



UNIVERSIDADE EDUARDO MONDLANE

FACULDADE DE CIÊNCIAS

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA

ESTÁGIO LABORAL

**Estudo da dependência da qualidade do leite condensado Coroa Azul produzido pela
Fábrica Protal-Produtos Alimentares com o tempo e a temperatura de
Conservação**



Autor: Zacarias António Zucula

Maputo, Junho de 2012



UNIVERSIDADE EDUARDO MONDLANE

FACULDADE DE CIÊNCIAS

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA

ESTÁGIO LABORAL

**Estudo da dependência da qualidade do leite condensado Coroa Azul produzido pela
Fábrica Protal-Produtos Alimentares com o tempo e a temperatura de
Conservação**



Autor: Zacarias António Zucula

Supervisora: Prof. Doutora Tatiana Kuleshova

Co-Supervisor: Eng^o. Edson Tito

Maputo, Junho de 2012

Dedicatória

Dedico este trabalho á toda família Zucula, em especial à minha mãe e meus irmãos pela força, compreensão e presença irrestrita em todos os momentos da minha vida e aos falecidos, meu pai Mutumbane António Zucula e meu irmão Armando Zucula pelo exemplo de vida; que Deus os tenha.

Agradecimentos

Sendo agradecer um gesto de reconhecimento por tudo e a todos que ajudam a ultrapassar todas as barreiras desta vida tão complexa, agradeço:

A Deus pelo dom de vida e saúde durante a carreira académica.

À minha supervisora Prof. Doutora Tatiana Kuleshova pela paciência e dedicação em todos os momentos de elaboração do presente trabalho.

Ao meu co-Supervisor Eng^o. Edson Tito pela confiança depositada e privilégio de realizar experiências na fábrica e pela disponibilidade dispensada para correcções do trabalho.

Quero igualmente agradecer a Prof. Dr^a. Fung Dai Kin pela paciência na revisão e correcção do presente trabalho.

À dr^a. Noor Jean Gulamussene pela orientação dada no tratamento estatístico dos resultados.

A todo o pessoal da Protal-Produtos Alimentares, em especial à representante do laboratório a dona Olívia Sengo pelo acompanhamento, disposição e boa vontade de ensinar durante o estágio, sem me esquecer da dona Maria e sr. Carlos.

A toda a equipa do Departamento de Química da UEM, em especial aos docentes do ramo de Química Física e Inorgânica pela contribuição na minha formação e a todos os funcionários pela tolerância demonstrada durante o processo de aprendizagem.

Aos colegas do curso e amigos: Chissumba, Nhaca, Chipatime, Chitaca pelo companheirismo e troca de impressões durante a aprendizagem.

A todos os que fazem parte da minha vida, em especial minha mãe Carlota Chacha, meus irmãos Julieta, Joaquina e Vicente, meus sobrinhos, minha namorada Zulfa e querida filha Shonila pela força durante a formação.

Declaração Sob Compromisso de Honra

Eu, Zacarias António Zucula, declaro por minha honra, que o presente trabalho é resultado de estágio laboral na fábrica Protal-Produtos Alimentares, complementado por uma investigação teórica e que os factos nele abordados são da minha autoria.

Maputo, Junho de 2012

O autor

(Zacarias António Zucula)

Resumo

O presente relatório é produto de Estágio pré-profissional com a duração de 4 meses na fábrica Protal-Produtos Alimentares e realização de ensaios laboratoriais ligados ao tema em estudo.

O trabalho consistiu no estudo da influência do tempo e temperatura de conservação do leite condensado produzido pela fábrica Protal na variação dos parâmetros físico-químicos, microbiológicos e organolépticos, dado que este se mostra sempre presente na dieta alimentar não só de uma forma directa mas também através dos seus derivados e é um produto que facilmente se pode deteriorar conservado sob condições não adequadas. É com base na determinação dos parâmetros físico-químicos (viscosidade, índice de refração, sólidos totais, gordura e sacarose), microbiológicos (contagem total de bactérias e contagem de *Staphylococcus*) e organolépticos (sabor e aparência) que se define a qualidade do leite. Foram escolhidas amostras de uma forma aleatória, com os tempos de 6 e 9 meses, conservadas a 25 e 30⁰C. Os ensaios foram feitos usando os métodos directos, de secagem, de Roesse-Gottlieb e polarimétrico para determinação dos parâmetros físico-químicos, contagem total de bactérias e contagem de *Staphylococcus* nas placas de petri para a parte microbiológica e usando o sabor e aparência para a parte organoléptica. Todos os métodos usados para este trabalho foram fornecidos pela fábrica.

Obtidos os dados experimentais, foi possível a análise dos factores tempo e temperatura de conservação com ajuda do teste-t de comparação de uma média experimental com um valor conhecido e o teste de ANOVA unimodal para avaliar o nível de contribuição dos factores temperatura e/ou tempo de conservação para a variação dos parâmetros físico-químicos. Todos os testes foram feitos ao nível de confiança de 95%.

Todas as análises foram realizadas com sucesso apesar de alguns resultados terem fugido um pouco em relação aos esperados.

ÍNDICE

1.INTRODUÇÃO	1
1.1 Objectivos do trabalho	3
1.1.1 Objectivo geral.....	3
1.1.2 Objectivos específicos.....	3
1.2 Metodologia	4
1.2.1 Justificativa da Escolha do Tema.....	5
2. Parte Teórica	6
2.1 Leite Condensado.....	6
2.1.1 Historial.....	7
2.2 Principais Constituintes do leite.....	7
2.2.1 Proteínas.....	8
2.2.2 Gordura	8
2.2.3 Carbohidratos	9
2.2.4 Sais minerais	10
2.2.5 Vitaminas	10
2.2.5 Pigmentos.....	10
2.3 Microbiologia do leite.....	11
2.3.1 Microrganismos que contaminam o leite	11
2.4 Qualidade do leite	12
2.4.1 Padrões de qualidade do leite.....	13
3. Descrição da fábrica Protal-Produtos Alimentares	14
3.1 Mão-de-obra.....	14
3.2 Processamento de leite condensado	15
3.2.1 Preparação da linha de processamento.....	16
3.2.2 Matéria-prima	17
3.2.3 Padronização	17
3.2.4 Tratamento Térmico/Pasteurização.....	19
3.2.5 Homogeneização.....	21

3.2.6	Evaporação.....	21
3.2.7	Arrefecimento/Cristalização	22
3.2.8	Enlatamento	23
3.3	Controlo de Qualidade	23
3.3.1	Defeitos/alterações.....	24
	O aquecimento da sacarose produz reacções complexas conhecidas como caramelização.....	25
3.4	Técnicas e métodos de análise usados pela Protal	29
3.4.1	Secagem	30
3.4.2	Método de Roese-Gottlieb	30
3.4.3	Polarimetria.....	30
3.4.4	Método directo	31
3.4.5	Contagem de bactérias	31
4.	Materiais e métodos	32
4.1	Parte Físico-química	33
4.1.1	Determinação de sólidos totais	33
4.1.2	Extracção da gordura	34
4.1.3	Teor de Sacarose	35
4.1.4	Refracção e viscosidade.....	37
4.2	Parte Microbiológica.....	37
4.2.1	Contagem total de Bactérias	37
4.2.2	Contagem de Staphylacocus	38
4.3	Parte Organoléptica.....	38
5.	Análise e Discussão de Resultados	39
5.1	Amostras de 6 meses conservadas a 25 e 30°C.....	39
5.2	Amostras de 9 meses conservadas a 25 e 30°C.....	43
6.	Conclusões e Recomendações	54
6.1	Conclusões	54
6.2	Recomendações.....	55

Índice de Figuras

Figura 1: Estrutura química dos isómeros da lactose (PERRONE, 2006).....	9
Figura 2: Fluxograma de Produção do leite condensado.	15
Figura 3: Pasteurização do Leite.....	19
Figura 4: Esquema de um Evaporador tipo Triplo Efeito (De LIMA, 2007)	22
Figura 5: Formação do N-glicosídeo.	27
Figura 6: Fenómeno de mutarrotação.	28
Figura 7: Rearranjo Amadori.....	28
Figura 8: Quebra oxidativa.	29

Índice de Tabelas

Tabela 1: Parâmetros físico-químicos.....	13
Tabela 2: Parâmetros Microbiológicos	13
Tabela 3: Parâmetros Organolépticos.	13
Tabela 4: Distribuição dos trabalhadores da Protal-Produtos Alimentares, LDA	14
Tabela 5: Matéria prima usada para processamento de um batch	18
Tabela 6: Mecanismos de reações de escurecimento não enzimático	27
Tabela 7: Amostras de leite pronto (A,B,C) e de 6 meses conservadas a 25 °C (A ₂₅ ,B ₂₅ ,C ₂₅)...	40
Tabela 8: Amostras do leite de 6 meses conservadas a 25 °C (A ₂₅ ,B ₂₅ ,C ₂₅).....	41

Tabela 9: Amostras de leite pronto (A,B,C) e de 6 meses conservadas a 30 °C (A ₃₀ ,B ₃₀ ,C ₃₀)	41
Tabela 10: Amostras de leite pronto (A,B,C) e de 6 meses conservadas a 30 °C (A ₃₀ ,B ₃₀ ,C ₃₀).	42
Tabela 11: Amostras de leite de 6 meses conservadas a 30 °C (A ₃₀ ,B ₃₀ ,C ₃₀).....	42
Tabela 12: Amostras de leite pronto (X,Y,Z) e de 9 meses conservadas a 25 °C (X ₂₅ ,Y ₂₅ ,Z ₂₅).	43
Tabela 13: Amostras de leite pronto (X, Y, Z) e de 9 meses conservadas a 25°C (X ₂₅ ,Y ₂₅ ,Z ₂₅).	44
Tabela 14: Amostras de leite de 9 meses conservadas a 25°C (X ₂₅ ,Y ₂₅ ,Z ₂₅).....	44
Tabela 15: Amostras de leite pronto (X,Y,Z) e de 9 meses conservadas a 30°C (X ₃₀ ,Y ₃₀ ,Z ₃₀)..	45
Tabela 16: Amostras de leite pronto (X,Y,Z) e de 9 meses conservadas a 30°C (X ₃₀ ,Y ₃₀ ,Z ₃₀)..	45
Tabela 17: Amostras de leite de 9 meses conservadas a 30°C (X ₃₀ ,Y ₃₀ ,Z ₃₀).....	46
Tabela 18: Factor calculado e crítico da variação da viscosidade do leite conservado a 25 °C em função do tempo de conservação (6 e 9 meses).....	47
Tabela 19: Factor calculado e crítico da variação da viscosidade do leite conservado a 30 °C em função do tempo de conservação (6 e 9 meses).....	48
Tabela 20: Factor calculado e crítico da variação da viscosidade do leite de 6 meses em função da temperatura de conservação (25 e 30 °C).....	49
Tabela 21: Factor calculado e crítico da variação da viscosidade do leite de 9 meses em função da temperatura de conservação (25 e 30 °C).....	49
Tabela 22: Amostras de leite pronto e de 6 meses conservadas a 25°C e 30°C.....	50
Tabela 23: Amostras de leite pronto e de 9 meses conservadas a 25°C e 30°C.....	50
Tabela 24: Amostras de leite pronto e de 6 e 9 meses conservadas a 25°C.....	50
Tabela 25: Amostras de leite pronto e de 6 e 9 meses conservadas a 30 °C.....	51
Tabela 26: Amostras de leite de 6 meses conservadas a 25 e 30 °C.....	51
Tabela 27: Amostras de leite de 9 meses conservadas a 25 e 30 °C.....	52
Tabela 28: Amostras de leite de 6 e 9 meses conservadas a 25 °C.....	52

Tabela 29: Amostras de leite de 6 e 9 meses conservadas a 30 °C 53

Índice de gráficos

Gráfico 1: Parâmetros físico-químicos de leite pronto e de 6 e 9 meses conservado a 25°C 46

Gráfico 2: Parâmetros físico-químicos de leite pronto e de 6 e 9 meses conservado a 30 °C 47

Gráfico 3: Parâmetros físico-químicos de leite pronto e de 6 meses conservado a 25 °C e 30 °C 48

Gráfico 4: Parâmetros físico-químicos de leite pronto e de 9 meses conservado a 25 °C e 30 °C 49

Lista de abreviaturas

A, B, C - Amostras de leite pronto a 6 meses

A₂₅ B₂₅ C₂₅ – Amostras de 6 meses conservadas a 25° C

A₃₀ B₃₀ C₃₀ - Amostras de 6 meses conservadas a 30° C

BPM (Baird ParkerMedium)- Meio de cultivo usado para contagem especificamente de Staphylacocus, nas amostras analisadas

Bx (Brix)- Escala numérica que mede a refração, isto é, quantidade de sólidos solúveis dissolvidos em água

CCP- Pontos críticos de controlo

CIP- CleanInPlace (Limpeza da linha para o processamento)

cP (Centipoise) – Unidade de medida de viscosidade

ISO – International Organization for Standardization

M_p⁶ Média dos parâmetros físico-químicos de amostra de leite pronto de 6 meses

M_p⁹ Média dos parâmetros físico-químicos de amostra de leite pronto de 9 meses

M_{25}^6 Média dos parâmetros físico-químicos de amostra de leite pronto de 6 meses conservado a 25° C

M_{25}^9 Média dos parâmetros físico-químicos de amostra de leite pronto de 9 meses conservado a 25° C

M_{30}^6 Média dos parâmetros físico-químicos de amostra de leite pronto de 6 meses conservado a 30° C

M_{30}^9 Média dos parâmetros físico-químicos de amostra de leite pronto de 9 meses conservado a 30° C

PCA (PlateCountAgar)- Meio de cultivo usado para contagem total de bactérias, nas amostras analisadas

PrNM- Propostas de Normas Moçambicanas

RIISPOA – Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal

UHT – Ultra Alta Temperatura

X, Y, Z – Amostras de leite pronto a 9 meses

X_{25} , Y_{25} , Z_{25} - Amostras de 9 meses conservadas a 25° C

X_{30} , Y_{30} , Z_{30} - Amostras de 9 meses conservadas a 30° C

1. INTRODUÇÃO

Uma das principais funções dos alimentos é fornecer energia ao organismo. Os alimentos são compostos constituídos de carboidratos, proteínas, gorduras, vitaminas e sais minerais que pela digestão são divididos para serem aproveitados pelo organismo.

A análise de alimentos processados é muito importante para verificar a eficiência do processo ou até mesmo a comparação de processamento. Através das análises químicas pode-se verificar o que ocorreu com os constituintes dos alimentos processados, isto é, se ocorreram perdas de vitaminas e/ou minerais, desnaturação das proteínas, gelatinização de amido, etc.

Caracterizar um alimento envolve analisar a sua constituição química, características físicas, microbiológicas e sensoriais [MARYLAND, 2000].

Segundo o Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal-RIISPOA (1952) entende-se por leite condensado ou “leite condensado com açúcar”, o produto obtido resultante da desidratação em condições próprias do leite fresco adicionado de açúcar.

Os produtos lácteos são analisados com o objectivo de determinar a qualidade e as propriedades dos mesmos em contraste com a sua vida de consumo. Os produtos lácteos podem ser analisados por métodos químicos, físicos, microbiológicos e sensoriais.

As técnicas físicas e químicas são utilizadas com frequência para determinar a composição e qualidade do leite, investigando a presença ou ausência de adulteradores. Os métodos microbiológicos são empregues quando o analista está interessado em pesquisar somente a qualidade do leite. As técnicas sensoriais são utilizadas para determinar a qualidade do leite, assim como a aceitabilidade dos produtos. Uma análise de um produto lácteo costuma incluir um estudo sobre os sólidos em suspensão, proteínas, gorduras, energia, cinzas, níveis de acidez e os elementos específicos que podem ser: lactose, sódio, potássio, cálcio, cloretos, fosfatos, citratos, conservantes e antibióticos, microrganismos adicionados, resíduos de detergente, resíduos orgânicos e microrganismos [WING; 1993].

A análise de qualidade do leite é muito importante tendo em conta a sua grande influência nos hábitos de consumo e na produção de derivados. Por isso é necessário conhecer alguns conceitos sobre a qualidade do leite, referentes à composição e condição higiénico-sanitária [SARMENTO, 2007/2008].

No presente trabalho, foi estudado o comportamento dos parâmetros físico-químicos (viscosidade, refração, gordura, sólidos totais, sacarose), microbiológicos (contagem total de bactérias, contagem de Staphylacocus) e parâmetros organolépticos (aparência, sabor) tendo em conta o tempo e a temperatura de conservação do leite pronto produzido pela Protal Produtos Alimentares.

1.1 Objectivos do trabalho

1.1.1 Objectivo geral

- ✓ Estudar a dependência da qualidade do leite condensado coroa azul produzido pela Fábrica Protal-Produtos Alimentares com o tempo e a temperatura de conservação

1.1.2 Objectivos específicos

- ✓ Determinar propriedades físico-químicas com base na determinação do teor dos sólidos totais, teor da sacarose, teor da gordura, índice de refração e viscosidade do leite;
- ✓ Determinar propriedades microbiológicas com base na contagem total de bactérias e *Staphylococcus* presentes no leite;
- ✓ Determinar propriedades organolépticas com base na aparência e no sabor

1.2 Metodologia

De modo a atingir os objectivos traçados, o trabalho foi realizado obedecendo as seguintes etapas:

- **Revisão bibliográfica**

-Consistiu na pesquisa de fundamentos teóricos nas bibliotecas físicas e virtuais como forma de efectuar um enquadramento teórico adequado para elaboração deste trabalho.

- **Método experimental**

- Consistiu na preparação do campo de trabalho (limpeza);
- Preparação de soluções reagentes;
- Colheita de amostras de leite conservadas 6 e 9 meses a temperaturas de 25 e 30°C;

- **Análise e Discussão de resultados**

- Feitas as análises, tomou-se atenção aos dados obtidos em função do tempo e temperatura de conservação comparando-os com os padrões estabelecidos internacionalmente pela ISO-9000.

