

---

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS  
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS  
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS

---

## **Estudo comparativo da pasteurização de leite pelo método convencional e por microondas**

Poliana Mendes de Souza  
Engenheira de Alimentos

Prof. Dr. Antonio Marsaioli Júnior  
Orientador

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Mirna Lucia Gigante  
Co-orientadora

Dissertação apresentada à Faculdade de Engenharia de Alimentos da  
Universidade Estadual de Campinas para obtenção do título de Mestre em  
Engenharia de Alimentos

Campinas/SP, 2007

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA  
BIBLIOTECA DA FEA – UNICAMP

So89e Souza, Poliana Mendes de  
Estudo comparativo da pasteurização de leite pelo método convencional por microondas / Poliana Mendes de Souza. -- Campinas, SP: [s.n.], 2007.

Orientador: Antonio Marsaioli Júnior  
Co-orientador: Mirna Lucia Gigante  
Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Campinas.  
Faculdade de Engenharia de Alimentos

1. Microondas. 2. Trocador de calor de placas. 3. Leite. 4. Pasteurização. 5. Vida de prateleira. I. Marsaioli Júnior, Antonio. II. Gigante, Mirna Lucia. III. Universidade Estadual de Campinas.Faculdade de Engenharia de Alimentos. IV. Título.

(cars/fea)

Título em inglês: Comparative study of milk pasteurization by convencional method and by microwaves

Palavras-chave em inglês (Keywords): Microwave, Plate heat exchanger, Milk, Pasteurization, Shelf life

Titulação: Mestre em Engenharia de Alimentos

Banca examinadora: Antonio Marsaioli Júnior

Márcia Rapacci

Salvador Massaguer Roig

Walkíria Hanada Viotto

Programa de Pós Graduação: Programa em Engenharia de Alimentos

Estudo comparativo da pasteurização de leite pelo  
método convencional e por microondas

Por

*Poliana Mendes de Souza*

Dissertação aprovada em \_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 2.007

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof. Dr. Antonio Marsaioli Jr.  
(ORIENTADOR – DEA/FEA/UNICAMP)

---

Prof. Dr. Salvador Massuguer Roig  
(MEMBRO – DTA/FEA/UNICAMP)

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Márcia Rapacci  
(MEMBRO – CCET/PUCPR)

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Walkíria Hanada Viotto  
(MEMBRO – DTA/FEA/UNICAMP)

Dedico este trabalho aos  
meus pais, Cleide e José, e a  
minha irmã Diana.

## **AGRADECIMENTOS**

À Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), em especial ao Departamento de Engenharia de Alimentos da Faculdade de Engenharia de Alimentos, pela oportunidade a mim oferecida.

Ao Conselho Nacional de Pesquisa (CNPQ) pela bolsa de estudos concedida.

Ao Prof. Dr. Antonio Marsaioli Jr. pela orientação, dedicação, confiança e paciência dispensados durante todo o mestrado.

À minha co-orientadora Profa. Dra. Mirna Lucia Gigante, que muito contribuiu para que os processamentos fossem realizados.

À Banca examinadora pelo convite aceito e pelo tempo dedicado na avaliação deste trabalho

À minha família, minha mãe, Cleide, meu pai, José, e minha irmã, Diana, que foram fundamentais para que eu pudesse chegar até aqui.

A Adnane pelo apoio, incentivo e amor incondicional.

Às estagiárias Priscila Hirata (lab. de microondas) e Keila Staiger (lab. de leites) por toda ajuda, nos dias de processamento e nas análises.

À Bete, Ana Lourdes, Adauto e Bernadete por toda contribuição no decorrer do trabalho.

Aos colegas Gustavo Sanvido, Priscila Vianna, César Lescano e Nádía Rosa pela colaboração na realização do trabalho.

À Priscila, Carolina e Gláucia, minhas colegas de República.

A todas as pessoas que colaboraram, de maneira direta ou indireta, para a realização deste trabalho.

