observada redução linear ($P = 0,0062$) da cor amarela do pó em função do período de armazenamento do leite in natura (Tabela 12), representada pela equação $y = -0,33x + 2,77$ ($R^2 = 0,96$). Não houve efeito do período de armazenamento do leite em pó sobre a cor dos pós (Tabela 12), contrariando o relatado por outros autores em relação ao aumento da coloração amarela do leite bovino em pó durante o armazenamento em temperaturas superiores a 35 °C (STAPELFELDT; NIELSEN; SKIBSTED, 1997, THOMSEN et al., 2005, NIELSEN; STAPELFELDT; SKIBSTED, 1997). Este fato é reforçado ao observar que não foi encontrada correlação significativa ($P = 0,5539$) entre as médias das notas obtidas para cor do pó na análise sensorial descritiva (Figura 21) e as médias do componente b^* (Tabela 10), mostrando que há diferenças entre a análise da cor por provadores treinados e pela análise instrumental através de colorímetro.

Figura 21 – Perfil e intensidade de características de aparência de amostras (A_{i-j}) de leite de cabra em pó durante o armazenamento por até 180 dias (j) a 25 °C em função do período de armazenamento do leite de cabra *in natura* a 4 °C (i).

Todas as amostras de leite em pó apresentaram médias semelhantes para a granulometria do pó, com valores entre 2,0 e 3,2; indicando que os pós apresentaram partículas mais finas, concordando com os resultados obtidos para a distribuição do tamanho das partículas das amostras de leite em pó (Tabela 10). Não foram observados efeitos significativos ($P > 0,05$) dos períodos de armazenamento do leite *in natura* e do leite em pó sobre a granulometria dos pós (Tabela 12), reforçando o fato desta característica ser determinada pelos parâmetros de desidratação do leite e pelas características do equipamento de secagem.

A coloração das amostras de leite reconstituído a 12% apresentaram médias entre 1,3 e 2,8, sendo o maior valor encontrado no leite em pó recém-produzido a partir de leite *in natura* armazenado por apenas 1 dia (Figura 21). Não foi observado efeito do período de armazenamento do leite *in natura* sobre a cor do leite reconstituído (Tabela 12), entretanto houve efeito linear ($P < 0,001$) do período de armazenamento do leite em pó sobre a cor do leite reconstituído, representado pela equação $y = -0,31x + 2,95$ ($R^2 = 0,86$), na qual pode-se observar que quanto maior o período de armazenamento do leite em pó, menor foi a coloração amarela visualizada pelos provadores treinados. Não foi encontrada correlação significativa ($P = 0,3558$) entre as médias das notas obtidas para cor do leite reconstituído na análise sensorial descritiva (Figura 21) e as médias do componente b^* (Tabela 10).

Tabela 12 – Valores de P dos efeitos do período de armazenamento do leite de cabra *in natura* e do leite de cabra em pó sobre as características sensoriais do leite de cabra em pó e do leite reconstituído (LR).

	P valor		
	Armazenamento do leite <i>in natura</i> (A)	Armazenamento do leite em pó (B)	Interação A X B
Cor (pó)	0,0062*	0,4415	0,4511
Granulometria (pó)	0,3440	0,1704	0,4463
Cor (LR)	0,3244	< 0,0001*	0,4569
<i>Odor (LR)</i>			
Doce	0,8341	0,6985	0,9071
Cozido	0,6463	0,6929	0,8629
Cáprico	0,6560	< 0,0001*	0,9894
<i>Sabor</i>			
Doce	0,4596	0,7340	0,9862
Cozido	0,9637	0,9250	0,9987
Cáprico	0,2298	0,1632	0,8377
Rançoso	0,1496	< 0,0001*	0,9304
Amargo	< 0,001*	0,1017	0,1595

* Significativo.

O odor doce do leite reconstituído apresentou notas que variaram entre 3,2 a 4,6 (Figura 22). Não foram observados efeitos significativos ($P > 0,05$) dos períodos de armazenamento do leite *in natura* e do leite em pó no odor doce do leite reconstituído (Tabela 12).

O odor de leite cozido das amostras de leite reconstituído também não sofreu efeito dos períodos de armazenamento do leite *in natura* e do leite em pó ($P > 0,05$), conforme pode ser observado na Tabela 12. As notas médias obtidas para este atributo variaram de 1,7 a 2,9, sendo o maior valor obtido aos 180 dias de armazenamento do leite em pó produzido com leite *in natura* armazenado por 1 dia (Figura 22).

Já em relação ao odor cáprico do leite reconstituído, foi observado efeito linear ($P < 0,0001$) do período de armazenamento do leite em pó (Tabela 12), obedecendo a equação $y = 0,75x + 0,98$ ($R^2 = 0,95$). Quanto maior o período de armazenamento do leite em pó, maior foram as médias das notas para este atributo. Também foram observadas correlações positivas significativas entre a intensidade do odor cáprico do leite reconstituído e as quantidades individuais dos AGL caprílico (C8:0) e cáprico (C10:0) do leite em pó ($P = 0,0018$ e $P = 0,0001$, respectivamente), apresentando coeficientes de correlação (r) de 0,79 e 0,89, respectivamente. Entretanto não houve correlação significativa ($P = 0,9891$)

entre o aumento do odor cáprico do leite reconstituído e as quantidades do ácido capróico (C6:0) do leite em pó.

Figura 22 – Perfil e intensidade de características de odor de amostras (A_i-j) de leite de cabra em pó durante o armazenamento por até 180 dias (j) a 25 °C em função do período de armazenamento do leite de cabra *in natura* a 4 °C (i).