- **Elaboração do relatório final.**

1.2.1 Justificativa da Escolha do Tema

Tendo em conta que os produtos lácticos dos quais o leite condensado faz parte, são altamente perecíveis surge a necessidade de saber até que ponto a sua qualidade pode variar com o tempo e a temperatura de conservação pois a crise monetária pode limitar o desejo do consumidor na compra do produto. Assim, conhecendo o nível de contribuição na transformação do leite com base no tempo e temperatura de conservação, a fábrica Protal-Produtos Alimentares poderá tomar precauções de modo a aumentar o tempo de vida do leite e deixar recomendações para os revendedores no que diz respeito ao tempo e temperatura ideal de conservação do produto.

2. Parte Teórica

2.1 Leite Condensado

O leite condensado é basicamente leite concentrado por evaporação, ao qual se adiciona açúcar com o intuito de reduzir o volume e aumentar a conservação, apresentando o produto uma cor amarelada.

O leite condensado pode ser feito a partir de leite integral ou desnatado, ou a partir da reconstituição de leite em pó, óleo e água. A sua composição consiste em cerca de: 8% de gordura, 46% de açúcar, 20% de sólidos não gordurosos e 27% de água [ABU-JDAYIL, 2004].

Sabor

O leite fresco normal deve ter um sabor levemente adocicado, devido principalmente ao seu alto conteúdo de lactose. A mudança de sabor no leite tem várias causas, que são relacionadas principalmente ao modo como ele é processado.

Odor

Os principais elementos que influenciam o odor do leite são provenientes de utensílios que entram em contacto directo com o leite e a presença de microrganismos.

Cor

A cor do leite condensado é normalmente creme, que se deve principalmente à dispersão da luz pelas micelas de caseína. O caroteno e a riboflavina também contribuem para a cor creme [WING, 1993].

2.1.1 Historial

O leite condensado surgiu através de um experimento realizado pelo norte-americano Gail-Borden. Gail-Borden estudou uma solução que, de alguma forma, pudesse conservar o leite por mais tempo. Entre as suas experiências, Borden acrescentou açúcar ao leite e desidratou-o. Tentando desidratar o leite comum, descobriu que, antes de transformar-se em leite em pó, o produto se transformava em leite condensado [CHOW, 2000].

A invenção de Borden, patenteada em 1856, só foi valorizada quando houve a deflagração da Guerra Civil Americana (1861 – 1865) cinco anos depois. O produto foi usado na alimentação dos combatentes, já que continha bastante açúcar, era um produto energético, além do facto de poder ser conservado por mais tempo.

Mais tarde surgiu a primeira indústria criada especialmente para a produção comercial do leite condensado, a "Anglo-Swiss Condensed Milk" (1866), que acabou gerando o nome do género do produto. Sete anos mais tarde, em 1873, a Nestlé (Suíça) adquire a "Anglo-Swiss" e passa a produzir e comercializar o leite condensado em todo o mundo.

Importado directamente da Suíça, inicialmente o leite condensado era usado como bebida reconstituída em água e a sua grande vantagem era de que podia ser armazenado por um longo tempo [MILLER, 2000].

2.2 Principais Constituintes do leite

Grande parte dos lacticínios provém do processamento do leite de vaca que é composto principalmente de água com um conteúdo aproximado de 4,8% de lactose, 3,2% de proteínas, 3,7% de lípidos e 0,19% de conteúdo não proteico, bem como 0,7% de cinzas.

A presença e os teores de proteína, gordura, lactose, sais minerais e vitaminas determinam a qualidade da composição [MADISON, 1996, p.64].

2.2.1 Proteínas

As principais famílias de proteínas no leite são as caseínas, as proteínas do soro de leite e as imunoglobulinas. Quase 80% das proteínas são caseínas.

Dentro das duas grandes classes, as proteínas subdividem-se em grupos consoante as propriedades físicas, em geral, e solubilidade em particular; por exemplo albuminas (solúveis em água, coaguladas pelo calor); globulinas (insolúveis em água, solúveis em soluções diluídas de sais); etc.

A precipitação irreversível das proteínas, denominada desnaturação, é causada por calor, ácidos ou bases fortes, ou diversos outros agentes [MORRISON E BOYD, 1986].

As caseínas e as proteínas do soro do leite diferem-se quanto às suas propriedades fisiológicas e biológicas. As caseínas formam complexos denominados micelas com o cálcio. As proteínas do soro de leite formam glóbulos principalmente com a α -lactalbumina e a β -lactoglobulina. Ambas formam parte constituinte de 70 – 80% do total de proteínas do soro do leite. O resto são imunoglobulinas, glicomacropéptídeos, serum albuminas, lactoferrina e numerosas enzimas. O leite é uma fonte rica de peptídeos biologicamente activos (muitos dos quais sobrevivem às condições do trato intestinal) [MILLER, 2000].

2.2.2 Gordura

Importante para o desenvolvimento dos seres jovens, é uma estrutura complexa que serve como fonte de energia por ser muito rica em vitaminas A e D [VIEIRA, 1976].

O conteúdo gorduroso do leite é um complexo de lipídios que existe em forma de glóbulos microscópicos (1-4 μ m). É uma espécie de emulsão óleo-água ao longo da estrutura do leite.

A maior parte dos lípidos lácteos são triglicéridos ou ésteres dos ácidos combinados com glicerol (97 – 98%), e a menor parte são fosfolipídios (0.2 – 1%), esteróis livres (0.2-0.4%) e traços de ácidos livres. Quase 62% da gordura do leite possui tipos menores de ácidos, 30% de ácidos monoinsaturados (ácido oléico), 4% de ácidos poli-insaturados e 4% de tipos menores de ácidos [CHOW; 2000].

2.2.3 Carbohidratos

O principal carbohidrato do leite é a lactose (em proporção de 5%) [WING; 1993]. Trata-se de um dissacarídeo formado a partir da galactose e da glicose. A lactose forma quase 54% do total dos conteúdos não gordurosos sólidos do leite. Proporciona de igual forma 30% do conteúdo calórico do leite. Em condições favoráveis, pode servir como principal substrato na fermentação de alguns lácteos [MILLER, 2000].

O leite azeda em consequência da transformação da lactose em ácido láctico por acção bacteriana (*Lactobacillus Bulgaricus*) [MORRISON E BOYD, 1986].

Apresenta-se sob as formas alfa e beta no leite. Estas formas diferem na posição do grupo hidroxil do carbono anomérico.

A alfa-lactose possui o grupo hidroxil do carbono anomérico voltado para baixo, enquanto a beta-lactose tem o grupo hidroxil voltado para cima, conforme ilustrado na Figura 1.

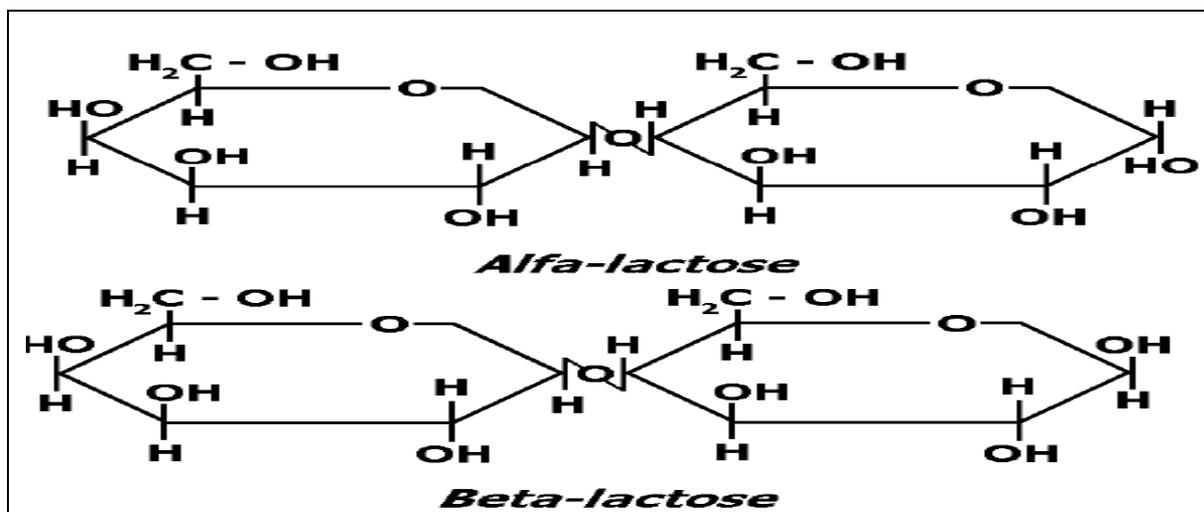


Figura 1: Estrutura química dos isómeros da lactose (PERRONE, 2006).

Existe um fenómeno, no leite e nos produtos lácteos, de mútua transformação de uma forma na outra, denominado mutarrotação. A mutarrotação ocorre em solução aquosa e consiste em um equilíbrio entre as quantidades de alfa lactose e de beta lactose. A distribuição de alfa e beta lactose em solução correspondem aproximadamente a 37,3% de alfa e 62,7% de beta a 20°C.

O açúcar passa de tons bem claros de amarelo transformando-se para um dourado característico ate chegar a uma cor negra intensa com mais tempo e com aumento da temperatura.

2.2.4 Sais minerais

Como uma fonte importante de minerais, pode-se dizer que aporta principalmente cálcio, fósforo, magnésio, potássio e traços de outros elementos como o zinco [MILLER, 2000].

A maior parte do cálcio (90%) é armazenada nos ossos, com uma troca constante ocorrendo com o sangue, tecidos e ossos. Necessário para o funcionamento adequado do sistema nervoso e imunológico, contracção muscular, coagulação sanguínea e pressão arterial, o cálcio é também importante no fortalecimento de ossos e dentes [WALASTRA, 2001].

Os sais minerais podem ser de origem orgânica ou inorgânica. O CO_2 dos carbonatos, é proveniente principalmente dos compostos orgânicos. O SO_3 dos sulfatos é um produto de composição das proteínas e uma parte de P_2O_5 provém das caseínas pois esta proteína contém cerca de 1,62% de P_2O_5 [Madrid e Vicente, 1995].

Fisiologicamente os sais minerais contribuem na formação e manutenção do esqueleto como no equilíbrio de diversas funções orgânicas [VIEIRA, 1976].

2.2.5 Vitaminas

Quase todo o tipo de vitaminas conhecidas, existem no leite mas em quantidades reduzidas. Contudo, não se pode referir que o leite é uma fonte de vitaminas pois alguma parte perde-se durante o tratamento térmico como é o caso das vitaminas B_1 , B_{12} e C.

2.2.5 Pigmentos

O principal pigmento presente no leite é o caroteno que pode chegar a conferir a coloração amarela do leite.

2.3 Microbiologia do leite

Os procedimentos usados para limpeza e desinfecção dos equipamentos, tanque de refrigeração e utensílios que entram em contacto com o leite, são importantes com respeito à contaminação microbiana.

De grande importância é também a temperatura e o período de tempo em que o leite é armazenado. Se o leite não é refrigerado rapidamente, a população bacteriana poderá aumentar, atingindo números elevados que podem levar à deterioração.

Um leite com a população bacteriana elevada pode significar contaminação com bactérias provenientes de diversas fontes e portanto presença de microrganismos causadores de infecções ou intoxicações ao homem e que às vezes não são eliminadas pelos métodos tradicionais de conservação e tratamento do leite [DRAIN, 1996 e WING, 1993].

2.3.1 Microrganismos que contaminam o leite

De acordo com a temperatura de crescimento, os microrganismos contaminantes do leite podem ser divididos em três grupos principais: os mesófilos, que se multiplicam rapidamente quando o leite não é armazenado sob refrigeração, os termofílicos que sobrevivem à pasteurização (30 minutos a 63 °C ou 15 segundos a 72 °C) e os psicofílicos, que se multiplicam a temperaturas baixas (7 °C ou menos).

As bactérias psicofílicas causam degradação das proteínas e gordura do leite, com consequente alteração no sabor e odor. A acção deletéria resulta de proteases e lipases termoestáveis, ataque proteolítico à caseína e aumento dos compostos nitrogenados de baixo peso molecular, que actuam como nutrientes para o contaminante pós-pasteurização.

A presença de enzimas termo-estáveis é especialmente prejudicial para a qualidade do leite UHT (Ultra Alta Temperatura, 140-145 °C, 2-4 segundos) porque este leite é estocado a temperaturas mais elevadas por longos períodos de tempo [KITCHEN, 1981].

As bactérias termodúricas resistem à pasteurização porque suportam temperaturas mais altas (>100 °C) e produzem esporos que são formas de resistência contra condições adversas. Exemplos de géneros com espécies esporuladas são *Clostridium* e *Bacillus*. Os esporos são inertes, não apresentam actividade metabólica e não se multiplicam, podendo sobreviver por anos no ambiente. São extremamente resistentes ao calor necessitando-se, em geral, de 20 minutos a 120 °C para serem inactivados. Como sobrevivem à pasteurização, podem reduzir o tempo de vida do leite, principalmente se as bactérias esporuladas forem também psicotróficas.

Independentemente da origem da contaminação microbiana, quanto mais elevado o número de bactérias no leite, menor será o tempo de vida do leite fluido [BRITO, 2005]. É praticamente impossível obter-se um leite livre de microrganismos contaminantes. Por isso se definem números aceitáveis, com base nas alterações que esses números causam no leite e derivados. Este requerimento é muito importante para a avaliação da qualidade do leite, pois será indicador das condições de higiene em que o leite foi obtido e armazenado, desde o processamento até ao consumo [BRASIL, 1999].

2.4 Qualidade do leite

Um leite de boa qualidade deve apresentar as seguintes características:

- Possuir sabor levemente adocicado, um aroma suave, livre de sabores e aromas estranhos;
- Ser livre de sedimentos e materiais estranhos;
- Ser livre de todos os germes patogénicos;
- Possuir contagem microbiana baixa [LANGE e BRITO, 2005];
- Estar de acordo com os padrões legais, para o mínimo de gordura, sólidos totais e sólidos desengordurados [Del Castillo, 2004].

2.4.1 Padrões de qualidade do leite

Tabela 1: Parâmetros físico-químicos

Parâmetro	Leite Crú	Leite Pronto
Viscosidade (cP)	1000-1500	2000-3500
Refracção (Bx)	69-70	71-72
Sólidos Totais (%)	70-71	72-73
Gordura (%)	< 8.0	8.0-8.3
Sacarose (%)	43.5-44.5	45-46

Fonte: ISO 9000/2000 e PrNM 184/2010

Tabela 2: Parâmetros Microbiológicos

Parâmetro	Leite Crú	Leite Pronto
C.T.B. (bactérias/g)	-	<100
C.Staphylacocus(bactérias/g)	-	<100

Fonte: ISO- 9000/2000 e PrNM 184/2010

Tabela 3: Parâmetros Organolépticos.

Parâmetro	Leite Crú	Leite Pronto
Paladar	-	Agradável
Depósito	-	Ausência
Aspecto	-	Bom

Fonte: ISO 9000/2000 e PrNM 184/2010

3. Descrição da fábrica Protal-Produtos Alimentares

Sedeada em Maputo na Avenida de Moçambique, Bairro do Jardim, a Protal-Produtos Alimentares foi fundada em 1968 produzindo para além do leite condensado a manteiga e o queijo. Havendo um aumento significativo na produção, acompanhado de surgimento de empresas vocacionadas na produção do leite condensado, surge a necessidade de cada vez mais investigar a parte qualitativa do produto de modo a elevar a qualidade e garantir que o produto não prejudique a saúde humana durante a sua vida estipulada e “ombrear” com as outras empresas de lacticínios.

3.1 Mão-de-obra

Com o aumento da produção, surgiu a necessidade de incrementar o número de trabalhadores de modo a responder satisfatoriamente a evolução das actividades, os quais estão distribuídos segundo a tabela 4.

Tabela 4: Distribuição dos trabalhadores da Protal-Produtos Alimentares, LDA

Sector de Trabalho	Número de Trabalhadore
Direcção geral	1
Direcção financeira	1
Direcção fabril	1
Departamento dos recursos humanos	5
Departamento de produção	23
Laboratório	3
Departamento de manutenção	9
Secção de contabilidade	4
Secção de enlatamento	16
Secção de electricidade	2
Secção de importações	2
Mecânica industrial	1

3.2 Processamento de leite condensado

O leite é um produto básico na alimentação humana, principalmente para crianças e idosos que necessitam de rica fonte nutricional que possui. Quando consumido permite ao organismo dispôr de diversos nutrientes essenciais à saúde humana. Desta forma, segurança e qualidade são dimensões inseparáveis em todas as fases da cadeia alimentar, tornando-se assim um grande desafio para uma indústria de processamento de leite manter as características dentro dos limites permissíveis para os padrões tradicionais do produto atendendo à legislação vigente na fabricação e conservação do mesmo.

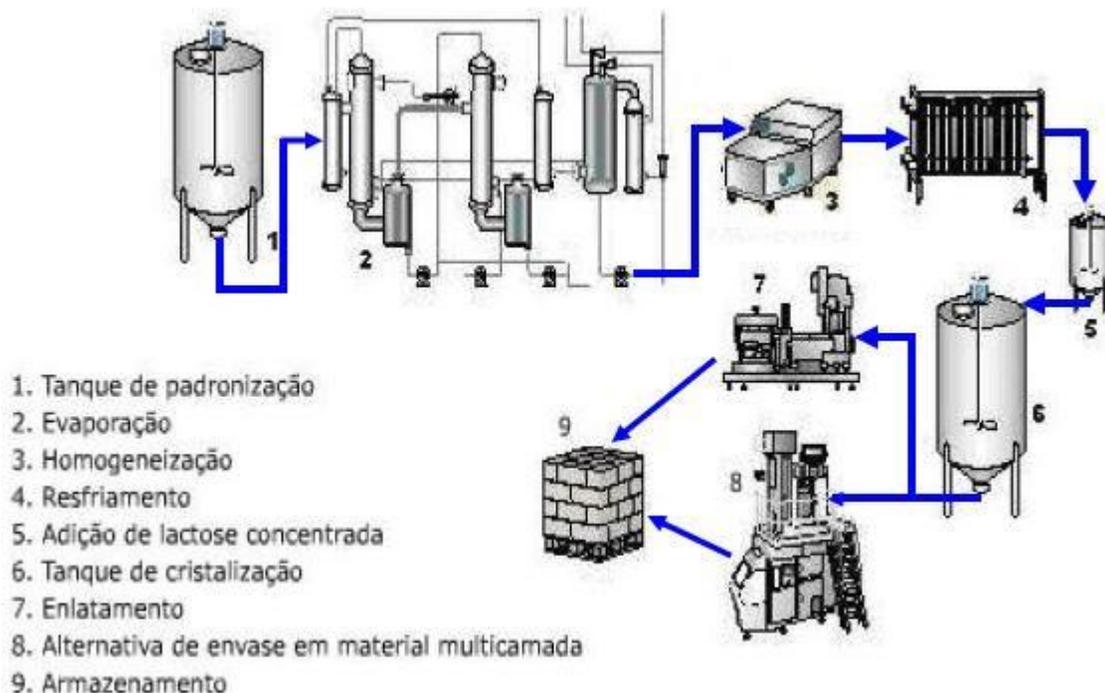


Figura 2: Fluxograma de Produção do leite condensado.