**A todos, o meu muito obrigada.**

# SUMÁRIO

ÍNDICE DE FIGURAS .....	VI
ÍNDICE DE TABELAS .....	VI
RESUMO.....	VII
ABSTRACT .....	IX
<b>1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA.....</b>	<b>1</b>
<b>2. OBJETIVOS .....</b>	<b>4</b>
2.1 OBJETIVO GERAL .....	4
2.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS .....	4
<b>3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....</b>	<b>5</b>
3.1 LEITE.....	5
3.2 TRATAMENTO TERMICO.....	9
3.2.1 <i>Pasteurização de leite</i> .....	14
3.3 MICROONDAS .....	15
3.3.1 <i>Mecanismos de aquecimento por microondas</i> .....	19
3.3.2 <i>Propriedades Dielétricas dos Materiais</i> .....	20
3.3.3 <i>Principais aplicações do processamento por microondas</i> .....	23
3.3.4 <i>Pasteurização de leite por microondas</i> .....	25
3.4 ANÁLISE SENSORIAL.....	28
3.5 VIDA DE PRATELEIRA .....	30
<b>4. MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>33</b>
4.1 MATERIA-PRIMA .....	33
4.2 METODOLOGIA EXPERIMENTAL.....	33
4.2.1 <i>Pasteurização em trocador de calor a placas</i> .....	36
4.2.2 <i>Pasteurização em sistema aplicador de microondas</i> .....	37
4.3 DETERMINAÇÕES ANALÍTICAS .....	40
4.3.1 <i>Análises Físico-químicas</i> .....	40
<i>pH</i> .....	40
<i>Acidez titulável</i> .....	40
<i>Extrato seco total</i> .....	41
<i>Gordura</i> .....	41
<i>Frações nitrogenadas</i> .....	41
<i>Nitrogênio solúvel em TCA 24%</i> .....	42
<i>Fosfatase</i> .....	42
<i>Peroxidase</i> .....	42
<i>Diâmetro médio dos glóbulos de gordura</i> .....	42
4.3.2 <i>Análise microbiológica</i> .....	43
<i>Contagem padrão em placas</i> .....	43
<i>Coliformes a 30-35°C e a 45°C</i> .....	44

<i>Salmonela sp.</i> .....	44
<i>Psicrotróficos</i> .....	45
4.3.3 <i>Vida de prateleira do leite pasteurizado</i> .....	45
4.3.4 <i>Análise sensorial</i> .....	45
4.4 ANÁLISES ESTATÍSTICAS.....	47
<b>5. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>49</b>
5.1 CARACTERIZAÇÃO DA MATERIA PRIMA .....	49
5.2 CARACTERIZAÇÃO DO LEITE PASTEURIZADO .....	50
5.3 VIDA DE PRATELEIRA .....	53
5.3.4 <i>Análise sensorial</i> .....	61
5.4 DIÂMETRO MÉDIO DOS GLOBULOS DE GORDURA .....	64
<b>6. CONCLUSÕES.....</b>	<b>67</b>
<b>7. REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA.....</b>	<b>68</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 3.1</b> – Evolução da produção de leite no Brasil 1991/2005. ....	8
<b>Figura 3.2</b> – Espectro eletromagnético (SOARES, 2007).....	16
<b>Figura 3.3</b> – Sistema genérico de aquecimento por microondas (SILVA, 2005).....	17
<b>Figura 3.4</b> – Visualização da distribuição do campo elétrico em uma cavidade aplicadora de microondas (MARSAIOLI, 1991). ....	18
<b>Figura 4.1</b> - Esquema geral de processo.....	34
<b>Figura 4.2</b> - Trocador de calor de placas com capacidade para 100 L/h. ....	37
<b>Figura 4.3</b> – Esquema do sistema aplicador de microondas.....	38
<b>Figura 4.4.</b> Equipamento de microondas com capacidade para 9 L/h.....	40
<b>Figura 4.5</b> – Modelo de ficha usada no teste triangular. ....	46
<b>Figura 4.6</b> – Modelo de ficha usada no teste de aceitabilidade. ....	47
<b>Figura 5.1</b> – Desenvolvimento de microorganismos mesófilos durante o período de estocagem do leite pasteurizado. ....	54
<b>Figura 5.2</b> – Evolução da contagem de microorganismos psicrotróficos durante a vida de prateleira.....	56
<b>Figura 5.3</b> – Proteólise durante a vida de prateleira. ....	57
<b>Figura 5.4</b> – Evolução do pH do durante a vida de prateleira. ....	59
<b>Figura 5.5</b> – Evolução da acidez durante a vida de prateleira. ....	60
<b>Figura 5.6</b> – Porcentagem de identificações corretas da amostra diferente no teste triangular. ....	61
<b>Figura 5.7</b> – Histograma de distribuição dos glóbulos de gordura obtidos nos processamentos por microondas e em TCP.....	65

## ÍNDICE DE TABELAS

<b>Tabela 3.1</b> - Composição média dos leites pasteurizado e esterilizado.....	6
<b>Tabela 3.2</b> - Exportações e Importações de Leite e Derivados pelo Brasil, 1997/2002.....	9
<b>Tabela 5.1</b> – Características físico-químicas e microbiológicas do leite cru.....	49
<b>Tabela 5.2</b> – Características físico - químicas e microbiológicas do leite pasteurizado.....	51
<b>Tabela 5.3</b> – Eficiência de pasteurização em termos de redução da carga mesófila.....	52
<b>Tabela 5.4</b> – Notas médias obtidas no teste de aceitação.....	63
<b>Tabela 5.5</b> – Diâmetros dos glóbulos de gordura, número de glóbulos de gordura encontrados em cinco campos ao acaso, porcentagem do número total de glóbulos (%NTG) e diâmetro médio dos glóbulos obtidos nos processamentos por microondas e em TCP.....	65