Os sabores mais evidenciados com intensos pelos provadores foram o doce e o cáprico (Figura 23). As médias obtidas para sabor doce variaram entre 3,1 e 4,1, sendo o maior valor observado na amostra reconstituída do pó aos 120 dias de armazenamento e produzido a partir de leite *in natura* armazenado por 1 dia. Entretanto, não foram observados quaisquer efeitos significativos ($P > 0,05$) dos períodos de armazenamento do leite *in natura* e do leite em pó sobre este atributo (Tabela 12).

O sabor de leite cozido das amostras de leite reconstituído praticamente não apresentou variações, com valores entre 2,2 e 2,8, podendo ser considerado como pouco intenso, com médias das notas semelhantes às médias obtidas para o odor de leite cozido (Figura 22). Da mesma forma, não foram observados efeitos ($P > 0,05$) dos períodos de armazenamento do leite *in natura* e do leite em pó sobre o sabor de leite cozido dos leites reconstituídos. Geralmente, os responsáveis pelo odor e sabor cozidos do leite em pó e do leite reconstituído são os compostos provenientes das Reações de Maillard.

As médias obtidas para o sabor cáprico do leite reconstituído variaram de 2,7 a 4,3, sendo o maior valor encontrado para o leite armazenado por 120 dias e produzido a partir de leite *in natura* armazenado por 5 dias (Figura 23). Entretanto, não foram observados efeitos significativos ($P > 0,05$) dos períodos de armazenamento do leite *in natura* e do leite em pó

sobre a intensidade do sabor cáprico nos leites reconstituídos (Tabela 12). Uma possível explicação para a não observação de efeitos dos períodos de armazenamento tanto do leite *in natura* quanto do leite em pó seria o fato do leite não ser instantâneo, e por isso, ter sido reconstituído a temperatura de 50 °C, pode ter eliminado os ácidos graxos de cadeia curta das amostras por evaporação, já que estes AG possuem alta volatilidade em temperaturas superiores a 25 °C. Somado a isso, os provadores realizaram as análises de odor anteriormente às de sabor, o que pode indicar que o tempo entre uma análise e outra possa ter contribuído para a volatilização dos AGL de cadeia curta. Apesar disso, foram observadas correlações positivas significativas entre a intensidade do sabor cáprico do leite reconstituído e as quantidades individuais dos AGL caprílico (C8:0) e cáprico (C10:0) do leite em pó ($P = 0,0007$ e $P = 0,0152$, respectivamente), apresentando coeficientes de correlação (r) de 0,83 e 0,67, respectivamente. Entretanto não houve correlação significativa ($P = 0,5072$) entre o aumento do odor cáprico do leite reconstituído e as quantidades do ácido capróico (C6:0) do leite em pó.

Figura 23 – Perfil e intensidade de características de sabor de amostras (A_i-j) de leite de cabra em pó durante o armazenamento por até 180 dias (j) a 25 °C em função do período de armazenamento do leite de cabra *in natura* a 4 °C (i).

Comparando-se as médias dos resultados obtidos para o sabor rançoso dos leites reconstituídos (Figura 23), pode-se observar que este atributo apresentou pouquíssima intensidade (quase inexistente), já que a maior média obtida foi 1,5, numa escala variando de 0 a 10. Este maior valor foi observado no leite obtido de leite *in natura* armazenado por 5 dias e posteriormente armazenado por 180 dias, fato este que coincide com as maiores quantidades de AGL totais (Tabela 9; Figura 19) nas amostras de leite em pó. Não foi

observado efeito do período de armazenamento do leite *in natura* sobre a intensidade do sabor rançoso do leite reconstituído (Tabela 12), entretanto houve efeito linear ($P < 0,001$) do período de armazenamento do leite em pó sobre este atributo, representado pela equação $y = 0,27x + 0,12$ ($R^2 = 0,89$), na qual pode-se observar que quanto maior o período de armazenamento do leite em pó, maior foi a intensidade do sabor rançoso detectado pelos provadores treinados.

Chen, Daniel e Coolbear (2003) citam que o limiar para detecção do sabor rançoso em leite seja de aproximadamente 55 mg de AGL de cadeias curtas e médias/L de leite. No presente estudo, o leite reconstituído com maior concentração de AGL de cadeias C6 a C12 apresentou 19,3 mg/L, valor bem abaixo do limiar considerado, o que pode explicar a intensidade quase inexistente de sabor rançoso no leite reconstituído.

Apesar de o sabor rançoso ter apresentado intensidade quase inexistente, foram observadas correlações positivas significativas entre a intensidade do sabor rançoso do leite reconstituído e as quantidades individuais dos AGL caprílico (C8:0) e cáprico (C10:0) do leite em pó ($P = 0,0098$ e $P = 0,0014$, respectivamente), apresentando coeficientes de correlação (r) de 0,70 e 0,81, respectivamente. Entretanto, não houve correlação significativa ($P = 0,4465$) entre o aumento do odor cáprico do leite reconstituído e as quantidades do ácido capróico (C6:0) do leite em pó. Também foi observada correlação positiva significativa ($P = 0,0003$; $r = 0,86$) entre a intensidade do sabor rançoso do leite reconstituído e os valores de índice de peróxido (Figura 19), mostrando que a oxidação do leite em pó também contribui para formação de compostos responsáveis pelo sabor rançoso no leite.