No acto do processamento do leite condensado, são obedecidas as seguintes etapas:

- Preparação da Linha
- Matéria-prima

- Padronização
- 1ª Filtração
- Tratamento térmico
- 2ª Filtração
- Homogeneização
- Evaporação
- Arrefecimento/cristalização
- Enlatamento

3.2.1 Preparação da linha de processamento

Para iniciar a nova produção é necessário drenar todo o resíduo do leite condensado. Após a drenagem, segue a CIP (*Cleaning In Place*) que obedece as fases:

- Lavar a linha com água por 10-20 minutos;
- Fazer circular soda cáustica 2%, 90 °C durante meia hora. De forma a dar proveito, a soda cáustica é depois usada para lavagem do chão;
- Após esta operação, passa-se muita água para que o pH esteja entre 6,8 e 8,2 (pH ótimo para produção);
- Desconecta-se a linha através dos pontos críticos de controlo (CCP) de modo a verificar a efectividade da lavagem;
- Depois de conectar todos os instrumentos desmontáveis, faz-se a esterilização de toda a linha. A esterilização da linha é feita com o objectivo de eliminar microrganismos que podem infectar o leite, e deve ser feita depois da CIP, mas imediatamente antes da produção.

A esterilização é feita com água a uma temperatura média de 90 °C por 1 hora. Os componentes desmontáveis como é o caso dos pontos de amostragem, instrumentos de medição devem ser desmontados e lavados manualmente.

A lavagem da linha é graças ao vapor produzido na caldeira. Sempre que se termina uma produção, lava-se a linha com ácido nítrico 2% num período de meia hora a uma temperatura de 80 °C depois de lavagem com água e soda cáustica de modo a otimizar o pH de produção.

3.2.2 Matéria-prima

A matéria-prima básica utilizada para produção de leite condensado deve ser a mesma que é utilizada na produção de outros produtos lácticos. Deve-se ter em conta no que diz respeito a este contexto algumas considerações sobre o leite:

- Se o leite apresenta ou não capacidade para tolerar choques térmicos sem coagular (estabilidade das proteínas);
- A quantidade de esporos bacterianos nele existentes e capazes de resistir ao calor;
- Se o leite apresenta enzimas que provocam a sua degradação, os chamados psicotróficos.

3.2.3 Padronização

O leite condensado é comercializado com uma percentagem previamente definida de gorduras e sólidos. Existe leite condensado integral que contém aproximadamente 8% de gordura e 18% de sólidos não gordurosos, enquanto o leite condensado desnatado contém 95% de gordura que é separada, permanecendo 5% no alimento.

Nesta etapa a quantidade de sólidos também deve ser padronizada pela adição de açúcar, que pode ser afectada pelas seguintes formas: adição de açúcar sólido antes do tratamento térmico; adição de xarope no evaporador.

A adição de açúcar é uma operação muito importante no processo de formação do leite condensado e deve ser realizado em proporções adequadas dado o tempo de vida deste produto depender da pressão osmótica. Normalmente são adicionados 170-180 g/l de sacarose (granulada). A quantidade de açúcar total (adicionado + natural) deve ser cerca de 46.44% para um leite concentrado com 28% de sólidos totais. A concentração mínima de açúcar na fase líquida é de 62,5% e nunca deverá exceder os 64.5%. Nesta fase de concentração de açúcares a pressão osmótica é suficiente para impedir o crescimento de microrganismos.

Os equipamentos de normalização são automáticos e muito precisos, o que permite que esta operação decorra de forma contínua na indústria. Uma vez que o tanque final enche com 3 batches (3 tanques de mistura) deve-se fazer 3 processamentos tendo em conta a quantidade de matéria-prima descrita na tabela 5 por batch.

Tabela 5: Matéria prima usada para processamento de um batch

Reagente	Quantidade
Água	2600 litros a 60 °C
Leite	775Kg
Vitaminas	650 Kg
Maltodex	575 Kg
Carrageaner	3 Kg
Soja	100 kg
Açúcar	4300 Kg
Óleo de palmo	620 litros

Com vapor produzido na caldeira, aquece-se água até 60 °C que depois é conduzida através de um tubo para o tanque de mistura controlando-se o manómetro de modo que não se ultrapassa os 2600 litros estipulados.

Seguindo a sequência da tabela, introduz-se os ingredientes sólidos através de um funil e são agitados por meio de um agitador que se encontra dentro do tanque de mistura. O óleo de palma é bombeado para o tanque de mistura através de um tubo.

Uma hora após a agitação da mistura, obtém-se o leite cru formado. De seguida conduz-se a mistura para o tanque de mistura 2 (tanque de descanso) ligado em série com o tanque de mistura 1 onde se agita até completar a homogeneização. A passagem da mistura do tanque 1 para 2, é acompanhada pelo processo de filtração usando uma rede fina.

O leite cru é conduzido por meio de uma bomba para o pasteurizador, antecedido pela filtração automática 1 onde as partículas grossas e impurezas são retidas. A rede de filtração tende a afinar-se com o número de filtrações.

3.2.4 Tratamento Térmico/Pasteurização

Pasteurizar consiste no aquecimento do leite a uma determinada temperatura, por um determinado tempo, visando eliminar bactérias patogênicas e reduzir as deterioradoras, seguido de resfriamento, aumentando a vida útil do leite, sem alteração sensível da sua composição nutricional e sensorial. O tratamento térmico é realizado em permutadores de calor (pasteurizador), como mostra a figura 3.

Nunca esquecer que a pasteurização é um recurso usado para retardar a deterioração do leite. O processo, se bem executado, permite destruir a totalidade das bactérias nocivas à saúde e reduzir muito aquelas que não fazem mal, que apenas azedam o leite. O leite pasteurizado, portanto, dura mais e não oferece riscos para o consumo.

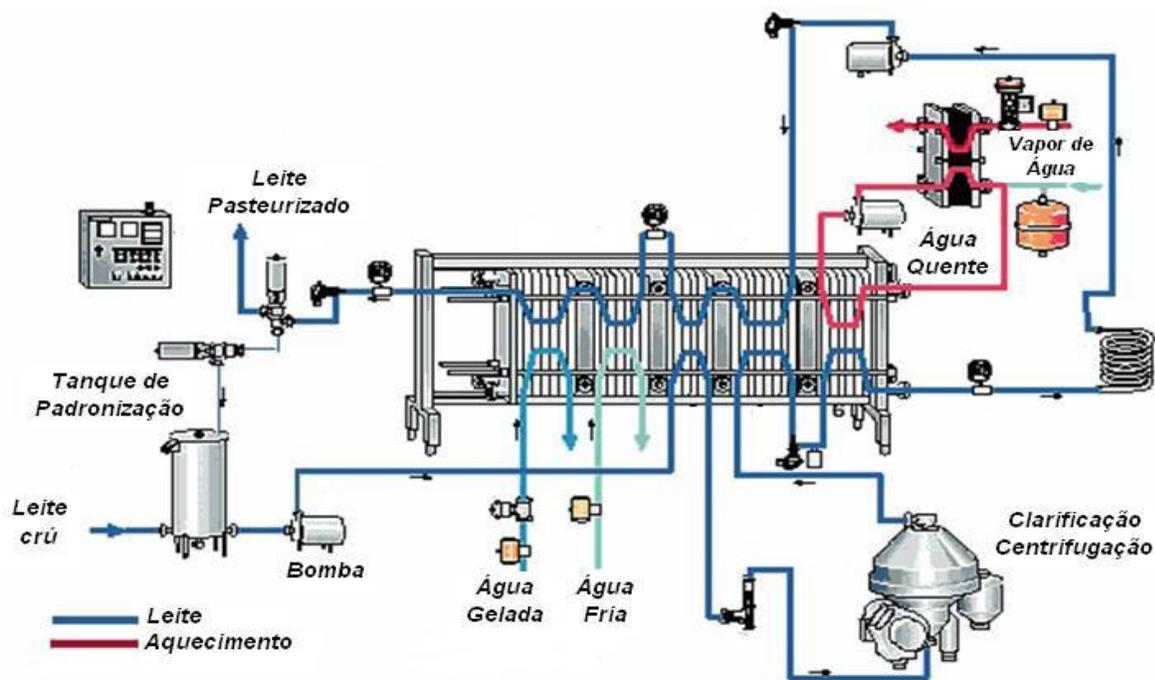


Figura 3: Pasteurização do Leite.

A pasteurização é um tratamento indispensável e obrigatório. Além das vantagens mencionadas, ajuda também na uniformização do produto final e melhora a acção dos fermentos pela eliminação da concorrência de bactérias [ABREU, 2000].

O leite cru deve ser pasteurizado a uma temperatura de 88,5-90 °C. Se o leite não estiver completamente pasteurizado ou seja, se a pasteurização ocorrer a uma temperatura abaixo da estabelecida, o leite é automaticamente devolvido ao tanque de mistura 2 para o reprocessamento. O leite completamente pasteurizado é conduzido através de um tubo para o filtro 2, onde é filtrado de modo que sejam retiradas partículas que possam ter escapado antes do processo de pasteurização.

A natureza do tratamento térmico determina, em grande parte, a viscosidade do produto final, que é de extrema importância para a qualidade deste, ou seja, se o tratamento térmico for muito severo formar-se-á uma estrutura tipo gel no produto.

Assim o leite é normalmente aquecido a uma temperatura de cerca de 82°C, durante 10 minutos quando se pretende obter um produto com um grau de viscosidade mais elevado, ou pelo contrário, quando se pretende obter um produto de baixa viscosidade eleva-se a temperatura para cerca de 116°C durante um período de 30 segundos [ELLNER, 2000].

3.2.4.1 Tipos de Pasteurização

3.2.4.1.1 Pasteurização Lenta

Consiste em aquecer o leite a 65°C e mantê-lo a esta temperatura por 30 minutos. Durante este tempo, o leite deve ser agitado para evitar aderência às paredes do recipiente, promover aquecimento uniforme de todas as suas partículas e, ao mesmo tempo, evitar formação de espuma. Este processo é mais usado em pequenas indústrias onde o volume de produção não justifica a aquisição de um pasteurizador de placas. Neste caso, é importante rapidez no resfriamento. Lentidão, nesta fase, pode favorecer o aumento considerável de bactérias que não fazem mal à saúde humana, porém acidificam o produto e também daquelas malélicas que porventura possam entrar em contacto com o produto durante o resfriamento.

3.2.4.1.2 Pasteurização Rápida

Consiste em aquecer o leite a 75°C e mantê-lo, por 15 segundos, em um equipamento com trocadores de calor de placas. É o processo mais usado em indústrias de médio e grande porte.

A temperatura e o tempo de pasteurização foram determinados em função da destruição da bactéria *Coxieta burnetti* (agente infeccioso da febre Q), que é a bactéria patogénica mais resistente a alta temperatura e que pode estar presente no leite.

3.2.5 Homogeneização

A homogeneização é o processo que consiste em passar o leite através de válvulas a alta pressão com furos muito pequenos, reduzindo então o tamanho das partículas, evitando portanto a separação da gordura. A homogeneização serve para impedir a formação de nata no leite pasteurizado, deixando o leite mais branco, melhorando o aspecto, palatabilidade e digestão.

3.2.6 Evaporação

Ao sair do homogeneizador, o leite é conduzido para o tanque Bóia (Holding tank), um tanque que funciona como termo-aquecedor, onde o leite permanece à temperatura constante de 85°C, durante 15 minutos. Após o repouso segue o processo de evaporação.

O leite é conduzido ao condensador onde uma parte da água e cerca de 45% dos cloretos são eliminados. Os citratos são completamente eliminados em forma de vapor e libertos para a atmosfera. Após a evaporação, o leite é arrefecido.

A figura 4 mostra o processo de evaporação segundo o evaporizador de efeito triplo.

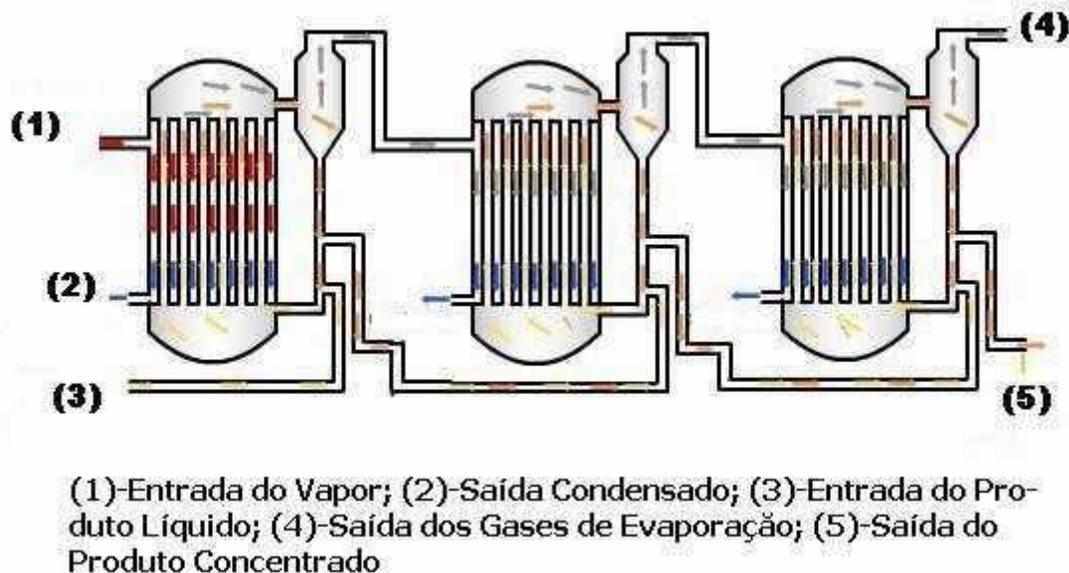


Figura 4: Esquema de um Evaporador tipo Triplo Efeito (DE LIMA, 2007)

A evaporação é contínua até que se atinja a quantidade desejada dos sólidos totais.

Existem dois testes para determinar o teor de sólidos totais desejados:

Viscosidade ou índice de refração e densidade, estando esta ligada directamente com o teor dos sólidos totais do leite concentrado [SARMENTO, 2007\2008].

A viscosidade é a propriedade dos fluidos correspondente ao transporte microscópico de quantidade de movimento por difusão molecular isto é, quanto maior a viscosidade, menor será a velocidade em que o fluido se movimenta, enquanto a refração mede a quantidade de todos sólidos solúveis no leite [BERTULANI, 1998].

3.2.7 Arrefecimento/Cristalização

Após a evaporação, o leite condensado deve ser arrefecido. Na fase aquosa a concentração de açúcar é muito elevada (cerca de 60% a 65%) e a concentração de lactose aumenta proporcionalmente. Quando o produto é arrefecido à temperatura ambiente este cristaliza pois a concentração da lactose é superior à solubilidade. Se a cristalização for lenta, formam-se cristais com tamanho superior a 15 micrómetros, tornando o produto inadequado.

Para assegurar um produto de qualidade os cristais devem ter um tamanho abaixo de 10 μm conseguindo-se através da adição da lactose em pó a cerca de 30 a 33°C e depois arrefecida rapidamente a 15°C [SARMENTO, 2007\2008].

3.2.8 Enlatamento

As latas são colocadas num tapete rolante e são movidas através de um elevador de latas vazias. Passam por um soprador que serve para retirar impurezas que possam ter entrado nas latas durante a sua subida. De seguida são esterilizadas a uma temperatura de 135⁰C.

Após a esterilização, as latas são conduzidas para a sala de enchimento. A sala de enchimento tem sensores que servem para indicar a chegada das latas vazias e para accionar a descida das tampas de modo a que as latas sejam tampadas depois de enchidas.

Assim, as latas entram em cilindros e são enchidas de modo a que se obedeça o peso normal de 385 g. Se o peso não for correcto, acerta-se o sistema de modo a que se estabeleça o peso desejado. Depois de cheias as latas, acciona-se a descida das tampas, que por sua vez são esterilizadas com chama, codificadas e por fim as latas são fechadas; antes de fechadas as latas passam por uma corrente de nitrogénio que preenche o espaço lata-tampa, para aumentar o tempo de conservação do leite.

As latas fechadas são conduzidas através do elevador de latas, passam por uma resina para poder assegurar o rótulo, adsorvem a cola, são rotuladas e por fim embaladas.

3.3 Controlo de Qualidade

A Protal realiza controlo em todas as fases do processo desde a chegada do leite até à estocagem do produto final, com o objectivo de assegurar a qualidade do produto no concernente ao aspecto, à consistência, ao sabor e às características microbiológicas. O acompanhamento inclui as análises sobre as condições organolépticas, exames físico-químicos e microbiológicos para assegurar a pureza do produto [RIBAS, 1998].

3.3.1 Defeitos/alterações

3.3.1.1 Arenosidade

Observa-se a existência de uma estrutura arenosa no leite condensado, quando o processo de arrefecimento decorre de um modo lento e sem núcleos de cristalização. Para minimizar este problema, o ideal é que a formação de cristais seja superior a 400 milhões de cristais/ml.

3.3.1.2 Alterações microbiológicas

No leite condensado, somente os microorganismos osmotolerantes especialmente os fungos são capazes de se desenvolver. O leite pode sofrer alteração devido ao crescimento de leveduras osmotolerantes, especialmente *Torulopsis*. Este facto ocorre normalmente no processamento onde a produção de gás pode provocar o estufamento das latas.