## RESUMO

O leite é um dos alimentos mais completos da natureza devido ao seu elevado valor nutritivo, como riqueza de proteínas, gordura e vitaminas; por esta mesma razão o leite é um excelente substrato para uma grande gama de microorganismos. A pasteurização visa eliminar os microorganismos patogênicos, e reduzir ao máximo a flora banal; no entanto os métodos atuais de aquecimento causam degradação nutricional e sensorial já que o leite é exposto às superfícies de troca térmicas superaquecidas. O leite pasteurizado pode beneficiar-se de melhorias na sua qualidade usando-se a energia de microondas como fonte de aquecimento. O objetivo deste trabalho foi estudar comparativamente os processos de pasteurização por microondas e clássica quanto aos aspectos físico-químicos, microbiológicos e sensoriais. Foram realizados três processamentos sendo que em cada processamento o leite foi pasteurizado (72-75°C/15-20s) simultaneamente em trocador de calor de placas e em sistema de microondas, refrigerado (4±1°C), envasado em embalagens plásticas de polietileno e armazenado em câmara refrigerada (4±1°C). O leite cru foi analisado quanto a pH, acidez titulável, extrato seco total, gordura, nitrogênio total, nitrogênio solúvel em pH 4,6 e em TCA 24%, contagem de microorganismos mesófilos e psicotróficos. O leite pasteurizado foi analisado quanto a fosfatase, peroxidase, pH, acidez titulável, extrato seco total, gordura, nitrogênio total, nitrogênio solúvel em pH 4,6 e em TCA 24%, coliformes a 30-35°C e a 45°C, *Salmonella spp*, contagem de microorganismos mesófilos e psicotróficos. Durante o armazenamento refrigerado amostras dos leites pasteurizados foram avaliadas quanto a pH, acidez titulável, nitrogênio total, nitrogênio solúvel em pH 4,6 em TCA 24%, contagem de microorganismos mesófilos e psicotróficos.

O leite produzido no terceiro processamento foi analisado sensorialmente para determinação de diferença e de aceitação das amostras, nos dias 1, 5, 7, 9, 12 e 14 da vida de prateleira. No terceiro processamento também foi feita a determinação do diâmetro dos glóbulos de gordura dos leites. O final da vida de prateleira do leite pasteurizado foi estabelecido como sendo o primeiro dia em que as amostras apresentassem contagem total de microorganismos aeróbios mesófilos superior a  $8 \times 10^4$  UFC/mL. A pasteurização por microondas mostrou-se eficaz, já que obteve contagens microbiológicas dentro dos padrões estabelecidos em legislação; e mostrou-se mais eficiente do que a pasteurização clássica, já que atingiu 14 dias de vida de prateleira contra 11 dias atingidos pelo leite pasteurizado em trocador de calor de placas. Não foram observadas diferenças significativas entre a pasteurização por microondas e em trocador de calor de placas quanto às características físico-químicas do leite. No entanto houve diferenças significativas entre as amostras de ambos os sistemas quanto à contagem de microorganismos mesófilos e psicrótrópicos, a contagem média de microorganismos mesófilos no leite pasteurizado por microondas foi de  $4,7 \times 10^1$  e de microorganismos psicrótrópicos foi de  $1,8 \times 10^0$  enquanto que esses valores para o leite para o leite pasteurizado em trocador de calor de placas foram respectivamente  $2,7 \times 10^2$  e  $5,4 \times 10^0$ . As amostras diferiram significativamente no decorrer da vida de prateleira quanto ao pH, caseína (%PV) e quanto à aceitabilidade sensorial, sendo que as notas médias atribuídas pelos provadores para as amostras pasteurizadas por microondas foram superiores às aquelas pasteurizadas em TCP. Observaram-se também diferenças significativas entre os diâmetros dos glóbulos de gordura obtidos nos diferentes processos, evidenciando-se que o processamento por microondas promoveu a homogeneização do leite, sem que tenha sido realizada esta etapa durante os processamentos.