Com relação ao parâmetro sabor amargo, foi observado efeito linear ($P < 0,0001$) do período de armazenamento do leite *in natura* sobre a intensidade deste atributo (Tabela 12), obedecendo a equação $y = 0,25x - 0,05$ ($R^2 = 0,89$). O armazenamento do leite *in natura* por 1 dia propiciou menor intensidade de sabor amargo nas amostras de leite reconstituído quando comparado às amostras obtidas de leite *in natura* armazenados por 3 e 5 dias. Entretanto, não foi observado efeito do período de armazenamento do leite em pó ($P > 0,05$) sobre a intensidade do sabor amargo das amostras de leite reconstituído. Mesmo considerando o efeito do período de armazenamento do leite *in natura*, pode-se considerar de pouquíssima intensidade o sabor amargo nas amostras de leite reconstituído, já que as médias alcançaram o valor máximo de 1,0 numa escala variando de 0 (sabor amargo inexistente) a 10 (sabor amargo forte), conforme pode ser visto na Figura 23. A intensidade quase inexistente do sabor amargo nas amostras de leite reconstituído pode ser explicada pelo fato de não haver sido detectada alterações significativas na relação caseína/proteína verdadeira e nos perfis de caseínas tanto do leite *in natura* (Figura 10 e Figura 12, respectivamente) quanto do leite em pó (Figura 15 e Figura 16, respectivamente), que não

indicaram a ocorrência de atividade proteolítica nas amostras de leite em pó durante o armazenamento.

As médias obtidas para cada atributo sensorial das amostras de leite em pó e leite reconstituído encontram-se no Apêndice D.

6. CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos no presente trabalho, conclui-se que:

- O armazenamento do leite de cabra *in natura* pelo período estudado aumentou as populações de micro-organismos mesófilos, psicrotróficos proteolíticos e psicrotróficos lipolíticos no leite *in natura*;
- O aumento das populações destes grupos de micro-organismos no leite *in natura* teve alta correlação negativa com a relação caseína/proteína verdadeira e alta correlação positiva com o aumento da quantidade de ácidos graxos livres, indicando, respectivamente, o aumento das atividades proteolítica e lipolítica durante o armazenamento;
- Os tratamentos térmicos utilizados durante o processamento de leite em pó foram eficientes na destruição de micro-organismos psicrotróficos proteolíticos e lipolíticos;
- Os períodos de armazenamento do leite *in natura* e do leite em pó não tiveram efeito sobre a atividade proteolítica durante o armazenamento do leite em pó;
- Apesar da destruição dos micro-organismos, a atividade lipolítica continuou aumentando durante o armazenamento do leite em pó, comprovando a termo-resistência das lipases microbianas produzidas durante o armazenamento do leite *in natura*;
- O período de armazenamento do leite de cabra *in natura* por 3 e 5 dias influencia negativamente a qualidade do leite de cabra em pó ao aumentar significativamente as quantidades de AGL de cadeia curta;
- O armazenamento do leite de cabra em pó por até 180 dias, mesmo quando obtido a partir de leite *in natura* armazenado por até 5 dias, não altera a intensidade dos odores doce e cozido, bem como dos sabores doce, cozido e cáprico;
- O período de armazenamento do leite *in natura* teve influência na intensidade de características sensoriais durante o armazenamento do leite em pó por até 180 dias, como a redução da intensidade amarela do leite em pó e aumento da intensidade do sabor amargo.
- Considerando-se a avaliação global das variáveis estudadas e as condições de processamento do leite em pó no presente estudo, recomenda-se que o período de armazenamento a 4 °C do leite de cabra *in natura* não ultrapasse 3 dias, para que ocorra a preservação da qualidade do leite de cabra em pó por até 180 dias.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALFENAS, R.C.G. **Efeito da temperatura de crescimento e determinação dos parâmetros de resistência ao calor de psicrótrópicos acidificantes isolados do leite.** 1994, 55f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1994.

ALVES, R.M.V. et al. Influência das propriedades de barreira de embalagens flexíveis na estabilidade de leite em pó integral. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 11, p. 46-53, 2008.

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION – APHA **Compendium of Methods for the Microbiological examination of Foods.** 4. ed. Washington, DC: American Public Health Association, 2001, 676p.

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION – APHA **Standard Methods for the Examination of Dairy Products.** 16. ed. Washington, DC: American Public Health Association, 1992, 345p.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official Methods of Analysis.** 16. ed. Arlington, VA: Association of Official Analytical Chemists, 1995.

AURAND, L. W.; BOONE, N. H.; GIDDINGS, G. G. Superoxide and singlet oxygen in milk lipid peroxidation. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 60, p. 363-369, 1976.

BADINGS, H. T.; NEETER, R. Recent advances in the study of aroma compounds of milk and dairy products. **Netherlands Milk and Dairy Journal**, Amsterdam, v. 34, p. 9-30, 1980.

BALDWIN, A. J.; COOPER, H. R.; PALMER K. C. Effect of preheat treatment and storage on the properties of whole milk powder: changes in sensory properties. **Netherlands Milk and Dairy Journal**, Amsterdam, v. 45, p. 97–116, 1991.

BENEDET, H.D.; CARVALHO, M.W. Caracterização de leite de cabra no Estado de Santa Catarina, Brasil. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 16, n. 2, p. 116-119, 1996.

BILLON, P., Milking management. In: Roginski, H., Fuquay, J.W., Fox, P.F. **Encyclopedia of Dairy Sciences**. Cornwall: Academic Press, p. 1243–1253, 2003.

BLIGH, E.G.; DYER, W.J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**, Ottawa, v. 37, n. 8, p. 911-917, 1959.