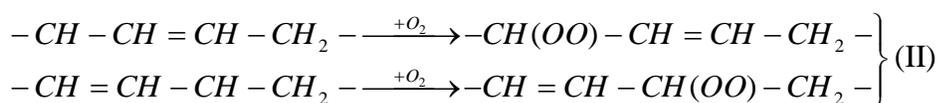
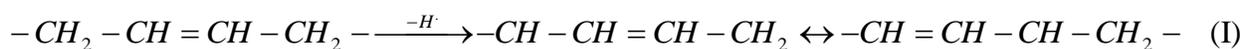
Pode também ocorrer o crescimento de mofos, normalmente espécies *Aspergillus* e *Penicillium* que podem provocar a formação de nódulos na superfície. Este crescimento está associado por vezes à formação de aromas estranhos. O defeito está associado com deficiências higiénicas na planta industrial e é agravado com a presença de oxigénio nas latas, o que permite o crescimento de mofos. Entre bactérias, o crescimento de *Micrococcus* pode provocar o espessamento do produto que pode levar ao aparecimento de ranço ou conduzir à sua acidificação [BRITO, 2005].

3.3.1.3 Deterioração da fracção lipídica do leite

No leite existem diversos sistemas enzimáticos que atacam os tri e diglicéridos, e os ácidos gordos, sobretudo em posição α , revelando-se contudo no leite fresco inactivos. Contudo, a manipulação do leite, a agitação, a homogeneização, a adição de certos produtos químicos como a amónia, certos detergentes e outros, podem acelerar a lipólise tal como as temperaturas até 30°C. A lipólise do leite além de contribuir para aparecimento de aromas anormais neste produto, pode também diminuir a sua tensão superficial, o que é consequência dos di e monoglicéridos e dos ácidos gordos.

No leite, os ácidos gordos insaturados e seus ésteres são altamente susceptíveis à autoxidação que na sua fase inicial produz radicais livres.

No caso dos ácidos gordos monoinsaturados, e poliênicos não conjugados, a reacção é iniciada pela remoção de $H\cdot$ de um grupo α metileno adjacente a uma dupla ligação (I) juntando-se depois o oxigénio ao radical livre originando os peróxidos (II) que posteriormente reagem com outra molécula do composto insaturado para dar mais hidroperóxidos e assim continuando a reacção em cadeia.



3.3.1.4 Oxidação e libertação de aromas

Da deterioração dos lípidos, resulta a libertação de cheiros atribuídos aos aldeídos saturados e insaturados, às metilcetonas, lactonas, libertadas em diminutas concentrações. De uma maneira geral, o valor do cheiro para os aldeídos diminui com o aumento da insaturação, aumentando com o comprimento da cadeia e variando ainda com o meio onde se encontra [DIAS CORREIA, 1976].

3.3.1.5 Caramelização da sacarose

O aquecimento da sacarose produz reacções complexas conhecidas como caramelização. Durante a caramelização, a termólise provoca desidratação e geração de ligações duplas com formação de polímeros que dão a cor e aroma de caramelo. No meio básico e à temperatura elevada, as reacções acontecem com maior rapidez, resultando em um produto ainda mais viscoso e cor castanha-escura. O processo de caramelização é uma reacção não enzimática que pode ser explicada pelas reacções:

- Reacção de Maillard: os açúcares, aldeídos e cetonas reagem com compostos nitrogenados tais como aminoácidos e proteínas para formar pigmentos de cor marron os quais são produtos de reacções complexas, inclusive de polimerização;
- Reacção de caramelização: os açúcares são aquecidos na ausência de compostos nitrogenados, os quais formam também produtos complexos também resultados de polimerização.

Durante a reacção de caramelização, os açúcares submetem-se a desidratação e após à condensação ou polimerização, ocorre a formação de estruturas complexas de massas moleculares diferentes [ROJAS, 2000].

Levemente colorido e de gosto agradável, o caramelo começa a ser produzido durante os estágios iniciais mas à medida que a reacção vai decorrendo, ocorre a formação de estruturas de massa molecular mais elevada o que influi no sabor, o qual se torna gradativamente mais amargo com a elevação da temperatura, ou seja, o açúcar irá queimar de acordo com uma relação directamente proporcional ao tempo que deixar.

A caramelização da sacarose contém 3 produtos principais: a caramelana ($C_{12}H_{18}O_9$) e dois polímeros, a caramelen ($C_{36}H_{50}O_{25}$) e caramelin ($C_{96}H_{102}O_{51}$).

A reacção de Maillard foi descrita em 1912 pelo químico Louis-Camille Maillard. É uma reacção que ocorre entre os aminoácidos ou proteínas e os açúcares (carboidratos) quando o alimento é aquecido onde o grupo carbonilo ($-C=O$) do carboidrato interage com o grupo amino ($-NH_2$) do aminoácido e após várias etapas produz as melanoidinas [WIM, 2001].

A reacção que ocorre no processo de Maillard, é diferente do processo de tostamento e caramelização. No tostamento ocorre uma reacção de pirólise do carboidrato (desidratação térmica) e na caramelização ocorre uma desidratação, condensação e polimerização do carboidrato. Em nenhum dos dois casos ocorre o envolvimento das proteínas [BOSTON, 1986].

A tabela abaixo apresenta as condições de ocorrência dos processos de escurecimento não promovido por enzimas.

Tabela 6: Mecanismos de reações de escurecimento não enzimático

Mecanismo	Requerimento de O ₂	Requerimento de - NH ₂	pH óptimo	Produto final
Maillard	Não	Sim	> 7,0	Melanoidinas
Caramelização	Não	Não	3,0 a 9,0	Caramelo

3.3.1.6 Mecanismo geral da Reacção de Maillard

Quando os aminoácidos são aquecidos juntamente com açúcares redutores, há uma interacção entre estes compostos que reagem por intermédio de um fenómeno denominado por reacção de Maillard. A reacção geral de Maillard é, na verdade, um conjunto de reacções que se desencadeiam em várias etapas. Ocorrem, normalmente, a temperaturas muito altas, mas se houver uma concentração muito elevada de açúcares redutores ou aminoácidos, então poderão ocorrer a temperaturas mais baixas [OETTERER, 2006].

Esta reacção é responsável pela formação de muitos produtos que dão cor acastanhada e distinto paladar e aroma a um alimento processado termicamente. Contudo, em condições particulares pode estar ligada à formação de acrilamida.

O passo inicial envolve uma reacção entre um açúcar redutor e um aminoácido primário, com perda de uma molécula de água, originando uma imina que poderá ser capaz de se ciclicizar, resultando a formação de um N-glicosídeo (um açúcar ligado a um grupo NR₂).

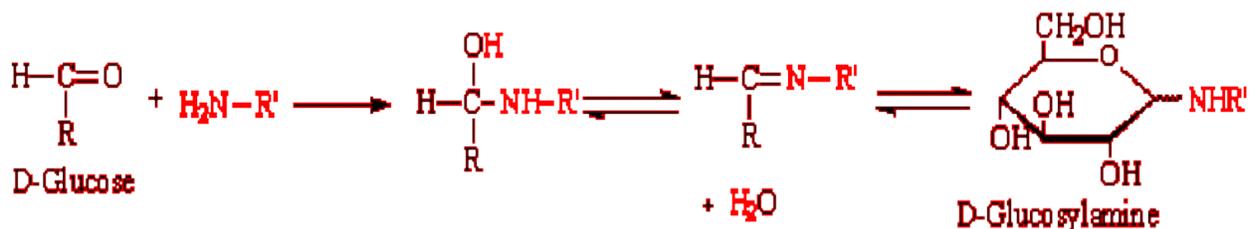


Figura 5: Formação do N-glicosídeo.

Os anómeros do N-glicosídeo existem em equilíbrio por mutarrotação, como resultado de uma isomerização catalizada por um ácido. Há abertura da cadeia e formação de um ião *immonium*, como se pode ver no esquema seguinte:

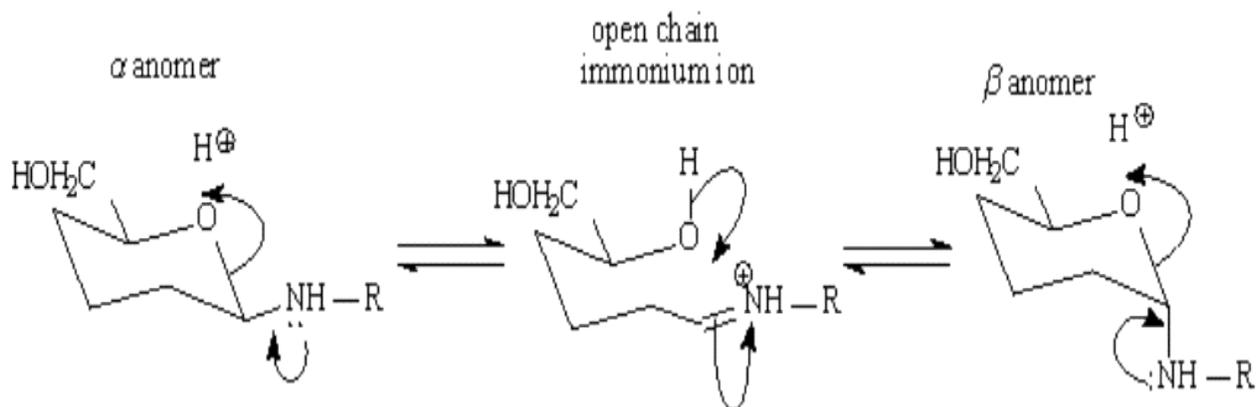


Figura 6: Fenómeno de mutarrotação.

Em vez da ciclização do íon *immonium*, pode ocorrer um rearranjo Amadori. Esta é uma reacção de isomerização catalizada por um alcali.

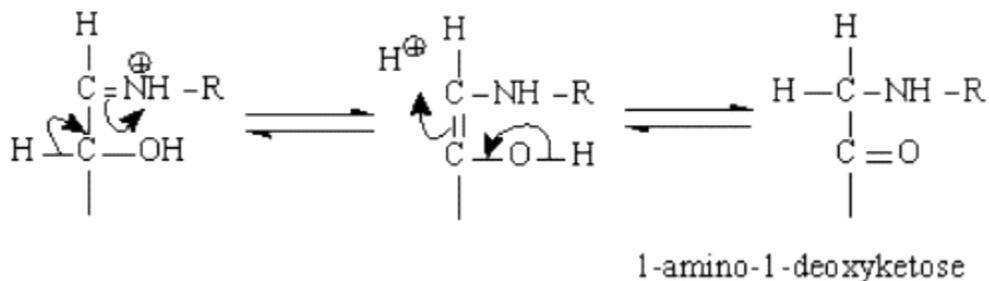


Figura 7: Rearranjo Amadori.

A quebra oxidativa dos produtos desta reacção dá-nos uma indicação muito útil da extensão da reacção de Maillard.

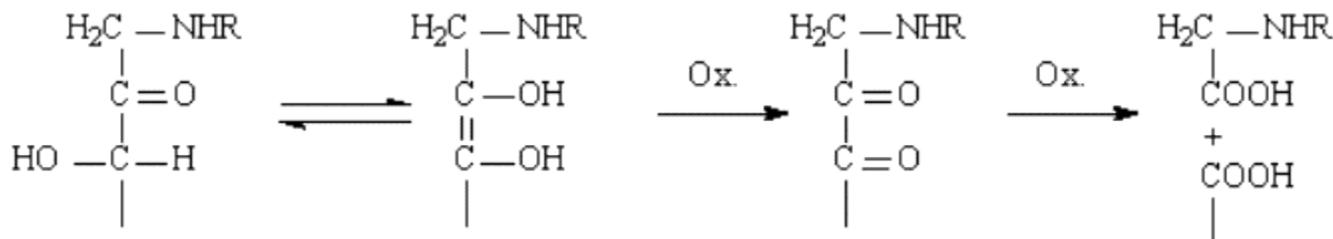


Figura 8: Quebra oxidativa.

Os produtos gerais consequentes da reacção de Maillard incluem:

- produtos insolúveis com pigmentos acastanhados (“melanoidinas”) que possuem estruturas, pesos moleculares e níveis de nitrogénio variáveis;
- compostos voláteis que contribuem para o aroma de muitos produtos cozinhados;
- compostos aromáticos que muitas vezes conferem sabores amargos;
- compostos redutores que ajudam a prevenir a deterioração oxidativa, aumentando a estabilidade da comida;
- produtos mutagénicos;

3.4 Técnicas e métodos de análise usados pela Protal

No presente trabalho, fez-se a determinação de parâmetros físico-químicos, microbiológicos e organolépticos que definem a qualidade do leite, usando os métodos de secagem, de Roesse-Gottlieb, polarimétrico e método directo para determinação dos parâmetros físico-químicos e organolépticos; contagem total de bactérias e contagem total de *Staphylococcus* para parte microbiológica usando o método de contagem em placas de petri. Todos os métodos mencionados são os usados pela fábrica para análise de qualidade do leite.

3.4.1 Secagem

O método de estufa é o método mais utilizado e está baseado na remoção da água por aquecimento, onde o ar quente é absorvido por uma camada muito fina do alimento e é então conduzido para o interior. A evaporação por um tempo menor que o determinado, pode resultar numa remoção incompleta da água, se a parte sólida estiver fortemente presa por forças de hidratação [JOSLYN, 1970].

O aquecimento directo da amostra a 105°C é o processo mais usado. A pesagem da amostra deve ser feita somente após resfriá-la completamente no excicador, pois a pesagem a quente levaria a um resultado falso.

3.4.2 Método de Roese-Gottlieb

A amostra é tratada com hidróxido de amónio e álcool para hidrolisar a ligação proteína-gordura, e a gordura separada é então extraída com éter de petróleo e éter etílico. O álcool precipita a proteína que é dissolvida na amónia e a gordura separada pode ser extraída com éter. A extracção com éter é muito eficiente em amostras com muito açúcar [JACOBS, 1973].

3.4.3 Polarimetria

A polarimetria é uma técnica que se baseia na medição da rotação óptica produzida sobre um feixe de luz polarizada ao passar por uma substância opticamente activa.

O instrumento usado para medir a polarimetria chama-se polarímetro. É constituído basicamente por uma fonte de radiação monocromática, um prisma que actua como polarizador da radiação utilizada (prisma de Nicol), um tubo para acondicionamento da solução com amostra, um prisma analisador (prisma de Nicol), um detector que pode ser o olho do analista ou então um detector fotoeléctrico [FERREIRA, 2004].

O polarímetro possui ainda escalas que medem o desvio da luz polarizada para o lado esquerdo (substancias levógiras) ou para a direita (dextrógiras).

A rotação óptica varia em função da temperatura e do comprimento de onda empregue (quanto mais curto, maior o ângulo), da natureza química da substância e da sua concentração [PERREIA, 2001].

3.4.4 Método directo

Os valores da viscosidade e da refração são obtidos por leitura directa no viscosímetro e refractómetro respectivamente. Para medir a viscosidade basta apenas colocar um recipiente com leite, a 20°C no viscosímetro, ligar e deixar girar uma volta inteira. A volta é controlada pelo ponteiro vermelho no viscosímetro. Quando o ponteiro aparece pela segunda vez, trava-se o viscosímetro e faz-se a leitura da viscosidade, na graduação do viscosímetro.

O valor lido, é multiplicado por 200. Para a refração, basta colocar uma pequena porção do leite e tirar a leitura na graduação do refractómetro.

A determinação da viscosidade permite o controlo efectivo do açúcar invertido durante a sua produção, garantindo a qualidade do produto final [GRATÃO, 2004].

3.4.5 Contagem de bactérias

Os métodos usados para contagem de bactérias, são de um modo geral uma estimativa de número de bactérias presentes na amostra, devido a grande variabilidade de espécies de bactérias que podem ser encontradas no leite [ORDONEZ, 1987 e PEREIRA, 2001].

3.4.5.1 Contagem em placas

Consiste em misturar um dado volume de leite com meio de cultivo solidificado. Após encubação, contam-se as colónias formadas e representa-se o número total de bactérias presentes na amostra por unidade de peso ou volume, assim como o número de bactérias específicas, caso de *Staphylococcus* para o presente trabalho.

Os meios de cultivo usados na Protal para contagem total e contagem de *Staphylococcus* são as soluções de PCA e BPM, respectivamente.

O procedimento determina o número de bactérias no leite e é especialmente aplicável para amostras com baixo conteúdo bacteriano. O método não é imediato (48 horas), mais caro e, por outro lado, não existe um meio de cultivo único ou conjunto de condições de trabalho que evidenciam a população bacteriana de uma amostra específica de leite [DE LIMA, 2005].

4. Materiais e métodos

Os laboratórios de qualquer indústria química alimentar devem em princípio e sempre que possíveis estarem bastante equipados sob o ponto de vista de reagentes, esterilizantes, equipamentos calibradores, medidores, balanças, estufas, etc.

O laboratório da Protal-Produtos Alimentares, Lda. está razoavelmente equipado. O estágio laboral efectuado nesta empresa teve como tempo de duração 4 meses (Maio-Setembro de 2011). O primeiro mês foi de familiarização que consistiu no acompanhamento do processo de produção do leite, o funcionamento do equipamento com base na interacção com os operadores e aprender a efectuar as análises físico-químicas (viscosidade, refração, sólidos totais, gordura, sacarose e lactose), microbiológicas (contagem total de bactérias e contagem de *Staphylococcus*) e organolépticas (aparência e paladar). Os restantes meses foram de análise das amostras em estudo.

No presente trabalho, fez-se o estudo dos parâmetros físico-químicos, microbiológicos e organolépticos das amostras conservadas a temperaturas de 25 e 30°C tendo como período de conservação na prateleira 6 e 9 meses.

Foram extraídas no total 18 amostras contando com as amostras do leite pronto, sendo 3 amostras de 6 meses conservadas a 25°C e 3 conservadas a 30°C para estudar o comportamento do leite com a variação da temperatura com o mesmo tempo e com tempos de vida diferentes na prateleira. Os dados obtidos foram comparados entre si e depois com os dados obtidos com o mesmo leite recém produzido (leite pronto).

O mesmo procedimento foi seguido para amostras de leite com a vida na prateleira de 9 meses. Após análise de uma forma isolada (mesmo tempo de prateleira), fez-se um intercâmbio variando a temperatura e\ou o tempo de prateleira.

De salientar que este estudo foi de interesse da fábrica dado que o mesmo não era efectuado por isso um acompanhamento mais rigoroso com os técnicos do laboratório em todo o processo. Dado que o estágio foi de 4 meses, os dados do leite pronto foram fornecidos pela fábrica. De modo a oferecer maior fiabilidade aos resultados obtidos, para cada temperatura foram colhidas 3 amostras e tomadas 3 réplicas para cada amostra (lata).