## ABSTRACT

Milk is one of most complete foods of the nature due to raised nutritional value, as wealth of proteins, fat and vitamins; for this same reason milk is an excellent substrate for a large gamma of microorganisms. The pasteurization aims to eliminate the pathogenic microorganisms, and to reduce to the maximum the banal flore; however the current methods of heating cause nutritional and sensorial degradation since milk is expose to the overheated surfaces of thermal exchange. Pasteurized milk can benefit of improvements in the quality using the energy of microwaves as heating source. The objective of this work was to comparatively study the processes of pasteurization by microwaves and by classical method in the physicist-chemistries, microbiological and sensorial aspects. Three processes had been carried through being that in each processing milk was pasteurized (72-75°C/15-20s) simultaneously in an plate heat exchanger and in a microwave system, then cooled (4±1°C), packed in polyethylene plastic and stored in cooled chamber (4±1°C). Raw milk were evaluated with respect to the pH, acidity, total dry extract, fat, total nitrogen, soluble nitrogen in pH 4,6 and in TCA 24%, counting of mesophiles and psychrotrophs microorganisms. Pasteurized milk were evaluated with respect to phosphatase, peroxidase, pH, acidity, total dry extract, fat, total nitrogen, soluble nitrogen in pH 4,6 and in TCA 24%, coliforms 30-35°C and 45°C, *Salmonella spp*, counting of mesophiles and psychrophs microorganisms. During the refrigerated storage samples of pasteurized milk were evaluated with respect to pH, acidity, total nitrogen, soluble nitrogen in pH 4,6 in TCA 24%, counting of mesophiles and psychrotrophs microorganisms. The milk produced in the third processes were sensorial analyzed for determination of difference and acceptance of the samples, in days 1, 5, 7, 9, 12 and 14 of the shelf life. In the third processes also was

made the determination of the diameter of globules of fat of milk. The end of the shelf life of pasteurized milk was established as the first day in which the samples presented a total count of aerobic mesophilic microorganisms above  $8 \times 10^4$  UFC/mL. The microwaves pasteurization revealed to be efficient, since it got microbiological counts established in legislation; and revealed to be more efficient than the classic pasteurization, since it reached 14 days of shelf life against 11 days reached by the milk pasteurized in the plate heat exchanger. Were not observed significant differences between the pasteurization by microwaves and in heat plate exchanger with respect to the physico-chemical characteristics of milk. However there were significant differences between the samples with respect to the counting of mesophiles and psychrotrophs microorganisms, the average counting of mesophiles microorganisms in the milk pasteurized by microwaves was of  $4,7 \times 10^1$  and psychrotrophs microorganisms was of  $1,8 \times 10^0$  while these values for the milk pasteurized in heat plate exchanger were respectively  $2,7 \times 10^2$  and  $5,4 \times 10^0$ . The samples were during the shelf life as respect with the pH, the casein (%PV) and the sensorial acceptability, being average notes attributed by the panel higher to the microwaved. Also were observed significant differences between the diameters of fat globules in the different treatments, showing that the microwave processing promoted the homogenization of milk.

## **1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA**

O leite é um alimento de grande valor na dieta humana, sendo ideal tanto para o consumo de crianças quanto para o consumo de adultos (VEISSEYRE, 1988). Ele é um dos alimentos que mais se aproxima dos padrões de perfeição, tendo feito parte da alimentação humana desde os primeiros tempos da civilização. Nenhum outro alimento é capaz de melhorar dietas deficientes tanto quanto o leite (VILLARES, 1959).

O leite apresenta grande valor nutricional, devido à presença de proteínas, carboidratos, gordura, sais minerais e vitaminas em teores adequados, tanto no aspecto qualitativo como no quantitativo. Nesse contexto, o leite destinado ao consumo humano tem despertado a atenção de pesquisadores, tendo em vista sua importância no aspecto nutricional, econômico, social e de saúde pública, sob o enfoque global de segurança alimentar (CARDOSO, 2000).

No ano de 2005 foram produzidos 530,718 bilhões de litros de leite no mundo (FAO, 2003), sendo o Brasil, o sétimo maior produtor (responsável por 4,4% do total). No Brasil, o setor ocupa a sexta colocação em termos de valor bruto da produção do setor primário estando à frente de culturas tradicionais como a do café, arroz, laranja e feijão. Estima-se que a cada R\$1,00 investido no sistema agroindustrial do leite, há um crescimento de R\$4,98 do produto interno bruto (MARTINS e GUILHOTO, 2001). O leite também é o responsável pela geração de 3,6 milhões de empregos no Brasil, apenas no segmento de produção (CNA, 2003).

Nos últimos anos o mercado brasileiro tem-se direcionado para o consumo de leite longa vida. Contudo estima-se que aproximadamente 30 a 40% do leite distribuído à população brasileira não sofra nenhum tipo de tratamento térmico (BUSANI, 2005). Além do tipo de processamento sofrido pelo leite também afetam sua qualidade as condições de estocagem, tanto da matéria-prima quanto do produto final, e a qualidade do produto cru.

Por ser um alimento completo do ponto de vista nutricional, o leite constitui um excelente substrato para o crescimento de grande diversidade de microrganismos. Frente a isso o tratamento térmico visa proporcionar a minimização do crescimento bacteriano, provendo alimentos mais seguros, e com maior vida de prateleira (BUSANI, 2005).

O Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária dos Produtos de Origem Animal – RIISPOA (BRASIL, 1997) define pasteurização como o emprego conveniente do calor, com o fim de destruir a totalidade da flora microbiana patogênica, sem alteração sensível da constituição física e equilíbrio químico do leite, sem prejuízo de seus elementos bioquímicos, assim como de suas propriedades sensoriais normais. A legislação brasileira (BRASIL, 2002) permite dois tipos de pasteurização, a lenta (62°-65°C/30min) e a rápida (72°-75°C/15-20s).