BOBE, G. et al. Separation and quantification of bovine milk proteins by reversed-phase high performance liquid chromatography. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, Washington, v.46, n. 2, p.458-463, 1998.

BOYAZOGLU, J.; MORAND-FEHR, P. Mediterranean dairy sheep and goat products and their quality: a critical review. **Small Ruminant Research**, Amsterdam, v. 40, p. 1–11, 2001.

BRASIL, L.H.A. et al. Efeitos do estresse térmico sobre a produção, composição química do leite e respostas termorreguladoras de cabras da raça alpina. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 29, n. 6, p. 1632-1641, 2000.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. Resolução RDC nº 12 de 2 de janeiro de 2001. **Diário Oficial da União**, Brasília, 10 de janeiro de 2001.

_____. Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Regulamento Técnico de produção, identidade e qualidade do leite em pó. Portaria nº 369 de 4 de setembro de 1997. **Diário Oficial da União**, Brasília, 8 de setembro de 1997.

_____. Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Regulamento Técnico de produção, identidade e qualidade do leite de cabra. Instrução Normativa nº 37 de 31 de outubro de 2000. **Diário Oficial da União**, Brasília, 8 de novembro de 2000.

_____. Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Métodos analíticos oficiais físico-químicos para controle de leite e produtos lácteos. Instrução Normativa nº 68 de 12 de dezembro de 2006. **Diário Oficial da União**, Brasília, 14 de dezembro de 2006.

BRUM, A.A.S. **Métodos de extração e qualidade da fração lipídica**. 2004. 66f. Dissertação (Mestre em Ciências) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2004.

CALVO, M. M.; de la HOZ, L. Flavour of heated milks: a review. **International Dairy Journal**, Barking, v. 2, p. 69-81, 1992.

CAMPOS, L. R.; TREPTOW, R. O.; SOARES, G. J. D. Influência da inertização com nitrogênio na vida de prateleira de leite em pó integral acondicionado em embalagens metalizadas flexíveis. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 4, n. 2, p. 130-137, 1998.

CARIC, M. **Concentrated and Dried Dairy Products** New York, NY: VCH Publishers, 1994, p. 57-124.

CARUNCHIA-WHETSTINE, M.E. **Flavor chemistry of cheese, milk powder and dried whey proteins**. 2005, 113f. Dissertation (Master in Food Science). University of North Carolina, 2005.

CELESTINO, E. L.; IYER, M.; ROGINSKI, H. The effects of refrigerated storage of raw milk on the quality of whole milk powder stored for different periods. **International Dairy Journal**, Barking, v. 7, n. 2, p. 119–127, 1997.

CHAMPAGNE, C.P. et al. Psychrotrophs in dairy products: their effects and their control. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Boca Raton, v. 34, p. 1-30, 1994.

CHANG, Y. H. et al. PCR assay of the *groEL* gene for detection and differentiation of *Bacillus cereus* group cells. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 69, p. 4502-4510, 2003.

CHEN, L.; DANIEL, R.M.; COOLBEAR, T. Detection and impact of proteinase and lipase activities in milk and milk powders. **International Dairy Journal**, Barking, v. 13, n. 4, p. 255-275, 2003.

CHILLIARD, Y. et al. A review of nutritional and physiological factors affecting goat milk lipid synthesis and lipolysis. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 86, p. 1751-1770, 2003.

CHURCH, N. Developments in modified-atmosphere packaging and related technologies. **Trends in Food Science & Technology**, Cambridge, v. 5, p. 345-352, 1994.

CLARK, S.; SHERBON, J.W. Alphas₁-casein, milk composition and coagulation properties of goat Milk. **Small Ruminant Research**, Amsterdam, v. 38, p. 123-134, 2000.

COUSIN, M.A. Presence and activity of psychrotrophic microorganisms in milk and dairy products. **Journal of Food Protection**, Ames, v. 45, n. 2, p. 172-207, 1982.

CRAVEN, H. M.; MACAULEY, B. J. Microorganisms in pasteurised milk after refrigerated storage 1. Identification of types. **The Australian Journal of Dairy Technology**, Melbourne, v. 47, n. 1, p. 38-45, 1992.

CUNHA, M.F.; BRANDÃO, S.C.C. A coleta a granel pode aumentar os riscos com as bactérias psicrotróficas. **Revista Indústria de Laticínios**, São Paulo, n. 16, p. 71-73, 2000.

DAMODARAN, S. Amino acids, peptides and proteins. In: FENNEMA, O. R. **Food Chemistry**. 3. ed. New York: Marcel Dekker, 1996. p. 321-429.

De BLOCK J.M. et al. Monitoring nutritional quality of milk powders: capillary electrophoresis of the whey protein fraction compared with other methods. **International Dairy Journal**, Barking, v. 13, p. 87-94, 2003.

De JONG, C.; BADINGS, H.T. Determination of free fatty acids in milk and cheese: procedures of extraction, clean-up and capillary gas chromatographic analysis. **Journal of High Resolution Chromatography**, Weinheim, v. 13, p. 94-98, 1990.

DEETH, H.C.; FITZ-GERALD, C.H.; WOOD, A.F. A convenient method for determining the extent of lipolysis in milk. **The Australian Journal of Dairy Technology**, Melbourne, v. 30, p. 109-111, 1975.

DELACROIX-BUCHET, A.; LAMBERET, G. Sensorial properties and typicity of goat dairy products. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON GOATS, 7., 2000, Tours. **Proceedings...** Tours, France, 2000. p. 559-563.