4.1 Parte Físico-química

De acordo com os objectivos traçados, as análises físico-químicas consistiram na determinação de sólidos totais, teor da sacarose, extracção da gordura, leitura da viscosidade e índice de refração.

4.1.1 Determinação de sólidos totais

Pesou-se 100g da amostra num copo de precipitação de 500 ml, adicionou-se 200 ml de água destilada e agitou-se num agitador magnético durante 5 minutos.

Preparou-se 2 pipetas de 2 ml e em cada uma delas pipetou-se 2 ml da solução preparada; Colocou-se as 2 pipetas numa placa suporte e depois pesou-se na balança analítica;

Registou-se a massa m_1 , que é o resultado da soma da massa da placa com as 2 pipetas cheias ;

Transferiu-se a mistura para a primeira caixinha de alumínio contendo um papel de filtro para ajudar na adsorção da mistura, pesou-se novamente a placa mas já com uma das pipetas vazias obtendo-se a massa m_2 ;

Por fim transferiu-se o leite da segunda pipeta, para a segunda caixinha de alumínio e depois pesou-se a placa com as 2 pipetas vazias obtendo-se o valor da massa m_3 e levou-se as caixas para a estufa a 105°C durante duas horas para eliminar a humidade.

As caixinhas de alumínio são pesadas antes de receberem as soluções de leite, obtendo-se m_{ca1} e m_{ca2} .

Passadas duas horas, tirou-se as caixas da estufa, deixou-se arrefecer durante 2 minutos, pesou-se e efectuou-se os respectivos cálculos.

$$\%S.T = \frac{3.(m_{cd1} - m_{ca1})}{m_1 - m_2} \quad (1)$$

m_{ca1} – massa da primeira da caixa de alumínio depois da secagem

m_{ca2} – massa da primeira da caixa de alumínio antes da secagem

m_1 – massa da placa com 2 pipetas cheias

m_2 – massa da placa com 1 das pipetas vazia

3 – constante das caixas

$$\%S.T = \frac{3.(m_{cd2} - m_{ca2})}{m_2 - m_3} \quad (2)$$

m_{ca2} – massa da segunda caixa de alumínio antes da secagem

m_{cd2} – massa da segunda caixa de alumínio depois da secagem

m_2 – massa da placa com 1 das pipetas vazia

m_3 – massa da placa com 2 pipetas vazias

A percentagem dos sólidos totais é obtida pela média aritmética dos resultados obtidos em cada caixa.

A margem do erro não pode exceder 0,3 unidades.

4.1.2 Extracção da gordura

Pipetou-se 5 ml de leite e adicionou-se 10 ml de água destilada quente, agitou-se a mistura;

De seguida adicionou-se 2,5 ml de amónia, NH_3 a 20%, 10 ml de etanol, agitou-se a mistura;

Adicionou-se 25 ml de éter dietílico e agitou-se de novo a mistura;

Adicionou-se 25 ml de éter petróleo e introduziu-se 3 gotas de fenolftaleína, agitou-se veementemente a mistura de modo a extrair bem a gordura. Repousou-se a mistura durante 30 minutos para que seja nítida a separação das fases orgânica e aquosa. A parte aquosa é rosa devido ao indicador adicionado e fica no fundo da ampola, a parte orgânica (gordurosa) é transparente.

Após 30 minutos, transferiu-se a parte orgânica para uma caixa de alumínio previamente pesada, colocou-se a caixa com conteúdo no banho-maria, de modo a evaporar o álcool ficando só a gordura.

Repete-se o procedimento, sem precisar de adicionar amónia e reduz-se o etanol para 5 ml em vez de 10 ml que havia sido adicionado da primeira vez.

Depois da evaporação do álcool na segunda extracção da gordura, transferiu-se a caixa de alumínio para a estufa de modo a completar a evaporação do álcool, durante 15 minutos e, passados 15 minutos, transferiu-se a placa para o exsiccador de modo a eliminar a humidade que por qualquer eventualidade possa estar na placa, durante 5 minutos.

A amostra é tratada com amónia e álcool para hidrolisar a ligação proteína-gordura. A gordura separada é extraída com éter dietílico e éter petróleo. O álcool precipita a proteína que é dissolvida na amónia e a gordura separada pode ser extraída com éter.

Finalmente, pesou-se a placa numa balança e determinou-se o teor de gordura usando a fórmula:

$$\%Gordura = \frac{m_{gordura}}{m_{leite}} \cdot 100 \quad (3)$$

onde:

$$m_{gordura} = m_{cx+gordura} - m_{cxvazia}$$

$$m_{leite} = m_{placa+pipetacomleite} - m_{placa+pipetavazia}$$

4.1.3 Teor de Sacarose

Pesou-se num copo de precipitação 16,5g da amostra de leite e adicionou-se um pouco de água destilada de modo a diluir o leite mexendo-se com ajuda de vareta de modo a facilitar a transferência para o balão de 200 ml e adicionou-se 2,5 ml de NH₃ a 7%, deixou-se a mistura em repouso durante 20 minutos;

Após 20 minutos, juntou -se:

10 ml de acetato de cobre a 3,2%

5 ml de ácido acético a 25%

10 ml da suspensão de hidróxido de alumínio, misturando-se vigorosamente depois de cada adição.

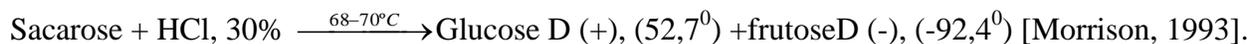
De seguida, perpez-se o volume com água destilada e deixou-se a solução repousar durante 20 minutos a 20°C.

Filtrou-se a mistura usando funil e dois papéis de filtro. Filtrou-se 20 ml para uma proveta graduada e o resto para um balão de 200 ml.

Pipetou-se 50 ml da solução filtrada para um balão volumétrico de 100 ml (P₂) e no mesmo adicionou-se HCl a 30%.

Levou-se a solução P₂ ao banho-maria, e faz-se a inversão da sacarose a uma temperatura de 68-70°C durante 10 minutos.

A inversão da sacarose é uma reacção que ocorre na presença do ácido clorídrico diluído (podendo ocorrer na presença de outros ácidos ou enzima invertase), obtendo-se quantidades iguais de glucose D (+) e de frutose D (-). A hidrólise é acompanhada de mudança de sinal de rotação, de positivo para negativo, obtendo-se uma mistura de glucose D (+) e de frutose D (-), descrito pela equação:



De seguida arrefeceu-se o balão rapidamente com água fria, até à temperatura ambiente, isto é, à temperatura da solução P₁;

Lavou-se os dois sacarímetros com as respectivas soluções e por fim introduziu-se as soluções em cada sacarímetro;

Ligou-se o polarímetro e deixou-se aquecer a lâmpada (a lâmpada muda de cor rosa para laranja) e fez-se a leitura das soluções P₁ e P₂.

Para fazer a leitura, colocou-se um dos sacarímetros no polarímetro e observou-se através do visor duas cores, girou-se rapidamente a alavanca com prisma analisador a partir de zero, para direita e para esquerda, e fazendo-o retornar lentamente à posição em que o campo é uniforme;

São feitas 4 leituras e o valor de P₁ é encontrado fazendo a média aritmética das 4 leituras. Do mesmo modo encontra-se o valor correspondente a P₂.

Finalmente, determinou-se o valor do teor de sacarose no leite com ajuda da fórmula:

$$\%S = \frac{[P_1 + (1,1.P_2)].1017,5}{156 - \frac{1}{2}(\frac{T_1 + T_2}{2})} - K \quad (4)$$

onde:

P₁- polaridade da solução sem HCl

P₂- polaridade da solução com HCl

T₁- temperatura da solução sem HCl

T₂- temperatura da solução com HCl

K- constante para o leite condensado açucarado e é teoricamente igual a 0,19

4.1.4 Refracção e viscosidade

Os valores da viscosidade e da refracção são obtidos por leitura directa no viscosímetro e refractómetro respectivamente. Para medir a viscosidade basta apenas colocar um recipiente com leite, a 20°C no viscosímetro, ligar e deixar girar uma volta inteira.

A volta é controlada pelo ponteiro vermelho no viscosímetro. Quando o ponteiro aparece pela segunda vez, trava-se o viscosímetro e faz-se a leitura da viscosidade, na recta graduada do viscosímetro. O valor lido é multiplicado por 200. Para a refracção, basta colocar uma pequena porção do leite e tirar a leitura na recta graduada do refractómetro.

4.2 Parte Microbiológica

Na Protal-Produtos Alimentares realizam-se dois tipos de análise microbiológica no leite condensado, contagem total de Bactérias e contagem de Staphylacocus

4.2.1 Contagem total de Bactérias

Retirada a solução de PCA do banho-maria, introduziu-se nas placas plásticas contendo uma tampa e deixou-se arrefecer e tornando-se sólida.

A sala foi previamente desinfectada com etanol de modo a evitar qualquer contaminação da solução reagente; a desinfecção consistiu no humedecimento de algodão com álcool e passagem do algodão por cima da bancada.

Antes de iniciar as análises, as mãos e as amostras a serem analisadas são desinfectadas; as mãos são esterilizadas com álcool e depois de passar o algodão com etanol por cima das amostras, passa-se a chama do bico de bunsen.

Depois de desinfectar o material envolvido na análise, abriu-se a tampa da amostra, mergulhou-se o Burri Loop (metal usado para tirar o leite dos recipientes, na análise microbiológica) em diferentes pontos do leite, retirou-se o Burri Loop contendo leite e traçou-se uma linha vertical suave numa das metades da placa; por cima da linha traçada, espalha-se o leite fazendo um zig-zag com o Burri Loop. O processo é feito nas duas metades da placa. O procedimento é usado para todas as amostras onde se pretende fazer a contagem total de bactérias no leite.

Terminado o processo, as placas foram guardadas na estufa a 36⁰C durante 2 dias. Passados dois dias, retirou-se as placas para proceder com a contagem de número total de colónias existentes no leite e multiplicou-se por 100 para obter o número total de cocôs por grama de amostra. Caso não haja nenhuma colónia, regista-se <100/gr de amostra. Se o número total de colónias for > 30, regista-se o resultado como sendo > 3000/gr de amostra.

4.2.2 Contagem de Staphylacocus

Para contagem de Staphylacocus no leite, pipetou-se 1 ml de amostra, introduziu-se na solução diluente (preparada anteriormente), agitou-se a mistura com um agitador eléctrico. Pipetou-se 0,1 ml da mistura para uma placa e espalhou-se por toda a solução de BPM seca.

O procedimento foi o mesmo para todas as amostras em análise. As placas são codificadas segundo os códigos de amostras.

As placas são guardadas durante dois dias na estufa a 38⁰C para posterior leitura de resultados. A leitura obedeceu aos mesmos critérios como na contagem de bactérias.

4.3 Parte Organoléptica

Para determinação dos dados organolépticos, a Protal usa o método directo que consiste em uso do olho nú para notar a mudança ou não de aspecto e a presença de depósitos e provar do paladar.

5. Análise e Discussão de Resultados

A análise e discussão de resultados foi feita com base nos dados obtidos durante os ensaios tecnológicos, tendo sido feitos cálculos de algumas variáveis (média de réplicas \bar{x} , percentagem do desvio padrão relativo %RSD; intervalo de confiança IC) e com ajuda do teste ANOVA unimodal para avaliar o grau de contribuição dos factores tempo e/ou temperatura de conservação do leite na prateleira na variação dos parâmetros físico-químicos. A base de funcionamento dos testes e cálculos feitos, constam em anexos. Os testes foram feitos a nível de confiança de 95%.

5.1 Amostras de 6 meses conservadas a 25 e 30°C

Na tabela 6 estão apresentados resultados da determinação dos parâmetros da parte físico-química das amostras de leite pronto (A, B, C) e de 6 meses conservadas a 25 °C (A₂₅,B₂₅,C₂₅) com os respectivos intervalos de confiança.

Tabela 6. Amostras de leite pronto (A,B,C) e de 6 meses conservadas a 25 °C (A₂₅,B₂₅,C₂₅)

Parte Físico-química						
Parâmetro	A	A ₂₅	B	B ₂₅	C	C ₂₅
Viscosidade (cP)	3500	2300±20	2400	4000±28	3100	3800±483
Refracção (Bx)	70,6	69.8±0.6	69	69.4±1.0	71	72±1
Sólidos Totais (%)	71	72.9±2	69,30	71.5±1.6	72,6	73.2±0.9
Gordura (%)	7,2	7.9±0.4	7,40	7.4±1.6	7,3	7.8±0.5
Sacarose (%)	47,1	47.4±0.8	47,4	46.7±2.2	46,6	47.0±0.7

Neste ensaio, os dados experimentais mostram que os parâmetros físico-químicos na maioria dos casos tendem a aumentar apesar de a variação ser pequena excepto os valores da viscosidade para as amostras B e C.

Os valores da viscosidade e da refração para as amostras A e A₂₅ não vão de encontro com o que era de esperar pois com o tempo e temperatura de conservação nota-se um decréscimo.

Os valores da gordura não se encontram dentro dos parâmetros exigidos (8-8,3%), dado que no período a empresa tinha variado a qualidade fabricando o leite magro; leite com teor de gordura relativamente baixo.

Os valores da sacarose do leite pronto A, B, C, e o valor dos sólidos totais para as amostras A e B, estão fora dos valores estabelecidos pela ISO-9000 sendo que os valores da sacarose são ligeiramente alto e os dos sólidos totais ligeiramente baixo (a empresa não ofereceu intervalos de confiança).

Apesar de todas variações verificadas, os dados ainda se apresentam dentro dos padrões exigidos pela ISO-9000 e cumpridos pela fábrica.

Na tabela 7 estão apresentados resultados da parte microbiológica das amostras de leite pronto (A, B,C) e de 6 meses conservadas a 25 °C (A₂₅,B₂₅,C₂₅).

Tabela 7: Amostras de leite pronto (A,B,C) e de 6 meses conservadas a 25 °C (A₂₅,B₂₅,C₂₅)

Parte Microbiológica						
Parâmetro	A	A ₂₅	B	B ₂₅	C	C ₂₅
PCA	<100	100	300	300	100	100
BPM	<100	<100	200	300	100	<100

A contagem de Bactérias e Staphylacocus, (tabela 7) tem como tendência manter-se apesar de uma ligeira variação o que faz acreditar que pode ter sido provocada pelo meio durante as análises.

Na tabela 8 estão apresentados resultados da determinação dos parâmetros organolépticos das amostras de leite de 6 meses conservadas a 25 °C (A₂₅,B₂₅,C₂₅).

Tabela 8: Amostras do leite de 6 meses conservadas a 25 °C (A₂₅,B₂₅,C₂₅)

Parte Organoléptica			
Parâmetro	A ₂₅	B ₂₅	C ₂₅
Paladar	Agradável	Agradável	Agradável
Depósito	Ausência	Ausência	Ausência
Aspecto	Bom	Bom	Bom

Os dados organolépticos mostram que não se verifica nenhuma variação para o leite de 6 meses conservado a 25°C quanto ao aspecto, paladar assim como presença ou não de depósitos.

Na tabela 9 estão apresentados resultados da determinação dos parâmetros da parte físico-química das amostras de leite pronto (A,B,C) e de 6 meses conservadas a 30°C (A₃₀,B₃₀,C₃₀) com os respectivos intervalos de confiança.

Tabela 9: Amostras de leite pronto (A,B,C) e de 6 meses conservadas a 30 °C (A₃₀,B₃₀,C₃₀)

Parte Físico-química						
Parâmetro	A	A ₃₀	B	B ₃₀	C	C ₃₀
Viscosidade (cP)	3400	3500.00±29.30	2400	3200.00±23.90	3100	4200.00±36.70
Refracção (Bx)	71	71.40±1.24	69	69.40±1.70	71	71.20±0.70
Sólidos Totais (%)	73	73.20±0.55	72	67.03±2.30	73	74.50±1.84
Gordura (%)	7	7.00±0.30	7	7.47±0.30	7	7.81±0.12
Sacarose (%)	47	47.40±1.39	47	46.70±1.30	47	46.90±0.65

Para o leite de 6 meses conservado a 30°C, os valores da tabela mostram um crescimento apesar de insignificante, o que faz com que não fujam dos parâmetros normais estabelecidos internacionalmente e cumpridas pela Fábrica apesar de que os dados da gordura não cumprirem com os mesmos o que pode ser justificado pelo tipo de leite que a Protal esteve a produzir na altura: leite magro.

Na tabela 10 estão apresentados resultados da determinação dos parâmetros da parte microbiológica das amostras de leite pronto (A,B,C) e de 6 meses conservadas a 30⁰C (A₃₀,B₃₀,C₃₀).

Tabela 10: Amostras de leite pronto (A,B,C) e de 6 meses conservadas a 30⁰C (A₃₀,B₃₀,C₃₀)

Parte Microbiológica						
Parâmetro	A	A ₃₀	B	B ₃₀	C	C ₃₀
PCA	700	1300	<100	100	100	>30000
BPM	<100	<100	<100	<100	200	100

Segundo dados da tabela, nota-se um crescimento de número de colónias para contagem total de bactérias, tendo sido exagerado para as amostras A₃₀ e C₃₀. Apesar deste aumento, não é suficiente para se afirmar que o leite esteja contaminado.

Talvez o manuseamento ou as placas podem ter contribuído para a explosão do número de bactérias.

Na tabela 11 estão apresentados resultados da determinação dos parâmetros organolépticos das amostras de leite de 6 meses conservadas a 30⁰C (A₃₀,B₃₀,C₃₀).

Tabela 11: Amostras de leite de 6 meses conservadas a 30⁰C (A₃₀,B₃₀,C₃₀)

Parte Organoléptica			
Parâmetro	A ₃₀	B ₃₀	C ₃₀
Paladar	Agradável	Agradável	Agradável
Depósito	Ausência	Ausência	Ausência
Aspecto	Acastanhado	Acastanhado	Acastanhado

Para os parâmetros organolépticos, apesar de o paladar continuar agradável e a ausência de depósitos, o leite começa a mudar de aspecto variando de coloração creme para uma cor creme-acastanhada.