O leite no mercado brasileiro é comumente processado a temperatura de 72–75°C/15-20s (HTST – *high temperature short time*), ou a 132 a 150°C/2 a 4s (UHT – *Ultra high temperature*). O leite pasteurizado HTST possui vida de prateleira de no máximo cinco dias se mantido sob refrigeração, já o leite UHT pode manter-se por até seis meses à temperatura ambiente.

Em outros países, como Estados Unidos, França e Austrália, onde a oferta de leite fresco tem sempre seu espaço no mercado, tem-se buscado com grande ênfase encontrar

alternativas ao processamento clássico do leite que produzam um produto com características sensoriais mais próximas à do produto cru.

Os métodos convencionais de pasteurização, apesar de eficientes, acarretam perdas nutritivas, perda de até 2% de lisina, 25% de vitamina C, 10% de vitamina B1, 10% de vitamina B6, 10% de vitamina B12 e 10% de ácido fólico, e mudança na característica sensorial do produto (PORTO, 2007). Assim, faz-se necessário o desenvolvimento de um novo processo de pasteurização que permita alcançar maior vida de prateleira do produto, e que ao mesmo tempo preserve as características nutricionais e sensoriais de leite cru após a pasteurização. A utilização da energia de microondas apresenta-se como uma alternativa ao processo clássico.

Neste contexto foi feito o estudo comparativo da pasteurização de leite pelo método convencional, em trocador de calor de placas, e por microondas.

## **2. OBJETIVOS**

### ***2.1 Objetivo Geral***

Este projeto tem como objetivo geral o estudo do processo de pasteurização do leite integral utilizando energia de microondas em comparação com o processo de pasteurização convencional em trocador de calor a placas.

### ***2.2 Objetivos Específicos***

Os objetivos específicos desse trabalho são:

1. Confirmar a viabilidade de realizar a pasteurização de leite por microondas;
2. Estudar a influência da aplicação de microondas no processo de pasteurização de leite integral;
3. Comparar a evolução da vida de prateleira do leite pasteurizado por microondas com o leite pasteurizado em trocador de calor a placas quanto aos atributos físico-químicos, microbiológicos e sensoriais.

### **3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

#### **3.1 Leite**

O leite é um líquido de cor branca secretado pelas células das glândulas mamárias das fêmeas de mamíferos durante o período de lactação, e destina-se a nutrir os filhotes até que estes estejam aptos a digerir outros tipos de alimentos. Ele também confere proteção imunológica ao recém-nascido (VEISSEYRE, 1988). O leite de certas espécies domésticas é também um produto de consumo corrente em grande parte das civilizações humanas: leite de vaca principalmente, mas também leite de cabra, búfala, entre outras espécies (BRASIL, 2002). Além de ser o alimento mais difundido o leite é o mais perfeito para crianças e o mais importante para os adultos. Nenhum outro alimento é capaz de melhorar dietas deficientes tanto quanto o leite (VILLARES, 1959).

WALSTRA e JENNES (1984) definem o leite como sendo a secreção elaborada das glândulas mamárias das fêmeas de mamíferos para nutrir suas crias. É um líquido complexo que contém componentes em diferentes estados de dispersão e sua composição determina sua qualidade nutritiva e seu valor como matéria-prima na fabricação produtos alimentícios.

VEISSEYRE (1988) caracteriza o leite como um líquido branco, opaco, às vezes mais viscoso que água, de sabor ligeiramente açucarado e de odor pouco acentuado. O Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária dos Produtos de Origem Animal – RIISPOA define leite como sendo um produto normal, fresco, integral, oriundo da ordenha completa e ininterrupta de vacas sadias. Quando o Regulamento cita a palavra leite, sem outra especificação, pode ser utilizado apenas para o leite de vaca (BRASIL, 2002).

O leite apresenta um grande valor nutritivo devido à presença de proteínas, carboidratos, gordura, sais minerais e vitaminas em teores adequados, tanto no aspecto qualitativo como no quantitativo. Nesse contexto, o leite destinado ao consumo humano tem despertado a atenção de pesquisadores, tendo em vista sua importância no aspecto nutricional, econômico, social e de saúde pública sob o enfoque global de segurança alimentar (CARDOSO, 2000). A Tabela 3.1 apresenta a composição média dos leites pasteurizado e esterilizado.