DINIZ, A.C.P. et al. Comportamento da β -ciclodextrina adicionada ao leite de cabra submetido ao processo de desidratação por “spray dryer”. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 25, p. 197-201, 2005.

EARLY, R. **Tecnología de los productos lácteos**. 2 ed. Zaragoza: Editorial Acribia, 2000, 459p.

FAIRBARN, D.J.; LAW, B.A. Proteinases of psychrotrophic bacteria: their products, properties, effects and control. **Journal of Dairy Research**, London, v. 53, p. 177, 1986.

FELLOWS, P.J. **Tecnologia do processamento de alimentos**. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2006, 602p.

FERREIRA, C.L.L.F.; THAMA, S.F.M.S.; NEUMANN, E. Qualidade microbiológica do leite de cabra armazenado a 4°C, tratado termicamente e mantido sob refrigeração por sete dias. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 47, p. 37-40, 1992.

FONSECA, C. R. et al. Qualidade do leite de cabra *in natura* e do produto pasteurizado armazenados por diferentes períodos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 26, p. 944-949, 2006.

FONSECA, C.R. **Armazenamento do leite de cabra cru em diferentes temperaturas por diferentes períodos e influência nas qualidades microbiológica, físico-química e sensorial do produto pasteurizado**. 2006. 87f. Dissertação (Mestre em Ciências) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2006.

FONSECA, C.R. et al. Characterization and sensorial evaluation of goat milk powders added with different levels of β -cyclodextrin. In: CONGRESSO PAN-AMERICANO DO LEITE, 11., 2010, Belo Horizonte. **Proceedings...** Belo Horizonte: Federação Pan-Americana do Leite, 2010.

FONSECA, L.F.L.; SANTOS, M.V. **Qualidade do leite e controle de mastite**. São Paulo: Lemos Editorial, 2000. 175 p.

FRIEDMAN, M. Food browning and its prevention: an overview. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Albany, v. 44, n. 3, p. 631-653, 1996.

GOMES, M.I.F.V. **Alterações na qualidade do leite pasteurizado pela lipase microbiana**. 1988. 85f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1988.

GRIFFITHS, M. W.; PHILLIPS, J. D. Incidence, source and some properties of psychrotrophic *Bacillus* spp found in raw and pasteurized milk. **Journal of the Society of Dairy Technology**, London, v. 43, p. 62–66, 1990.

HOUGH, G. et al. Consumer Acceptability Versus Trained Sensory Panel Scores of Powdered Milk Shelf-Life Defects. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 85, p. 2075–2080, 2002.

ILARI, J.L.; MEKKAOU, L. Physical properties of constitutive size classes of spray-dried skim milk powder and their mixtures. **Lait**, Le Ulis, v. 85, p. 279-294, 2005.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz**. 3. ed., São Paulo: IAL, 1985.

JAUBERT, G.; KALANTZOPOULOS, G. 1996. Quality of goat milk for cheese and other products. **6th International Conference on Goats. Proceedings**. Beijing, China, p.274-281, 1996.

JENNESS, R. Composition and characteristics of goat milk: review. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 63, p. 1605-1630, 1980.

KLINGER, I.; ROSENTHAL, I.,.Public health and the safety of milk and milk products from sheep and goats. **Revue Scientifique e Technique**, Paris, v. 16, p. 482-488, 1997.

KONDYLI, E.; KATSIARI, M.C. Fatty acid composition of raw caprine milk of a native Greek breed during lactation. **International Journal of Dairy Technology**, Huntingdon, v. 55, p. 56-60, 2002.

LA GRANGE, W. S.; HAMMOND, E. G. The shelf life of dairy products. In: CHARALAMBOUS, G. **Shelf life studies of foods and beverages**. Amsterdam: Elsevier, 1993. p. 1-20.

LAI, H.M.; SCHMIDT, S.J. Lactose Crystallization in Skim Milk Powder Observed by Hydrodynamic Equilibria, Scanning Electron Microscopy and ^2H Nuclear Magnetic Resonance. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 55, p. 994-999, 1990.

LAMBERET, G. et al. Influence de caractères liés aux allèles A et F de la caséine $\alpha\text{s}1$ caprine sur la flaveur chèvre: fabrications fromagères avec échange de protéines e matière grasse. **Lait**, Le Ulis, v. 76, p. 349-361, 1996.

LEE, Y. B.; MORR, C. V. Changes in the headspace volatile compounds due to oxidation of milk fat during storage of dried dairy products. In: HO, C.; HARTMAN, G., **Lipids in Food Flavors**. Eds. ACS Symposium series 558. American Chemical Society. 1994.

LLOYD M.A.; HESS, S.J.; DRAKE, M.A. Effect of nitrogen flushing and storage temperature on flavor and shelf-life of whole milk powder. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 92. p. 2409-2422, 2009.

LUIZ, M.T.B. et al. Leite de cabra: hipoalergenicidade, composição química e aspectos nutricionais. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v.54, p. 23-31, 1999.

MACHADO, E.S.V. **Flora dominante do leite cru e pasteurizado**. 1975, 39f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1975.

MASTERS, K. **Spray Drying**: Chemical and Process Engineering Series, 2 ed. New York: John Wiley & Sons, 1976.

MATTA, H.; PUNJ, V. Isolation and identification of lipolytic, psychrotrophic, spore forming bacteria from raw milk. **International Journal of Dairy Technology**, London, v. 52, p. 59-62, 1999.