5.2 Amostras de 9 meses conservadas a 25 e 30°C

Na tabela 12 estão apresentados resultados da determinação dos parâmetros da parte físico-química das amostras de leite pronto (X,Y,Z) e de 9 meses conservadas a 25⁰C (X₂₅,Y₂₅,Z₂₅) com os respectivos intervalos de confiança.

Tabela 12: Amostras de leite pronto (X,Y,Z) e de 9 meses conservadas a 25 ⁰C (X₂₅,Y₂₅,Z₂₅)

Parte Físico-química						
Parâmetro	X	X ₂₅	Y	Y ₂₅	Z	Z ₂₅
Viscosidade (cP)	4000	11300.00 ±30.09	3800	13500.00 ±28.95	4600	15200.00±24.88
Refracção (Bx)	70	70.00 ±2.38	70	69.60±0.74	71	69.00 ±0.97
Sólidos Totais (%)	72	70.90 ±1.04	73	69.50±1.73	72	71.40 ±1.34
Gordura (%)	9	9.33 ±0.07	9	9.20±0.42	9	8.85 ±0.47
Sacarose (%)	46	46.62 ±0.50	46	46.57 ±1.04	47	46.40 ±0.99

Neste ensaio, nota-se que os valores da viscosidade aumentaram de uma forma significativa, Os valores de índice de refração tendem a decrescer apesar de nas amostras X e X₂₅ se terem mantido.

Os sólidos totais e a gordura também tendem a decrescer o que se pode justificar pelas transformações do conteúdo gorduroso e a matéria seca por meio de reacções de Maillard que possivelmente possam ter ocorrido.

O teor de gordura mesmo no leite pronto X, Y, Z, é maior em relação aos parâmetros normais o que é justificado pelo facto de a empresa estar a produzir o leite gordo na altura.

O teor de sacarose tende a crescer excepto para as experiências Z e Z₂₅ em que houve um decrescimento. O facto pode ser justificado pela escolha de uma amostra proveniente de um “batch” onde o teor da sacarose era relativamente baixo.

Na tabela 13 estão apresentados resultados da parte microbiológica das amostras de leite pronto (X, Y,Z) e de 9 meses conservadas a 25 °C (X₂₅,Y₂₅,Z₂₅).

Tabela 13: Amostras de leite pronto (X, Y, Z) e de 9 meses conservadas a 25°C (X₂₅,Y₂₅,Z₂₅)

Parte Microbiológica						
Parâmetro	X	X ₂₅	Y	Y ₂₅	Z	Z ₂₅
PCA	200	500	100	<100	300	1400
BPM	<100	<100	<100	<100	100	1500

No ensaio, nota-se o crescimento do número de colónias das bactérias para as amostras X₂₅ e Z₂₅ , o mesmo não acontecendo para a análise da bactéria específica: Staphylacocus para X₂₅. Esta explosão de número de bactérias pode ser mesmo da amostra escolhida para a análise pois tanto para o número total de bactérias assim como para as bactérias específicas, o número aumentou significativamente.

Na tabela 14 estão apresentados resultados da determinação dos parâmetros organolépticos das amostras de leite de 9 meses conservadas a 25°C (X₂₅,Y₂₅,Z₂₅).

Tabela 14: Amostras de leite de 9 meses conservadas a 25°C (X₂₅,Y₂₅,Z₂₅)

Parte Organoléptica			
Parâmetro	X ₂₅	Y ₂₅	Z ₂₅
Paladar	Normal	Normal	Normal
Depósito	Ausência	Ausência	Ausência
Aspecto	Castanho	Castanho	Castanho

Para este ensaio, o paladar começa a alterar e o leite toma uma coloração mais escura apesar de ainda não existir nenhum depósito na lata. O leite fica mais denso o que dá a possibilidade de as transformações ocorrerem com a desidratação. Dado que a caseína é o componente importante na coloração do leite, espera-se a possibilidade de estar a sofrer transformações.

Na tabela 15 estão apresentados resultados da determinação dos parâmetros da parte físico-química das amostras de leite pronto (X,Y,Z) e de 9 meses conservadas a 30°C (X₃₀,Y₃₀,Z₃₀) com os respectivos intervalos de confiança.

Tabela 15: Amostras de leite pronto (X,Y,Z) e de 9 meses conservadas a 30°C (X₃₀,Y₃₀,Z₃₀)

Parte Físico-química						
Parâmetro	X	X ₃₀	Y	Y ₃₀	Z	Z ₃₀
Viscosidade (cP)	4000	14200.00±26.90	3800	14400.00±31.00	4600	20000±27.00
Refracção (Bx)	70	70.00±0.10	70	70.00±1.90	71	70.00±2.30
Sólidos Totais (%)	72	71.27±2.00	73	72.32±5.10	72	71.11±2.60
Gordura (%)	9	9.57±1.30	9	8.76±1.10	9	8.71±0.10
Sacarose (%)	46	46.60±1.50	46	46.60±2.30	47	45.50±2.60

Neste ensaio, igualmente com os dados do ensaio do leite conservado a 25°C, os valores da viscosidade tendem a aumentar, deixando muito longe os parâmetros da ISO-9000.

Os valores da refração tendem a equilibrar-se.

O teor dos sólidos totais tende a decrescer mas sem tanto fugir dos parâmetros exigidos.

Na tabela 16 estão apresentados resultados da parte microbiológica das amostras de leite pronto (X, Y,Z) e de 9 meses conservadas a 30°C (X₃₀,Y₃₀,Z₃₀).

Tabela 16: Amostras de leite pronto (X,Y,Z) e de 9 meses conservadas a 30°C (X₃₀,Y₃₀,Z₃₀).

Parte Microbiológica						
Parâmetro	X	X ₃₀	Y	Y ₃₀	Z	Z ₃₀
PCA	100	100	100	<100	<100	100
BPM	<100	<100	<100	<100	<100	<100

Apesar do mau aspecto apresentado pelo leite, quase não se nota a variação significativa do número total de bactéria nem das bactérias específicas, podendo existir bactérias mas não do meio de cultivo usado pela empresa para sua análise.

Na tabela 17 estão apresentados resultados da determinação dos parâmetros organolépticos das amostras de leite de 9 meses conservadas a 30°C (X₃₀,Y₃₀,Z₃₀).

Tabela 17: Amostras de leite de 9 meses conservadas a 30°C (X₃₀, Y₃₀, Z₃₀)

Parte Organoléptica			
Parâmetro	X ₃₀	Y ₃₀	Z ₃₀
Paladar	Não Agradável	Não Agradável	Não Agradável
Depósito	Ausência	Presença	Presença
Aspecto	Castanho-escuro	Castanho-escuro	Castanho-escuro

Apesar da ausência de depósito para a amostra X₃₀ o leite de 9 meses conservado a 30°C apresenta mau aspecto e sabor não agradável. Toma uma cor castanha-escuro e nota-se a presença de depósitos. A cor castanha do leite é devido à reacção de tostamento que se apresenta na fase crítica.

O gráfico 1 ilustra a variação dos parâmetros físico – químicos do leite conservado a 25°C em função do tempo.

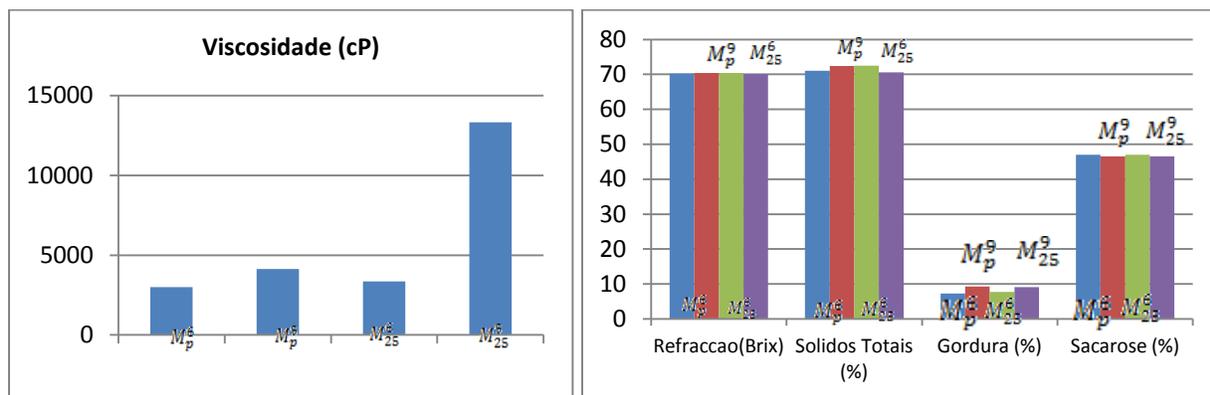


Gráfico 1: Parâmetros físico-químicos de leite pronto e de 6 e 9 meses conservado a 25°C

Mantendo a temperatura de conservação e variando o tempo, é possível notar o aumento dos valores de viscosidade para o leite de 9 meses podendo-se afirmar que o tempo é um dos factores para o aumento da viscosidade.

Para os outros parâmetros, nota-se que o tempo não é muito influente para a sua variação pois a média de variação aproxima-se a unidade para as amostras de 6 assim como para as de 9 meses.

A tabela 18 mostra os valores do factor de variação dos parâmetros físico-químicos do leite conservado a 25 °C com o tempo de conservação (6 e 9 meses).

Tabela 18: Factor calculado e crítico da variação da viscosidade do leite conservado a 25 °C em função do tempo de conservação (6 e 9 meses)

Parâmetro	F _{calculado}	F _{crítico}
Viscosidade (cP)	4.01	7.71

Segundo a tabela dos valores correspondentes aos factores de variação apresentados verifica-se que $F_{cal} < F_{crit}$ então as medias da viscosidade não diferem significativamente, ou seja, o tempo de conservação não influi significativamente na variação dos valores da viscosidade.

Pode-se notar que para o leite conservado a 25°C, os valores correspondentes a parâmetros físico-químicos ainda apresentam uma aceitabilidade pois mesmo para viscosidade que teve uma variação significativa, o valor do factor de variação calculado é menor que o valor do factor de variação crítico (tabelados).

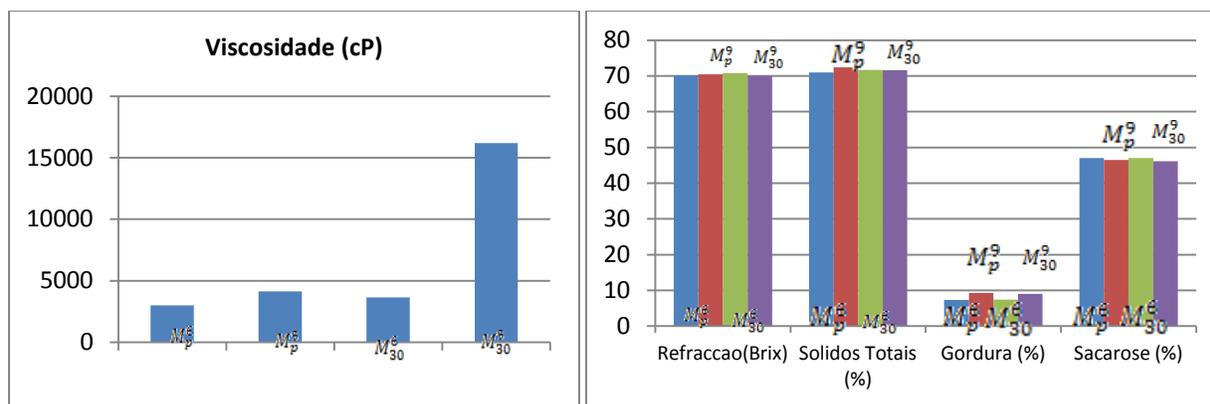


Gráfico 2: Parâmetros físico-químicos de leite pronto e de 6 e 9 meses conservado a 30 °C

Segundo o gráfico 2, mesmo com a variação do tempo e mantendo-se a temperatura de conservação, o tempo de conservação continua influenciando na variação dos valores da viscosidade apesar de que a temperatura tem um contributo maior se compararmos com os dados das amostras do mesmo tempo de prateleira e conservadas a 25°C notando-se uma ligeira subida dos valores da viscosidade.

No ensaio, os valores referentes à refração, teores de sólidos totais, gordura e sacarose tiveram uma variação também insignificante não superando a variação média de 1 unidade por cada parâmetro.

A tabela 19 mostra os valores dos factores da variação da viscosidade do leite conservado a 30°C com o tempo de conservação (6 e 9 meses).

Tabela 19: Factor calculado e crítico da variação da viscosidade do leite conservado a 30 °C em função do tempo de conservação (6 e 9 meses).

Parâmetro	F _{calculado}	F _{crítico}
Viscosidade (cP)	0.00	7.71

Para este ensaio, a tabela dos factores de variação mostram que o tempo de conservação não é o maior responsável pela variação da viscosidade pois observando para valor do factor de variação calculado, está muito longe do valor do factor de variação crítico.

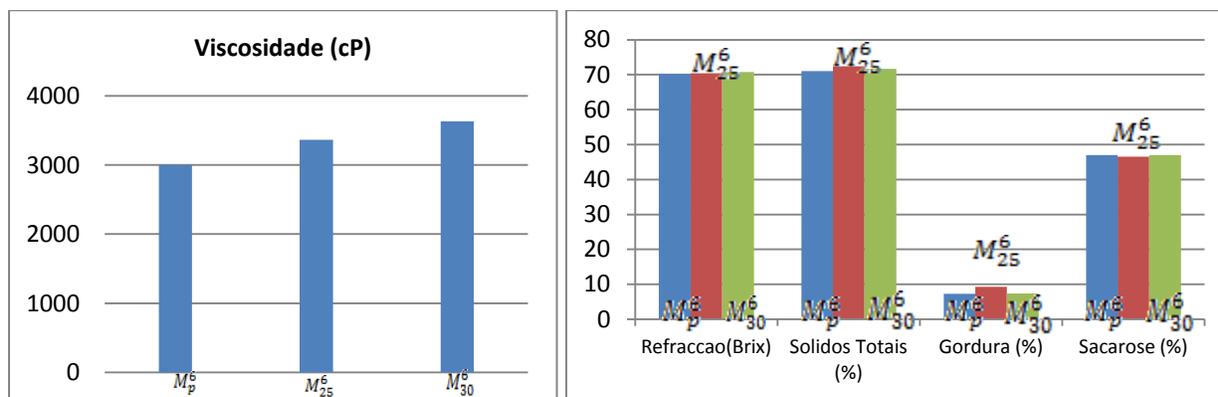


Gráfico 3: Parâmetros físico-químicos de leite pronto e de 6 meses conservado a 25 °C e 30 °C

Para o leite de 6 meses, a diferença de 5°C para conservação na prateleira não é suficiente para variação significativa dos parâmetros físico-químicos sendo que estes quase não fogem dos parâmetros exigidos pela ISO-9000.

A tabela 20 mostra os valores dos factores de variação da viscosidade do leite de 6 meses com a temperatura (25 e 30 °C).

Tabela 20: Factor calculado e crítico da variação da viscosidade do leite de 6 meses em função da temperatura de conservação (25 e 30 °C).

Parâmetro	F _{calculado}	F _{crítico}
Viscosidade (cP)	60.07	7.71

Para o leite de 6 meses apesar de ainda se conservarem os padrões dos parâmetros físico-químicos, tendo em conta os valores dos factores críticos e calculados (segundo a tabela 20) nota-se uma subida significativa do valor do factor de variação da viscosidade calculado em comparação com os valores dos factores de variação calculados quando o factor em análise era o tempo de conservação.

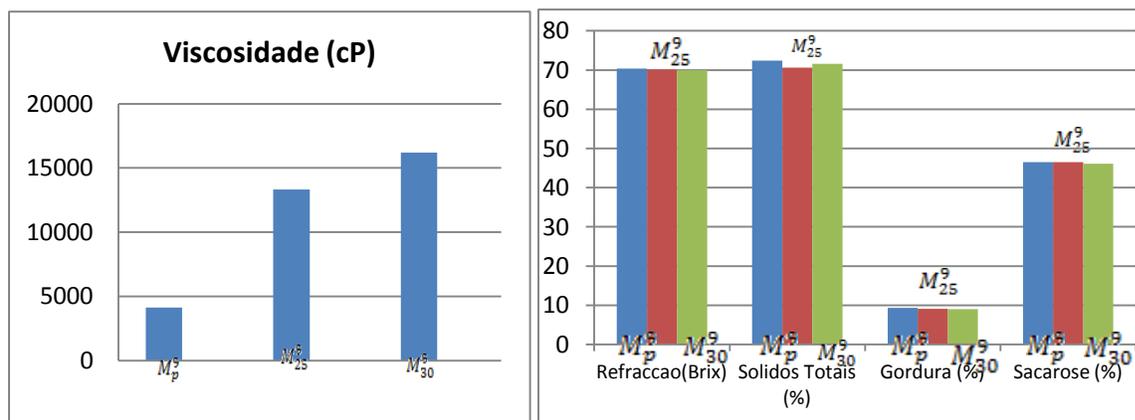


Gráfico 4: Parâmetros físico-químicos de leite pronto e de 9 meses conservado a 25 °C e 30 °C

Segundo o gráfico 4, os valores da viscosidade fogem muito dos estabelecidos pela ISO-9000. Com aumento da temperatura, o leite aumenta a viscosidade devido às reacções de caramelização, tostamento e de Maillard. Para os outros parâmetros, a variação com a temperatura é insignificante.

A tabela 21 mostra os valores do factor de variação dos parâmetros físico-químicos do leite de 9 meses com a temperatura (25 e 30 °C).

Tabela 21: Factor calculado e crítico da variação da viscosidade do leite de 9 meses em função da temperatura de conservação (25 e 30 °C).

Parâmetro	F _{calculado}	F _{crítico}
Viscosidade (cP)	538605.77	7.71

Com base na tabela 21, é notável que a variação da temperatura de conservação influencia muito para o aumento do valor da viscosidade do leite, pois mesmo para o de 6 meses o valor do factor de variação já era maior apesar de ainda ser aceitável dado que ainda não superava o valor do factor de variação crítico. Para o leite de 9 meses, o valor do factor calculado aumenta de uma forma significativa em relação ao valor crítico, o que se presume que o aumento da temperatura tenha contribuído em grande para o aumento do valor elevado da viscosidade para o leite de 9 meses.