**Tabela 3.1 - Composição média dos leites pasteurizado e esterilizado.**

Composição	Pasteurizado	Esterilizado
Água	87,60%	87,60%
Proteína	3,30%	3,30%
Gordura	3,60%	3,60%
Carboidrato	4,70%	4,70%
Cálcio	0,12%	0,12%
Vitamina A	50 mg/100g	50 mg/100g
Vitamina D	2 mg/100g	2 mg/100g
Vitamina B1	42 mg/100g	30 mg/100g
Vitamina B2	150 mg/100g	150 mg/100g
Ácido Pantotênico	350 mg/100g	350 mg/100g
Ácido Nicotínico	100 mg/100g	100 mg/100g
Vitamina B6	25 mg/100g	25 mg/100g
Biotina	1,5 mg/100g	1,5 mg/100g
Vitamina B12	0,3 mg/100g	traços
Vitamina C	1,8 mg/100g	1,0 mg/100g

Fonte: FAO, 2006.

Além da importância econômica, o leite é um alimento natural de grande valor nutritivo com grande concentração de cálcio, que é essencial para a formação e manutenção dos ossos. Além da vitamina A, o leite contém vitamina B1, B2 e minerais que favorecem o

crescimento e a manutenção de uma vida saudável. A indústria de laticínios tem potencializado o valor nutritivo do produto. Existem no mercado uma série de bebidas lácteas enriquecidas com vitaminas, minerais e ômega, assim como leites com teor reduzido de lactose, especiais para as pessoas intolerantes à lactose (DELAVAL, 2006).

Embora seja essencial para crianças e adolescentes, ele também é importante na fase adulta. Beber dois copos por dia garante uma vida saudável na maturidade e ajuda a evitar problemas na terceira idade. Estudos provam que o seu consumo diário reduz a incidência de osteoporose (VIGNOLA, 2002).

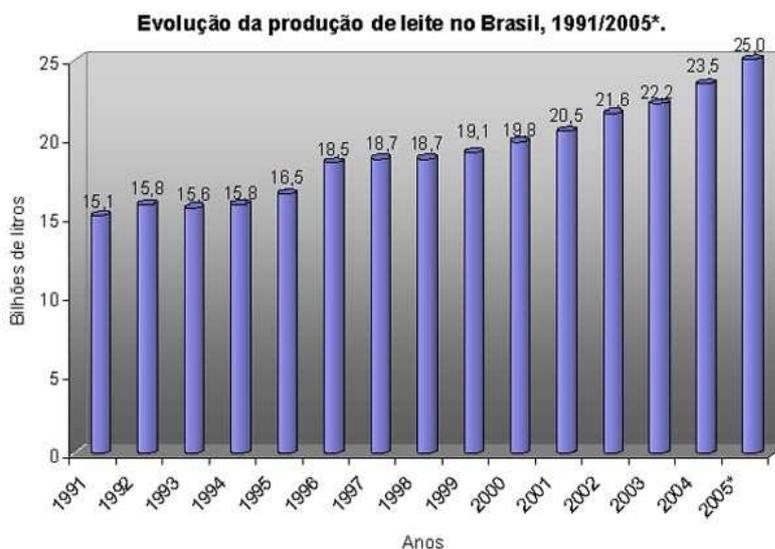
Segundo as recomendações do Ministério da Saúde, o consumo de leite, na forma fluída ou de derivados lácteos, varia de acordo com a idade das pessoas. A recomendação para crianças de até dez anos é de 400 mL/dia, para os jovens de 11 a 19 anos a recomendação é de 700 mL/dia, e para os adultos acima de 20 anos a recomendação é de 600 mL/dia. Ou seja, o país requer uma produção mínima anual de 25,5 bilhões de litros de leite para atender apenas ao seu mercado interno potencial.

Segundo a Federação Internacional de Laticínios (IDF, 2003), a produção de leite no mundo passou de 577 milhões de toneladas, em 2000, para 599 milhões de toneladas, em 2003, sendo a produção mundial de leite de vaca a que mais cresceu nos últimos anos, sendo a Europa Ocidental um dos maiores produtores de leite, seguido pela América do Norte, Ásia e América do Sul.

Na classificação mundial dos países produtores de leite o Brasil (4,4%) ocupou no ano de 2005, o sétimo lugar ficando atrás apenas dos Estados Unidos (15,1%), Índia (7,2%), Rússia (5,8%), Alemanha (5,2%), França (4,8%) e China (4,6%) (EMBRAPA, 2006a). No Mercosul, o Brasil foi o responsável por 66% do volume total produzido. O

consumo mundial de leite fluido no ano de 2000 foi totalizado em 5.230 milhões de litros divididos em leite UHT com consumo de 3.600 milhões de litros (68,5%), leite tipo A com um consumo de 40 milhões de litros (0,76%), leite tipo B com 400 milhões de litros (7,6%) e leite tipo C, incluindo o leite re-hidratado, com um consumo de 1.190 milhões de litros (23,0%) (EMBRAPA, 2006a).