MC CLUSKEY, S. et al. Lipid and cholesterol oxidation in whole milk powder during processing and storage. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 62, p. 331–337, 1997.

McKENNA, A. B. et al. Microstructure of whole milk powder and of insoluble detected by powder functional testing. **Scanning**, Mahwah, v. 21, p. 305-315, 1999.

MEILGAARD, M.; VANCE, G.; CIVILLE, B.T.C. **Sensory evaluation techniques**. 3.ed. Boca Raton: CRC Press, 1999. 387p.

MENS, P. L.. Propiedades físico-químicas, nutricionales y químicas. In: LUQUET, F.M. **Leche y productos lácteos: vaca-oveja-cabra**. Zaragoza: Acribia, 1991. v. 1. p. 343-360.

MOATSOU, G. et al. Comparative study of the protein fraction of goat milk from the Indigenous Greek breed and from international breeds. **Food Chemistry**, London, v. 106, p. 509-520, 2008.

MOATSOU, G. et al. Protein composition and polymorphism in the milk of Skopelos goats. **Lait**, Le Ullis, v. 86, p. 345-357, 2006.

MOURA, C.J. **Efeito do resfriamento do leite sobre o rendimento e lipólise do queijo tipo parmesão**. 1997. 77f. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 1997.

NIELSEN, B.R.; STAPELFELDT, H.; SKIBSTED, L.H. Differentiation between 15 whole milk powders in relation to oxidative stability during accelerated storage: analysis of variance and canonical variable analysis. **International Dairy Journal**, Barking, v. 7, p. 589-599, 1997.

NIJDAM, J. J.; LANGRISH, T. A. J. The effect of surface composition on the functional properties of milk powders. **Journal of Food Engineering**, Essex, v. 77, n. 4, p. 919-925, 2006.

PÁEZ, R. et al. Changes in free fatty acid composition during storage of whole milk powder. **International Journal of Dairy Technology**, London, v. 59, p. 236-241, 2006.

PANDYA, A.J.; GODHKE, K.M. Goat and sheep products other than cheeses and yoghurt. **Small Ruminant Research**, Amsterdam, v. 68, p. 193-206, 2007.

PARK, Y.W. Proteolysis and lipolysis of goat milk cheese. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 84 p. 84-92, 2001.

PEREIRA, R.N.; MARTINS, R.C.; VICENTE, A.A. Goat milk free fatty acid characterization during conventional and ohmic heating pasteurization. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 91, p. 2925-2937, 2008.

POIATTI, M.L. **Avaliação da qualidade microbiológica e físico-química de leite cru, pasteurizado e congelado de cabra**. 2001, 61f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Faculdade de Ciências Agronômicas e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Jaboticabal, 2001.

PRATA, L.F. et al. Composição, perfil nitrogenado e características do leite caprino (saanen). região sudeste, Brasil. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 18, n. 4, p. 428-432, 1998.

PRIEST, F. G. Extracellular enzyme synthesis in the genus *Bacillus*. **Bacteriological Reviews**, Baltimore, v. 41, p. 711–753, 1977.

REMEUF, F.; LENOIR, J. Relationship between the physicochemical characteristics of goat's milk and its rennetability. **Bulletin of International Dairy Federation nº 202**, Brussels, p. 68-71, 1986.

RENNER, E. Storage stability and some nutritional aspects of milk powders and ultra high temperature products at high ambient temperatures. **Journal of Dairy Research**, London, v. 55, p. 125–142, 1988.

SARANTÓPOULOS, C. I. G. L. et al. **Embalagens plásticas flexíveis: principais polímeros e avaliação de propriedades**. Campinas: CETEA/ITAL, 2002. 267 p.

SAS Institute. **User's guide for SAS software navigator**. 9. ed. Cary: SAS Institute, 2002. 584p.

SCHUCK, P. Spray drying of dairy products: state of the art. **Lait**, Le Ulis, v. 82, p. 375-382, 2002.

SHAIJI, F. Stability of fats and oils. In: LATIN AMERICAN CONGRESS AND EXHIBIT ON FATS AND OILS PROCESSING, 6., 1995, Campinas. **Proceedings...** Campinas: Sociedade Brasileira de Óleos e Gorduras, 1995.

SILVA, M.H. **Efeito do resfriamento e estocagem sobre alguns grupos de microorganismos e propriedades físico-químicas do leite.** 1991, 104f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1991.

SINGH; H.; NEWSTEAD, D.F. Aspects of protein in milk powder manufacture. In: **Advanced dairy chemistry**. London: Elsevier, 1992. p. 735-765.

STADHOUDERS, J.; HUP, G.; HASSING, F. The conceptions index and indicator organisms discussed on the basis of the bacteriology of spray-dried milk powder. **Netherlands Milk and Dairy Journal**, Amsterdam, v. 36, p. 231–260, 1982.

STAPELFELDT, H.; NIELSEN, B. R.; SKIBSTED, L. H. Effect of heat treatment, water activity and storage temperature on the oxidative stability of whole milk powder. **International Dairy Journal**, Barking, v. 7, p. 331–339, 1997.

STONE, H.J. et al. Sensory evaluation by quantitative descriptive analysis. **Food Technology**, Chicago, v. 28, p. 24-34, 1974.

THOMAS, M. E. C. et al. Milk powders geing: effect on physical and functional properties. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Boca Raton, v., 44, p. 297-322, 2004.

THOMSEN, M.K. et al. Two types of radicals in whole milk powder, effect of lactose crystallization, lipid oxidation and browning reactions. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 53, p. 1805-1811, 2005.