Nas tabelas 22, 23, 24, 25 estão apresentados resultados da determinação dos parâmetros microbiológicos das amostras de leite pronto e de 6 e 9 meses conservadas a 25 e 30 °C.

Tabela 22: Amostras de leite pronto e de 6 meses conservadas a 25 e 30°C

Amostras de 6 meses									
Parâmetro	A	B	C	A ₂₅	B ₂₅	C ₂₅	A ₃₀	B ₃₀	C ₃₀
PCA	<100	300	100	100	300	100	1300	100	>30000
BPM	<100	200	100	<100	300	<100	<100	<100	100

Tabela 23: Amostras de leite pronto e de 9 meses conservadas a 25 e 30°C

Amostras de 9 meses									
Parâmetro	X	Y	Z	X ₂₅	Y ₂₅	Z ₂₅	X ₃₀	Y ₃₀	Z ₃₀
PCA	100	100	<100	500	<100	1400	100	<100	100
BPM	<100	<100	<100	<100	<100	1500	<100	<100	<100

Tabela 24: Amostras de leite pronto e de 6 e 9 meses conservadas a 25°C

Parâmetro	Amostras de 6 meses						Amostras de 9 meses					
	A	B	C	A ₂₅	B ₂₅	C ₂₅	X	Y	Z	X ₂₅	Y ₂₅	Z ₂₅
PCA	<100	300	100	100	300	100	100	100	<100	500	<100	1400
BPM	<100	200	100	<100	300	<100	<100	<100	<100	<100	<100	1500

Tabela 25: Amostras de leite pronto e de 6 e 9 meses conservadas a 30 °C

Parâmetro	Amostras de 6 meses						Amostras de 9 meses					
	A	B	C	A ₃₀	B ₃₀	C ₃₀	X	Y	Z	X ₃₀	Y ₃₀	Z ₃₀
PCA	<100	100	100	1300	100	>30000	200	100	300	100	<100	100
BPM	<100	<100	100	<100	<100	100	<100	<100	100	<100	<100	<100

A contagem de bactérias (na solução PCA) mostra uma oscilação, sendo difícil uma leitura conjunta. Este campo de cultivo de bactérias é muito sensível sendo em muitos casos aceites os valores constantes nas tabelas. Os valores de A₃₀, C₃₀, X₂₅, Z₂₅ apresentam-se muito altos sendo que divergem com aquilo que é o comportamento dos dados das outras amostras.

Os valores obtidos na contagem de Bactérias e Staphylacocus são aceites excepto para algumas no caso de A₃₀, C₃₀, X₂₅, Z₂₅ em que a contagem é alta.

Atento às tabelas 22, 23, 24, 25, é possível notar que a temperatura e o período de conservação pouco influenciam no aumento de Bactérias e Staphylacocus no leite. O estado inicial (higiene durante a produção) é muito preponderante para presença de bactérias no leite.

Nas tabelas 26, 27, 28, 29 estão apresentados resultados da determinação dos parâmetros organolépticos das amostras de leite de 6 e 9 meses conservadas a 25°C e 30°C.

Tabela 26: Amostras de leite de 6 meses conservadas a 25 e 30 °C

Amostras de 6 meses						
Parâmetro	A ₂₅	B ₂₅	C ₂₅	A ₃₀	B ₃₀	C ₃₀
Paladar	Agradável	Agradável	Agradável	Agradável	Agradável	Agradável
Depósito	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência
Aspecto	Bom	Bom	Bom	Acastanhado	Acastanhado	Acastanhado

No presente ensaio (tabela 26), todos os parâmetros organolépticos estão dentro dos parâmetros estabelecidos pelas ISO-9000, apesar de que as amostras conservadas a 30°C começam a mudar de cor creme para creme acastanhado. Assim pode-se notar que a alta temperatura de conservação contribui para a mudança do aspecto do leite.

Tabela 27: Amostras de leite de 9 meses conservadas a 25 e 30 °C

Amostras de 9 meses						
Parâmetro	X ₂₅	Y ₂₅	Z ₂₅	X ₃₀	Y ₃₀	Z ₃₀
Paladar	Normal	Normal	Normal	Não Agradável	Não Agradável	Não Agradável
Depósito	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência	Presença	Presença
Aspecto	Castanho	Castanho	Castanho	Castanho-escuro	Castanho-escuro	Castanho-escuro

No presente ensaio (tabela 27), as amostras de 9 meses conservadas à 25°C apresentam sabor normal e é notória a ausência de depósitos apesar de a cor ter passado de creme para castanha e com o aumento da temperatura para castanha-escuro (amostras conservadas a 30°C).

Para amostras conservadas a 30°C, além da mudança da coloração nota-se a presença de depósitos acompanhados de um sabor desagradável.

Neste ensaio, pode-se dizer que o aumento da temperatura de conservação do leite influencia negativamente na mudança dos aspectos organolépticos.

Tabela 28: Amostras de leite de 6 e 9 meses conservadas a 25 °C

Amostras de 6 meses				Amostras de 9 meses		
Parâmetro	A ₂₅	B ₂₅	C ₂₅	X ₂₅	Y ₂₅	Z ₂₅
Paladar	Agradável	Agradável	Agradável	Normal	Normal	Normal
Depósito	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência
Aspecto	Bom	Bom	Bom	Castanho	Castanho	Castanho

Neste ensaio (tabela 28), as amostras de 6 meses apresentam os parâmetros organolépticos dentro dos padrões; um sabor agradável, ausência de depósito e bom aspecto.

As amostras de 9 meses conservadas à mesma temperatura (25°C), começam a apresentar má aparência mudando de coloração para castanho. Apesar de ausência de depósito o sabor começa a mudar.

Para este ensaio (tabela 28), pode-se concluir que o tempo de prateleira é um dos elementos que muito influencia para a variação dos parâmetros organolépticos.

Tabela 29: Amostras de leite de 6 e 9 meses conservadas a 30 °C

Parâmetro	Amostras de 6 meses			Amostras de 9 meses		
	A ₃₀	B ₃₀	C ₃₀	X ₃₀	Y ₃₀	Z ₃₀
Paladar	Agradável	Agradável	Agradável	Não Agradável	Não Agradável	Não Agradável
Depósito	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência	Presença	Presença
Aspecto	Acastanhado	Acastanhado	Acastanhado	Castanho-escuro	Castanho-escuro	Castanho-escuro

Dos ensaios da tabela 29, as amostras de 6 meses devido à temperatura de prateleira (30°C) apresentam uma coloração acastanhada, permanecendo um sabor agradável acompanhado de ausência de depósito.

Nas amostras de 9 meses conservadas a mesma temperatura (30°C) a situação é crítica. A cor das amostras torna-se escura e é notável a presença de depósitos. O sabor é essencialmente desagradável.

Neste ensaio, pode-se afirmar que além do tempo de prateleira, a temperatura é um dos factores que mais contribuiu para a mudança dos aspectos organolépticos nas amostras.

6. Conclusões e Recomendações

6.1 Conclusões

De acordo com os resultados obtidos concluiu-se o seguinte:

Para amostras de 6 meses

Os parâmetros físico-químicos mostram-se oscilantes durante os ensaios mas sem fugir dos padrões da ISO-9000.

Os valores da viscosidade tendem a aumentar mas de forma insignificante o que faz com que não fujam dos padrões. Este aumento é promovido pelas reacções de Maillard e de tostamento;

A presença de bactérias depende do estado inicial da população bacteriana presente no leite pronto. Para o leite pronto com população bacteriana abaixo de uma colónia independentemente do período e temperaturas de conservação a presença de bactérias do meio de cultivo usado na Protal é quase desprezível;

O aumento da temperatura de conservação (25 para 30°C) acelera a alteração das propriedades organolépticas com muita incidência para a coloração do leite dado que este, com o tempo tende a tomar a coloração castanha promovido pelas reacções de caramelização;

O leite de 6 meses conservado a temperaturas de 25 ou 30°C apresenta um bom aspecto com a variação insignificante dos parâmetros em estudo em comparação com os dados do leite pronto razão pela qual pode-se considerar bom para o consumo.

Para amostras de 9 meses

Os parâmetros físico-químicos apresentam uma oscilação desprezível comparados com os valores dos padrões excepto para os valores da viscosidade que com o aumento do tempo e da temperatura de conservação continuam elevados, tomando uma diferença maior comparados com os padrões.

Para amostras com número inicial de bactérias quase nula, o tempo e a temperatura de conservação não contribuem na variação de número de bactérias do meio de cultivo usado pela fábrica.

Nota-se a mudança de coloração, um paladar desagradável, presença de depósitos sobretudo para as amostras conservadas a 30°C e uma subida significativa de densidade de tal maneira que dificulta mesmo a saída do leite nos recipientes.

A cor castanha e o aumento da viscosidade resulta do processo de tostamento onde ocorre uma reacção de pirólise do carbohidrato (desidratação térmica), de caramelização onde ocorre uma desidratação, condensação e polimerização do carbohidrato e a reacção de Maillard (reacção que ocorre entre o grupo carbonilo do carbohidrato e amino do aminoácido/proteína) que é responsável pela formação de muitos produtos que dão cor acastanhada, distinto paladar e aroma com a formação de acrilamida.

O sabor azedo é também o resultado da transformação da lactose em ácido láctico devido à precipitação irreversível das proteínas (desnaturação) promovida pelo calor;

O leite de 9 meses apresenta altos valores da viscosidade sobretudo quando conservado a 30°C. A este facto associado ao mau estado dos parâmetros organolépticos pode-se considerar o leite de 9 meses não bom para o consumo.

6.2 Recomendações

Tendo em conta que o leite condensado constitui nos últimos anos um produto indispensável para dieta alimentar, à Protal-Produtos Alimentares recomenda-se:

- ✓ Adoptar o novo método para contagem de Bactérias visto que estas são de tamanho minúsculo, e que o olho nú pode não oferecer resultados fiáveis e tendo em conta que estas são em parte a responsável pelo encurtamento da vida do leite na prateleira;

- ✓ Recomendar a temperatura ideal de conservação na prateleira por meio de rótulos dado que é um dos factores essenciais para maior tempo de vida do produto na prateleira;
- ✓ A redução do pH de produção (6,5-6,6 em vez de 6,8-8,2) pois a mudança da coloração do leite e o aumento da viscosidade é promovida pelo pH alcalino que acelera as diversas reações complexas como a de Maillard.
- ✓ A fixação nos rótulos da data do fabrico do produto

Referências Bibliográficas

- ✓ ABREU, L. R. (2000). Tecnologia de Leite e Derivados – Processamento e Controle de Qualidade em Carne, Leite, Ovos e Pescado, Lavras: UFLA/FAEPE, 2000.
- ✓ ABU-JDAYIL, B., MOHAMEED, H.A., EASSA, A. (2004). Rheology of wheat starch-milksugar systems: effect of starch concentration, sugar type and concentration, and milk fat content. *Journal of Food Engineering*, v.64, p.207-212.
- ✓ BEHMER, M.L.A. (1985). Tecnologia do Leite – Produção, Industrialização e Análise, S.P., Nobel.
- ✓ BERTULANI, C.A. (1998). Viscosidade turbulencia e tensao superficial. Preparado para o projecto de ensino de Fisica a Distancia. Acedido aos 18 de fevereiro de 2012 as 10h: 50 min.
- ✓ BOSTON (1986). Chichester, C. O. *Advances in Food Research* (Advances in food and Nutrition)
- ✓ BRASIL (1999). GSTM1 and GSTT1 polymorphism, 35-41, *Trends in Food Science & Technology* 364-373.
- ✓ BRITO, M.A.V.P. (1999) Influência das células somáticas na qualidade do leite. In *Embrapa Gado de Leite*, p. 41-46.
- ✓ CHING KUANG CHOW, (2000) "Fatty Acids in Foods and Tulheiro Health Implications";, CRC Press; ISBN 0-8247-6782-9
- ✓ DE LIMA, S.G.C. (2005). Processamento de leite e derivados. *Fontes Comunicacoes e Editora*. Sao Paulo. P 501-562.
- ✓ DEL CASTILLO S. R. R e MESTRES, L.J. (2004). *Produtos Lateos: Tecnologia*. Edicions UPC

- ✓ ELLNER, R. e SCHLUTER C. (2000) Preguntas y Respuestas sobre la microbiologia do leite y los productos lacteos. Ed. Diaz de Santos.
- ✓ FERREIRA, A. O. (2004). Determinacao do poder rotatório específico das solucoes. 1ª edição. Rio de Janeiro. Editora Guanabara.
- ✓ GRATÃO, A.C.A. BERTO, M. I. ; SILVEIRA Jr., V. (2004) Reologia do açúcar líquido invertido.
- ✓ HENRY HIRAM WING (1913). Microorganismos (Milk and Its Products: A Treatise Upon the Nature and Qualities of Dairy Products"; Ed. The Macmillan company Página principal <http://www.fil-idf.org/>) acessado no dia 18 de Janeiro de 2012 as 12h:40 min.

Influência da temperatura na viscosidade. Ciência e Tecnologia de Alimentos, v.24, n.4,p.652-656, 2004
- ✓ JACOBS, M.B. (1973). The Chemical Analysis of Foods and Foods Products. 970p.
- ✓ KITCHEN, B.J. (1981). Review of the progress of dairy science, bovine mastitis: milk compositional changes and related diagnostic tests. *Journal of Dairy Research*, v.48, p.167-188.
- ✓ MADISON (1996). NATIONAL MASTITIS COUNCIL. Current concepts of bovine mastitis, p.64.
- ✓ MADRID, A., CENZANO, I e VICENTE, J.M DRAIN, D. (1995). Manual de indústria dos alimentos. Sao Paulo. Livraria Varela. P 62-67.
- ✓ MARYLAND (2000). A.O.A.C. (Association of Official Analytical Chemists). Official Methods of Analysis. 17th edição. Gaithersburg.
- ✓ MILLER G D, JARVIS J K and MCBEAN L D (2000), "Handbook of Dairy Foods and Nutrition", second edition, Boca Raton, London, New York, Washington DC, CRC Press

- ✓ MILLER, G.D, JARVIS, J. K and MC BEAN L. D. (2000) Hand Book of Dairy foods and Nutrition, second edition, Boca Raton, London, New York, Washington DC and CRC Press. Citado por: Anónimo (1998). Perfil de ácidos graxos e estabilidade oxidativa do leite de vaca. Acedido aos 24 de Maio de 2012, disponível em: ... pt.wikipedia.org/wiki/Lacticínios.
- ✓ MORRISON e BOYD (1986). Química Orgânica, 8ª edição, Fundação Calouste Gulbenkian-Coimbra, pp. 1278-1305.
- ✓ OETTERER, M. (2006). Fundamentos de ciência e tecnologia de alimentos. Ed. Manole, págs. 171-176.
- ✓ ORDONEZ, J.A. (1987). Tecnologia dos alimentos-Alimentos de origem animal. Vol 2, editora Artimed. Porto Alegre. P 122-124.
- ✓ PERREIRA, A. W; PENA, A. L. B; SILVIERI, K. OLIVEIRA, M. N. (2001). Físico-química do leite e derivados- Métodos analíticos. Epamig, Juiz de Fora. P 234.
- ✓ PERRONE, I.T. et al (2000). Tecnologia de Fabricação de Doce de Leite. Apostila do Instituto de Laticínios Cândido Tostes, Juiz de Fora, 78p.
- ✓ RIBAS, N. P (1998). Programa de análise de rebanhos leiteiros. Curitiba. P 58-65.
- ✓ ROJAS, M. CASCORBI, I. ALEXANDROV (2000). Modulation of benzo[a]pyrene di-epoxide-DNA adducts levels in human white blood cells by CYP1A1.
- ✓ SARMENTO, V., RAQUEL L. JOAQUIM S. (2007/2008) Processamento geral dos alimentos, aceso no dia 23 de Fevereiro de 2012 em: www.esac.pt/noronha/pga/..leite condensado
- ✓ VIEIRA, S.F (1976). Oleite e os seus produtos. 3ª edição. Classica editora. P 252-261.
- ✓ WALASTRA, P. PAULLETI, M; CALVO, C. IZQUIERDO, L. COSTEL, E. (2001). Ciencia de La Leche y Tecnologia de Los Lacteos. Acribia, S.A. Zaragoza Espana. P 188-203.

- ✓ WIM, M. F., VAN BOEKEL, M. (2001) A Review of Maillard Reaction in Food and Implications to Kinetic Modelling,
- ✓ WING, H.H.(1993) Milk and its Products, N.Y., Macmillan,

Anexo 1. Preparação de soluções usadas durante a experiência

Preparação de soluções para extracção de gordura

Fenolftaleína

Pesou-se 1 g de fenolftaleína num copo de precipitação de 100 ml, adicionou-se 50 ml de etanol (96%), medidos com ajuda da proveta, agitou-se a mistura, transferiu-se para um balão volumétrico de 100 ml e perpez-se o volume com água destilada. Por último filtrou-se a solução.

Amónia a 20 %

Mediu-se 80 ml de amónia a 25% numa proveta graduada de 100 ml e perpez-se o volume com água destilada.

Preparação de soluções para determinação de teor de sacarose

Ácido clorídrico a 30%

Dilui-se ácido clorídrico a 36% com água destilada, ate que o peso específico esteja entre 1,14 e 1,15 a 20°C.

Acido acético a 25%

Diluiu-se ácido acético a 80% até peso específico de 1,036 a 15°C.

Acetato de cobre 3,2%

Pesou-se 32 g de acetato de cobre mono hidratado, $\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$, dissolveu-se em 1 l de agua destilada a 80°C;

Juntou-se de seguida 2ml de ácido acético a 25%, agitou-se a solução, filtrou-se e transferiu-se para um frasco.

Amónia a 7%

Mediu-se 28 ml de amónia a 25% numa proveta graduada de 100 ml e perpez-se o volume com água destilada.

Suspensão de hidróxido de alumínio

Dissolve-se 160g de sulfato de alumínio deca-hidratado, $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ em 1 l de água destilada e quente. Deixou-se arrefecer, juntou-se 80 ml de amónia a 25%, guardou-se numa tina aberta durante toda a noite do dia em que foi preparada e no dia seguinte retirou-se a camada superior clara e guardou-se num frasco com tampa.