No Brasil, até o ano de 2004, a produção de leite estava estimada em 23.526 milhões de litros/ano, com um total de 20.114 mil cabeças de vacas ordenhadas com uma produtividade de 1.170L/vaca/ano (EMBRAPA, 2006b). A estimativa de consumo per capita aparente/ano de leite fluido no ano de 2003 no Brasil foi de 122,6 litros/habitante (EMBRAPA, 2006b). Estimativas em relação à produção total de leite no país indicaram um crescimento de 6% na produção em 2005 em relação a 2004, atingindo 24,8 bilhões de litros; e de 5% em 2006 em relação a 2005, alcançando 26,1 bilhões de litros (EMBRAPA, 2006c). Seguindo o ritmo de crescimento na produção, calcula-se que em 2007 sejam produzidos 27,4 bilhões de litros de litros. Na Figura 3.1 observa-se a evolução da produção de leite no Brasil entre os anos de 1991 e 2005



**Figura 3.1** – Evolução da produção de leite no Brasil 1991/2005.

O país possui cerca de um milhão e cem mil propriedades que produzem leite, ocupando diretamente 3,6 milhões de pessoas. O agro-negócio do leite é responsável por 40% dos postos de trabalho no meio rural (CNA, 2006). A demanda por leite e derivados pode ser aumentada por diversos fatores, entre eles o aumento de população, crescimento de renda, redução de preços relativos de produtos concorrentes ou substitutos e mudanças nos hábitos alimentares (SOUZA, 2000).

Em relação ao mercado externo, sabe-se que o Brasil era um tradicional importador de produtos lácteos, chegando em 1999 a importar até 30% do leite consumido no País. A partir 2000 observa-se uma clara tendência de redução nos gastos com importação de lácteos e simultaneamente uma evolução na receita com exportações (Tabela 3.2) (MACHADO, 2002).

**Tabela 3.2 - Exportações e Importações de Leite e Derivados pelo Brasil, 1997/2002.**

Ano	Exportações		Importações	
	Mil kg	US\$ 1000 FOB	Mil kg	US\$ 1000 FOB
1997	4.304	9.410	318.748	454.669
1998	3.000	8.105	384.174	508.907
1999	4.398	7.520	383.674	439.951
2000	8.928	13.361	307.062	373.100
2001	19.371	25.030	141.188	178.610
2002	21.053	23.707	132.163	153.247

### **3.2 Tratamento térmico**

Desde a descoberta do fogo, o homem usa o calor para preparar e preservar alimentos. Willian Dewees, em 1824, foi o primeiro a recomendar o aquecimento até a ebulição seguido de resfriamento para o leite utilizado na alimentação de crianças. Muitas

objeções foram feitas no início do século XX quanto ao desenvolvimento e a adoção da prática de pasteurização. Somente após muitas pesquisas, principalmente atestando que o leite cru poderia ser um perigo para a saúde, o método de pasteurização começou a ser adotado oficialmente em várias cidades americanas, passando posteriormente a ser obrigatória (HALL e TROUT, 1968).

Pasteur, em 1866, relacionou a deterioração de um alimento com o crescimento de microorganismos, ele recomendou que o alimento fosse aquecido de forma controlada de forma a reduzir a carga microbiana, com conseqüente aumento da vida útil do produto. Alguns anos mais tarde, Soxlet sugeriu a utilização do tratamento térmico à baixa temperatura em leite engarrafado. (AJZENTAL, 1994).

Em 1941, Workman estudando os efeitos do binômio temperatura/tempo, concluiu que 71,7°C por 15 segundos resultava na completa destruição de microorganismos patogênicos, usando-se o *Mycobacterium tuberculosis* como microorganismo de referência. Esses parâmetros foram então considerados como aceitos para o sistema HTST (AJZENTAL, 1994).

No Brasil, a obrigatoriedade da pasteurização do leite ocorreu em Julho de 1939, quando o governo do Estado de São Paulo estabeleceu o decreto nº10.126/1939, instituindo o “Regulamento de Policiamento do Serviço de Alimentação Pública” que, entre outras exigências, estabelecia que todo o leite a ser distribuído à população a partir de 1º de Dezembro de 1939, deveria ser pasteurizado (MEIRELLES, 1983).

Em 1933, Charles Porcher definiu a pasteurização de leite como sendo a destruição pelo emprego apropriado do calor de toda a flora patogênica e de quase a totalidade de sua

flora banal, procurando alterar o menos possível sua estrutura física, seu equilíbrio químico e seu teor de vitaminas (VEISSEYRE, 1988).

Inicialmente considerou-se o *Mycobacterium tuberculosis* como o microorganismo mais resistente entre os patogênicos, de tal modo que os índices de temperatura e tempo adotados, não só foram eficientes, como ainda ofereciam segurança ao consumidor. Atualmente o controle de temperatura de pasteurização eficiente e segura do leite tem como base a destruição do microorganismo *Coxiella burnetti*, agente causador da febre Q no homem, que apresenta resistência ao calor superior a do *Mycobacterium tuberculosis*, necessitando de um tratamento de 71,7°C por um tempo de 15 segundos (DIAS e ROGICK, 1967).