TOKLEY, R. P. Milk powder. In: **Technical guide for the packaging of milk and milk products**. 3.ed. Brussels: IDF – International Dairy Federation, 1995. p. 110-112.

TWOMEY, M. et al. Effect of milk composition on selected properties of spray dried high-fat and skim-milk powders. **Irish Journal of Agricultural Food Research**, Dublin, v. 39, p. 79–94, 2000.

TZIBOULA-CLARKE, A. Goat milk. In: ROGINSKI, H., FUQUAY, J.W., FOX, P.F. **Encyclopedia of Dairy Sciences**. Cornwall: Academic Press, p. 1270-1279, 2003.

VARNAM, A.H.; SUTHERLAND, J.P. **Leches y productos lácteos**. Zaragoza: Acribia, 1994. 476p.

WALSTRA, P. et al. **Ciência de la leche y tecnología de los productos lácteos**. 6.ed. Zaragoza: Acribia, 2001. 730p.

WEICKBACH, L.S.; LANGLOIS, B.E. Effect of heat treatments on survival and growth of psychrotrophic and nitrogen fractions in milk. **Journal of Food Protection**, Des Moines, v. 40, p. 857-862, 1977.

YAN, H.; BARBOSA-CÁNOVAS, G.V. Size characterization of selected food powders by five particle size distribution functions. **Food Science and Technology International**, London, v. 3, p. 361-369, 1997.

YE, A.; ANEMA, S.G.; SINGH, H. Behaviour of homogenized fat globules during the spray drying of whole milk. **International Dairy Journal**, Barking, v. 17, p. 374-382, 2007.

YETISMEYEN, A.; DEVECI, O. Some quality characteristics of spray dried skim milk powders produced by two different atomizers. **Milchwissenschaft**, Munchen, v. 55, p. 210-212, 2000.

ZALL, R.R.; CHAN, J.H. Heating and storing milk on dairy farms before pasteurization in milk plants. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 64, p. 1540-1544, 1981.

8. APÊNDICES

Os apêndices a seguir apresentam as médias dos resultados das análises de frações individuais de caseínas das amostras de leite em pó, quantidades individuais de ácidos graxos livres das amostras de leite em pó, distribuição do diâmetro de partículas de leite em pó e intensidade dos atributos sensoriais das amostras de leite em pó.

Apêndice A – Médias das frações individuais de caseínas (g/100g de pó) de amostras (A/*i*) de leite de cabra em pó durante o armazenamento por até 180 dias (*j*) a 25 °C em função do período de armazenamento do leite de cabra *in natura* a 4 °C (*i*).

Amostra	α -caseína	β -caseína	κ -caseína
A1-0	4,9	7,5	4,7
A3-0	5,6	8,1	5,4
A5-0	5,1	9,0	6,9
A1-60	6,2	7,0	4,7
A3-60	5,4	7,6	4,8
A5-60	4,7	6,7	4,3
A1-120	5,6	7,7	4,7
A3-120	4,9	7,1	4,7
A5-120	4,8	7,4	5,3
A1-180	5,5	8,9	5,5
A3-180	5,7	8,1	5,5
A5-180	6,3	9,7	5,9

Apêndice B – Médias de AGL (mg/100g de leite em pó) de amostras (A*i-j*) de leite de cabra em pó durante o armazenamento por até 180 dias (*j*) a 25 °C em função do período de armazenamento do leite de cabra *in natura* a 4 °C (*i*).

Amostra	capróico	caprílico	cáprico	láurico	mirístico	palmitico	esteárico
A1-0	2,86	1,60	1,20	6,24	2,81	16,5	15,3
A3-0	2,94	1,28	1,25	5,35	2,64	16,4	15,1
A5-0	2,45	2,13	1,26	5,47	3,15	14,8	15,6
A1-60	2,10	1,65	1,22	7,06	2,75	15,9	14,9
A3-60	2,15	1,33	1,38	6,36	3,26	16,3	13,9
A5-60	2,59	1,95	1,32	5,11	3,40	16,4	14,6
A1-120	2,57	1,96	1,38	8,76	2,58	17,0	15,2
A3-120	2,12	2,57	1,71	6,56	3,14	14,2	15,8
A5-120	2,93	2,71	1,52	7,34	3,49	15,3	14,1
A1-180	2,34	2,23	1,51	10,03	2,79	15,0	12,6
A3-180	2,44	2,41	1,83	8,73	3,36	15,7	17,3
A5-180	2,70	3,21	1,72	8,23	4,22	14,6	15,8

Apêndice C – Distribuição granulométrica de partículas de amostras (A_i-j) de leite de cabra em pó durante o armazenamento por até 180 dias (j) a 25 °C em função do período de armazenamento do leite de cabra *in natura* a 4 °C (i).