Preparação de soluções para parte microbiológica

Diluyente

Numa balança analítica, colocou-se um copo de precipitação e anulou-se o peso. De seguida pesou-se no copo 0,5g de Tryptone e adicionou-se 4,25g de cloreto de sódio, adicionou-se água destilada até que se atingisse o peso total de 500g e agitou-se a mistura.

Pipetou-se 10 ml de solução para cada tubo de ensaio.

Solução de PCA

Colocou-se na balança analítica um erlenmeyer e estabeleceu-se o zero. Introduziu-se no erlenmeyer 0,75g SMP com ajuda de uma espátula. Com pouca água destilada dissolveu-se o SMP. Adicionou-se 10,25g de PCA e introduziu-se água destilada quente de modo a ajustar o peso para 500g.

Agitou-se a mistura com ajuda de vareta de vidro, levou-se a solução para uma resistência eléctrica de modo a colocar a solução em ebulição. Agitou-se sempre para evitar que a solução secasse no fundo do erlenmeyer. Teve-se o cuidado de controlar a solução de modo a não transbordar pois à medida que a solução vai fervendo, torna-se espumante.

Depois de ferver, transferiu-se a solução para um frasco e levou-se para autoclave para ser esterilizada.

Antes de ligar a autoclave, teve-se o cuidado de verificar o nível de água e fechar as válvulas. Cumpridas as condições, fechou-se a autoclave e ligou-se.

A esterilização desta solução é completa aos 121⁰ C. Atingida a temperatura, a autoclave desliga-se. Retirou-se a solução para o banho-maria a 48⁰C.

Na autoclave para além da solução de PCA, introduz-se também os tubos de ensaio contendo diluente.

Assim, as duas soluções estão prontas para serem usadas.

Preparação da solução de BPM

Numa balança analítica, pesou-se 28,25 g do reagente BPM para um erlenmeyer e diluiu-se com um pouco de água destilada e fria. Introduziu-se água destilada quente de modo a ajustar o peso para 500g e agitou-se com ajuda de uma vareta de vidro. Levou-se a solução para resistência eléctrica e procedeu-se segundo o referido para a solução de PCA até ao abaixamento da temperatura para 48⁰C ;

De seguida introduziu-se dentro do frasco 25ml de solução de Egg York-Tellurite Emulsion usando uma pipeta, agitou-se a solução e fez-se a transferência da solução para as placas plásticas descartáveis deixando a solução secar nas placas.

Anexo 2. Materiais, reagentes e aparelhos usados durante a experiência

P. Físico-Química	Materiais	Reagentes	Aparelhos
Sólidos Totais	Pipetas de 2 ml, Papel de filtro, espátula, copo de precipitação de 500 ml, varetas	Leite condensado de 6 e 9 meses, água destilada	Balança analítica, estufa a 105°C
Gordura	Provetas, conta gotas, caixas de alumínio, pipetas de 5 e 10 ml, placa de alumínio, ampolas para extração de gordura, exsicador.	Leite cru e condensado, água destilada, amónia a 20%, etanol, éter dietílico, éter de petróleo e fenol.	Balança, banho de água e estufa.
Sacarose	Copo de precipitação de 500 ml, provetas de 25 e 50 ml, pipetas de 5, 10 e 50 ml, espátula, balões volumétricos de 100 e 200 ml, termómetro e funil.	Leite condensado de 6 e 9 meses, água destilada, amónia a 25%, ácido clorídrico a 7%, hidróxido de alumínio, acetato de cobre hidratado, ácido acético a 25%, ácido clorídrico a 30%.	Balança, 2 sacarímetros polarímetro
Viscosidade	Copo de precipitação	Leite condensado de 6 e 9 meses	Viscosímetro
Refracção	Vareta de vidro	Leite condensado de 6 e 9 meses	Refractómetro

P. Microbiológica	Materiais	Reagentes	Aparelhos
Contagem Total de Bactérias	Espátulas, Burri loop, erlenmeyers, frasco de vidro de 500 ml.	Água destilada, Plate Count Agar (PCA), Skim Milk powder (Leite magro em pó)	Auto clave Banho-maria Balança Analítica Resistência eléctrica Estufa a 36°C
Contagem de Staphylacoccus	Espátulas, Burri loop, erlenmeyers, frasco de vidro de 500 ml.	Baird-Parker Medium, egg yolk tellurite emulsion	Auto clave Banho-maria Balança Analítica Resistência eléctrica Estufa a 38°C

Anexo 3.

Tabela A3-1: Cálculo de intervalo de confiança dos resultados obtidos na análise da amostra A do leite de 6 meses conservado a 25°C.

Parâmetros	A ₂₅			\bar{x}	s	%RSD	IC
Viscosidade (cP)	2298.80	2210	2291.20	2300	9.40	0.40	2300±23.40
Refracção (Bx)	69.80	70	69.60	69.80	0.20	0.30	69.80±0.60
Sólidos Totais (%)	72	74	72.80	72.90	1.00	1.40	72.90±2.50
Gordura (%)	7.70	8.00	7.90	7.90	0.20	2.00	7.90±0.40
Sacarose (%)	47.50	47.00	47.70	47.40	0.30	0.70	47.40±0.80

\bar{x} – média de réplicas, s – desvio padrão; %RSD – percentagem do desvio padrão relativo; IC – intervalo de confiança

Tabela A3-2: Cálculo de intervalo de confiança dos resultados obtidos na análise da amostra B do leite de 6 meses conservado a 25°C.

Parâmetros	B ₂₅			\bar{x}	s	%RSD	IC
Viscosidade (cP)	3987.83	4010.60	4001.57	4000.00	11.47	0.29	4000.00±28.48
Refracção (Bx)	69.40	69.00	69.80	69.40	0.40	0.58	69.40±0.99
Sólidos Totais (%)	72.01	70.80	71.69	71.50	0.63	0.88	71.50±1.56
Gordura (%)	7.14	8.12	6.19	7.39	0.64	1.17	7.39±1.59
Sacarose (%)	47.20	47.20	45.70	46.70	0.87	1.86	46.70±2.16

Tabela A3-4: Cálculo de intervalo de confiança dos resultados obtidos na análise da amostra C do leite de 6 meses conservado a 25°C.

Parâmetros	C ₂₅			\bar{x}	s	%RSD	IC
Viscosidade (cP)	3989.80	3600.50	3809.70	3800.00	194.80	5.10	3800.00±483.70
Refracção (Bx)	71.70	72.00	72.40	72.00	0.40	0.50	72.00±1.00
Sólidos Totais (%)	72.90	73.10	73.60	73.20	0.40	0.50	73.20±0.90
Gordura (%)	7.80	7.60	8.00	7.80	0.20	2.40	7.81±0.50
Sacarose (%)	47.30	47.00	46.70	47.00	0.30	0.60	47.00±0.70

Tabela A3-5: Cálculo de intervalo de confiança dos resultados obtidos na análise da amostra A do leite de 6 meses conservado a 30°C.

Parâmetros	A ₃₀			\bar{x}	s	%RSD	IC
Viscosidade (cP)	3502.00	3510.00	3487.00	3500.00	11.80	0.30	3500.00±29.30
Refracção (Bx)	71.20	71.00	72.00	71.40	0.50	0.70	71.40±1.20
Sólidos Totais (%)	73.40	73.00	73.20	73.20	0.20	0.30	73.20±0.60
Gordura (%)	7.00	7.10	6.90	7.00	0.10	1.70	7.00±0.30
Sacarose (%)	47.10	47.10	48.00	47.40	0.60	1.20	47.40±1.40

*Estudo da dependência da qualidade do leite condensado Coroa Azul produzido pela Fabrica Protal-Produtos
Alimentares com o tempo e a temperatura de conservação*

Tabela A3-6: Cálculo de intervalo de confiança dos resultados obtidos na análise da amostra B do leite de 6 meses conservado a 30°C.

Parâmetros	B ₃₀			\bar{x}	s	%RSD	IC
Viscosidade (cP)	3189.00	3204.00	3207.00	3200.00	9.60	0.30	3200.00±23.90
Refracção (Bx)	69.00	69.00	70.20	69.40	0.70	1.00	69.40±1.70
Sólidos Totais (%)	68.00	66.90	67.00	67.30	0.90	1.40	67.00±2.30
Gordura (%)	7.40	7.40	7.60	7.50	0.10	1.30	7.50±0.30
Sacarose (%)	46.10	47.00	47.00	46.70	0.50	1.10	46.70±1.30

Tabela A3-7: Cálculo de intervalo de confiança dos resultados obtidos na análise da amostra C do leite de 6 meses conservado a 30°C.

Parâmetros	C ₃₀			\bar{x}	s	%RSD	IC
Viscosidade (cP)	4213.00	4203.10	4183.90	4200.00	14.80	0.40	4200.00±36.70
Refracção (Bx)	70.90	71.40	71.30	71.20	0.30	0.40	71.20±0.70
Sólidos Totais (%)	74.10	74.00	75.40	74.50	0.70	1.00	74.50±1.80
Gordura (%)	7.80	7.90	7.80	7.80	0.10	0.60	7.80±0.10
Sacarose (%)	47.10	46.90	46.60	46.90	0.30	0.60	46.90±0.70

*Estudo da dependência da qualidade do leite condensado Coroa Azul produzido pela Fabrica Protal-Produtos
Alimentares com o tempo e a temperatura de conservação*

Tabela A3-8: Cálculo de intervalo de confiança dos resultados obtidos na análise da amostra X do leite de 9 meses conservado a 25°C.

Parâmetros	X ₂₅			\bar{x}	s	%RSD	IC
Viscosidade (cP)	11311,00	11300,00	11287,00	11300,00	12,10	0,10	11300,00 ±30,10
Refracção (Bx)	69,10	70,00	69,90	70,00	1,00	1,40	70,00 ±2,40
Sólidos Totais (%)	70,40	70,90	71,20	70,90	0,40	0,60	70,90 ±1,00
Gordura (%)	9,30	9,30	9,40	9,30	0,00	0,30	9,33 ±0,10
Sacarose (%)	46,70	46,60	46,80	46,60	0,20	0,40	46,62 ±0,50

Tabela A3-9: Cálculo de intervalo de confiança dos resultados obtidos na análise da amostra Y do leite de 9 meses conservado a 25°C.

Parâmetros	Y ₂₅			\bar{x}	s	%RSD	IC
Viscosidade (cP)	13501,20	13501,00	13487,80	13500,00	11,70	0,10	13500,00 ±29,00
Refracção (Bx)	69,90	69,30	69,60	69,60	0,30	0,40	69,60±0,70
Sólidos Totais (%)	69,50	69,00	70,00	69,50	0,50	0,70	69,50±1,70
Gordura (%)	9,20	9,00	9,40	9,20	0,20	1,90	9,20±0,40
Sacarose (%)	46,20	47,00	46,50	46,60	0,40	0,90	46,57 ±1,00

Tabela A3-10: Cálculo de intervalo de confiança dos resultados obtidos na análise da amostra Z do leite de 9 meses conservado a 25°C.

Parâmetros	Z ₂₅			\bar{x}	s	%RSD	IC
Viscosidade (cP)	15202.00	15189.10	15208.80	15200.00	10.00	0.10	15200.00±24.90
Refracção (Bx)	69.00	69.40	68.60	69.00	0.40	0.60	69.00 ±1.00
Sólidos Totais (%)	72.00	71.10	71.10	71.40	0.50	0.80	71.40 ±1.30
Gordura (%)	8.90	8.60	9.00	8.90	0.20	2.20	8.85 ±0.50
Sacarose (%)	46.00	46.70	46.50	46.40	0.40	0.90	46.40 ±1.00

Tabela A3-11: Cálculo de intervalo de confiança dos resultados obtidos na análise da amostra X do leite de 9 meses conservado a 30 °C.

Parâmetros	X ₃₀			\bar{x}	s	%RSD	IC
Viscosidade (cP)	14210.80	14200.00	14189.20	14200.00	10.80	0.10	14200.00±26.90
Refracção (Bx)	70.00	70.00	70.00	70.00	0.00	0.00	70.00±0.10
Sólidos Totais (%)	70.50	72.00	71.30	71.30	0.780	1.10	71.30±2.00
Gordura (%)	9.80	9.00	9.90	9.60	0.50	5.40	9.57±1.30
Sacarose (%)	46.80	47.00	45.90	46.60	0.60	1.30	46.60±1.50

Tabela A3-12: Cálculo de intervalo de confiança dos resultados obtidos na análise da amostra Y do leite de 9 meses conservado a 30°C.

Parâmetros	Y ₃₀			\bar{x}	s	%RSD	IC
Viscosidade (cP)	14400.80	14412.00	14387.10	14400.00	12.50	0.10	14400.00±31.00
Refracção (Bx)	70.80	69.80	69.40	70.00	0.80	1.10	70.00±1.90
Sólidos Totais (%)	71.50	70.80	74.70	72.30	2.10	2.80	72.30±5.10
Gordura (%)	8.30	8.70	9.20	8.80	0.50	5.10	8.76±1.10
Sacarose (%)	46.00	47.00	45.20	46.60	0.90	2.00	46.60±2.30

Tabela A3-13: Cálculo de intervalo de confiança dos resultados obtidos na análise da amostra Z do leite de 9 meses conservado a 30°C.

Parâmetros	Z ₃₀			\bar{x}	s	%RSD	IC
Viscosidade (cP)	19988.70	20000.80	20010.50	20000.00	10.90	0.10	20000.00 ±27.00
Refracção (Bx)	70.80	69.00	70.20	70.00	0.90	1.30	70.00±2.30
Sólidos Totais (%)	69.90	71.60	71.80	71.10	1.10	1.50	71.10±2.60
Gordura (%)	8.70	8.70	8.70	8.70	0.00	0.30	8.70±0.10
Sacarose (%)	46.40	45.73	44.40	45.50	1.00	2.30	45.50±2.60

Anexo 4. Tabelas correspondentes aos dados das médias do leite pronto (M_p^6 e M_p^9) e de 6 e 9 meses conservado a 25 e 30°C ($M_{25}^6, M_{30}^6, M_{25}^9, M_{30}^9$) e usadas para construção de gráficos de barras.

Tabela A4-1. Médias do leite pronto e de 6 e 9 meses conservado a 25°C

Parâmetro	Amostras de 6 meses		Amostras de 9 meses	
	M_p^6	M_{25}^6	M_p^9	M_{25}^9
Viscosidade (cP)	3000.00	3366.60	4133.30	13333.30
Refracção (Bx)	70.20	70.40	70.40	69.50
Sólidos Totais (%)	71.00	72.50	72.40	70.60
Gordura (%)	7.30	7.70	9.30	9.10
Sacarose (%)	47.00	47.00	46.50	46.50

Tabela A4-2: Médias do leite pronto e de 6 e 9 meses conservado a 30°C

Parâmetro	Amostras de 6 meses		Amostras de 9 meses	
	M_p^6	M_{30}^6	M_p^9	M_{30}^9
Viscosidade (cP)	3000.00	3633.30	4133.30	16200.00
Refracção (Bx)	70.20	70.70	70.40	70.00
Sólidos Totais (%)	71.00	71.70	72.40	71.60
Gordura (%)	7.20	7.40	9.30	9.00
Sacarose (%)	47.00	47.00	46.50	46.10

Tabela A4-3: Médias do leite pronto e de 6 meses conservado a 25 e 30 °C

Parâmetro	Amostras de 6 meses		
	M_p^6	M_{25}^6	M_{30}^6
Viscosidade (cP)	3000.00	3366.70	3633.30
Refracção (Bx)	70.20	70.40	70.70
Sólidos Totais (%)	71.00	72.50	71.70
Gordura (%)	7.30	7.70	7.40
Sacarose (%)	47.00	47.00	47.00

Tabela A4-4: Médias do leite pronto e de 9 meses conservado a 25 e 30°C

Parâmetro	Amostras de 9 meses		
	M_p^9	M_{25}^9	M_{30}^9
Viscosidade (cP)	4133.30	13333.30	16200.00
Refracção (Bx)	70.40	69.50	70.00
Sólidos Totais (%)	72.40	70.60	71.60
Gordura (%)	9.30	9.10	9.00
Sacarose (%)	46.50	46.50	46.10

Anexo 5

Teste de variância ANOVA

O teste permite a análise de medições que dependem de vários factores que actuam em simultâneo de modo a decidir que efeitos são importantes e como estimá-los.

A ANOVA compara ambas as causas de variação com o fim de decidir se o factor controlado tem ou não efeito significativo.

Os cálculos efectuados neste teste obedecem os exemplos abaixo:

Tabela A5-1 Modelo e formulas usado para cálculo do factor de variação

Fonte de variação	SS	ν	MS
Entre grupos	$\sum_i \frac{T_i^2}{n} - \frac{T^2}{N}$ (1)	m-1 (3)	(1):(3)
Dentro dos grupos	(2)- (1)	(4)- (3)	[(2)- (1)]: [(4)- (3)]
Total	$\sum_i \sum_j x_{ij}^2 - \frac{T^2}{N}$ (2)	N-1 (4)	

N.m – n observações ou medições em grupos: número total de medições

T_i – Soma das medições no grupo i

T – Soma de todas medições, grande total

SS- soma de quadrados

ϑ - número de graus de liberdade

MS – quadrado médio

$$F_{cal} = \frac{(1):(3)}{[(2)-(1)]: [(4)-(3)]}$$

Tabela A5-2: Cálculo das médias para os valores da viscosidade do leite de 6 meses.

Condições	Réplicas			Média
A_{25}^6	3425.50	3307.00	3367.50	3366.70 ⁽¹⁾
A_{30}^6	3635.00	3639.00	3626.00	3633.30 ⁽²⁾
				$\bar{X} = 3500.00$

Os valores das réplicas foram divididos por um valor aleatório de modo a simplificar os cálculos.

Tabela A5-3: Simplificação dos valores da viscosidade do leite de 6 meses.

Condições	Réplicas simplificadas			Ti	Ti^2
A_{25}^6	-200.50	-318.90	-258.50	-777.90	605144.00
A_{30}^6	9.00	13.10	0	22.10	488.40
				-755.80	605632.40

Tabela A5-4: Cálculo do factor de variação da viscosidade do leite de 6 meses.

Fonte de variação	SS	ϑ	MS
Entre-amostras	106669.20	1	106669.20
Dentro-amostras	7103.50	4	1775.90
Total	113772.70	5	

$$F_{calc}=60.10 \quad F_{crit}=7,71$$