d (µm)	Distribuição granulométrica (%)											
	A1-0	A3-0	A5-0	A1-60	A3-60	A5-60	A1-120	A3-120	A5-120	A1-180	A3-180	A5-180
1	0,11	0,12	0,30	0,48	0,24	0,52	0,14	0,29	0,29	0,48	0,18	0,24
2	0,17	0,27	0,22	0,32	0,17	0,39	0,07	0,25	0,41	0,43	0,33	0,41
3	1,11	0,66	0,90	0,87	0,60	1,16	0,49	0,68	1,26	1,16	1,13	1,41
4	2,07	1,10	1,80	1,33	1,10	1,91	1,38	1,23	1,82	2,36	1,91	2,38
5	3,34	2,01	2,68	1,98	2,06	2,77	2,24	2,02	2,91	3,41	3,18	3,39
6	4,21	2,77	3,27	2,50	2,69	3,46	2,74	2,56	3,56	4,22	4,16	4,08
7	4,89	3,21	3,77	2,99	3,17	3,85	3,24	2,97	4,08	5,02	4,79	4,39
8	5,91	3,85	4,54	3,75	3,89	4,42	3,99	3,64	4,91	6,13	5,70	4,95
9	7,62	5,25	5,77	5,22	5,19	5,56	4,97	4,97	6,34	7,46	7,37	6,33
11	8,76	6,16	6,42	6,19	5,93	6,18	5,57	5,79	7,10	8,13	8,26	7,24
12	8,60	5,67	5,66	5,66	5,16	5,46	5,27	5,21	6,25	7,46	7,26	6,89
14	8,85	6,16	6,00	6,42	5,64	5,85	5,68	5,63	6,41	7,41	7,24	7,27
17	9,30	7,34	7,13	8,07	7,03	7,02	6,60	6,75	7,28	7,75	7,86	8,15
19	9,04	8,16	7,63	8,78	8,19	7,74	7,25	7,65	7,86	7,52	8,07	8,48
22	8,23	8,62	7,78	8,92	8,98	8,08	7,63	8,30	8,09	6,91	7,88	8,29
26	6,67	8,49	7,53	8,33	8,99	7,74	7,53	8,40	7,56	5,72	6,90	7,23
30	4,93	7,76	6,85	7,32	8,29	6,96	7,05	7,99	6,60	4,55	5,65	5,92
34	2,93	6,29	5,65	5,84	6,76	5,70	6,08	7,00	5,13	3,42	4,05	4,32
40	1,61	4,84	4,37	4,46	5,26	4,35	5,22	5,76	3,76	2,59	2,84	3,06
46	0,84	3,42	3,12	3,20	3,79	3,03	4,45	4,37	2,52	2,01	1,94	2,05
53	0,50	2,58	2,50	2,61	2,86	2,39	3,71	3,33	1,98	1,54	1,43	1,53
62	0,25	2,04	1,96	2,32	2,21	1,94	3,06	2,51	1,56	1,23	0,53	0,87
71	0,16	1,51	1,79	1,48	1,24	1,52	2,43	1,72	1,16	0,99	0,65	0,50
82	0,00	1,02	1,35	0,86	0,56	1,07	1,77	0,81	0,76	0,86	0,48	0,23
90	0,00	0,35	0,57	0,17	0,00	0,41	0,71	0,14	0,26	0,48	0,15	0,15
92	0,00	0,06	0,10	0,01	0,00	0,08	0,13	0,02	0,05	0,11	0,03	0,03
93	0,00	0,03	0,05	0,00	0,00	0,04	0,06	0,01	0,02	0,05	0,01	0,02
95	0,00	0,05	0,08	0,00	0,00	0,07	0,11	0,01	0,03	0,10	0,02	0,03
97	0,00	0,04	0,06	0,00	0,00	0,06	0,10	0,01	0,02	0,10	0,01	0,02
100	0,00	0,05	0,06	0,00	0,00	0,08	0,12	0,01	0,02	0,13	0,01	0,03
102	0,00	0,03	0,03	0,00	0,00	0,05	0,07	0,00	0,01	0,08	0,00	0,00
105	0,00	0,03	0,03	0,00	0,00	0,06	0,08	0,00	0,00	0,10	0,00	0,00
110	0,00	0,03	0,02	0,00	0,00	0,07	0,09	0,00	0,00	0,13	0,05	0,00
120	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

d = diâmetro.

Apêndice D – Médias dos resultados obtidos na análise sensorial de amostras (Ai-j) de leite de cabra em pó durante o armazenamento por até 180 dias (j) a 25 °C em função do período de armazenamento do leite de cabra *in natura* a 4 °C (i).

Amostra	Aparência			Odor			Sabor				
	Cor (pó)	Granulometria (pó)	Cor (LR)	doce	cozido	cáprico	doce	cozido	cáprico	rançoso	amargo
A1-0	2,16	2,75	2,88	3,32	1,79	1,68	4,03	2,58	2,77	0,22	0,25
A3-0	2,15	2,96	2,60	3,42	1,99	2,03	3,38	2,29	2,97	0,33	0,31
A5-0	1,82	3,04	2,34	3,71	2,65	1,71	3,78	2,46	2,99	0,34	0,40
A1-60	2,66	2,31	2,26	3,54	2,75	2,15	3,59	2,56	2,93	0,67	0,28
A3-60	1,80	3,29	2,35	3,50	2,39	2,23	3,42	2,75	3,23	0,95	0,27
A5-60	1,53	2,74	2,07	3,30	2,61	2,43	3,36	2,52	3,22	0,92	0,80
A1-120	2,22	2,63	2,26	4,13	2,34	3,46	4,13	2,83	2,90	0,77	0,20
A3-120	2,56	2,06	2,36	3,58	2,24	3,4	3,30	2,63	3,53	1,01	0,37
A5-120	1,69	2,26	2,08	3,23	2,58	3,64	3,62	2,54	4,33	0,93	1,00
A1-180	2,59	2,63	1,45	4,61	2,93	3,42	3,37	2,40	3,34	0,90	0,21
A3-180	2,64	2,96	1,34	3,40	2,35	4,00	3,41	2,37	3,42	1,12	0,52
A5-180	2,01	2,99	1,86	3,41	2,16	4,17	3,18	2,43	4,56	1,52	1,08

LR = leite reconstituído.