A correta utilização da temperatura e tempo tem como objetivos básicos à destruição dos microorganismos patogênicos, tendo como referência o *Mycobacterium tuberculosis* e a *Coxiella burnetti* que são as formas não esporuladas mais resistentes ao calor, e a destruição de 99,5% dos microorganismos banais presentes no leite (BARROS et al., 1984).

A COMISSÃO DO CODEX ALIMENTARIUS (1982) define como pasteurização o processo aplicado ao leite com o objetivo de reduzir ao mínimo os possíveis perigos para a saúde, provenientes de microorganismos patogênicos. Tal processo consiste em um tratamento térmico que provoque as mínimas alterações químicas, físicas e sensoriais do alimento.

O Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária dos Produtos de Origem Animal – RIISPOA (BRASIL, 2002), define pasteurização como o emprego conveniente de calor,

visando destruir a totalidade da flora microbiana patogênica, sem prejuízo de seus elementos bioquímicos, assim como de suas propriedades sensoriais normais.

A legislação brasileira (BRASIL, 2002) permite dois tipos de pasteurização, a lenta com temperatura de 62° a 65°C por 30 minutos e a rápida com temperatura de 72° a 75°C por 15 a 20 segundos. Esses parâmetros de temperatura/tempo de pasteurização foram confirmados na Instrução Normativa nº 51, de 18 de Setembro de 2002 do Ministério de Estado da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, onde define o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de leites cru, refrigerado e pasteurizado permitidos no Brasil.

Geralmente tratamentos térmicos com temperatura abaixo de 100°C são usados em processos de pasteurização. O processo de pasteurização não inativa todos os microorganismos presentes, portanto algumas condições de controle adicionais devem se fazer necessárias, tais como estocagem sob refrigeração, redução da acidez, redução da atividade de água, etc, dependendo do produto final desejado (POTTER e HOTCHKISS, 1995).

GRANT et al. (2005) estudaram o efeito de diversas combinações de tratamento, variando de 72,5 a 84,5°C por 15, 25 e 60 segundos, com e sem homogeneização, sobre a viabilidade do *Mycobacterium avium*. Os autores relataram que, após testar amostras de leite cru com cargas iniciais de 10 a 10<sup>5</sup> células/mL de *Mycobacterium aviu*, o número de amostras positivas foi inferior nas quais o tratamento incluiu a homogeneização. Este fato foi atribuído à menor presença de agregados celulares nas amostras homogeneizadas, possibilitando assim uma maior efetividade do tratamento térmico sobre todas as células presentes nas amostras.

HANSON et al. (2005) avaliaram os efeitos de diferentes combinações de tempo e temperatura sobre a população microbiana do leite fluido. Amostras de leite foram submetidas a diferentes tratamentos térmicos (63°C/30min, 72°C/15s, 76°C/15s e 82°C/30min) e posteriormente armazenadas por 14 dias a 6 ou 10°C. Os autores relataram que as amostras submetidas a 72 e 76°C apresentaram maior contaminação por *Bacillus ssp.* após a pasteurização, porém estes microorganismos estavam presentes após o período de estocagem, indicando que, mesmo após uma injúria severa, 14 dias são o suficiente para a recuperação destes microorganismos.

POTINENI e PETERSON (2005) avaliaram o efeito das condições de tratamento térmico do leite sobre a estabilidade do benzaldeído (composto aromatizante). Foram avaliados 4 grupos de amostras mantidas estocadas a 5°C por 6 dias: 1) amostra controle sem tratamento térmico; 2) leite pasteurizado HTST; 3) leite pasteurizado HTST e posteriormente elevado a 100°C; e 4) leite UHT. As amostras 3 e 4 foram testadas quanto à estabilidade do benzaldeído com e sem a adição de xantil-oxidase. Os autores relataram que nas amostras 1 e 2 90% do benzaldeído foi degradado a ácido benzóico durante os 6 dias de estocagem, enquanto que nas amostras 3 e 4 nenhuma degradação foi observada durante o período de avaliação, mesmo nas amostras adicionadas de xantil-oxidase. Este fato foi atribuído à possível dependência da presença de metais de transição para a ocorrência da degradação do benzaldeído, e, além disso, é possível que as amostras submetidas a temperaturas mais elevadas, podem aumentar o poder quelante das proteínas, devido a sua maior desnaturação. Estes resultados demonstram a importância do tratamento térmico na manutenção da estabilidade do benzaldeído e, conseqüentemente, sobre a manutenção do sabor do leite fluído.

### 3.2.1 Pasteurização de leite

A pasteurização está fundamenta na correta utilização do binômio tempo-temperatura, para garantir a eliminação da microbiota patogênica e a segurança alimentar do produto. Durante a pasteurização todas as partículas devem ser aquecidas até uma certa temperatura mínima por um tempo específico (NACMCF, 2005).

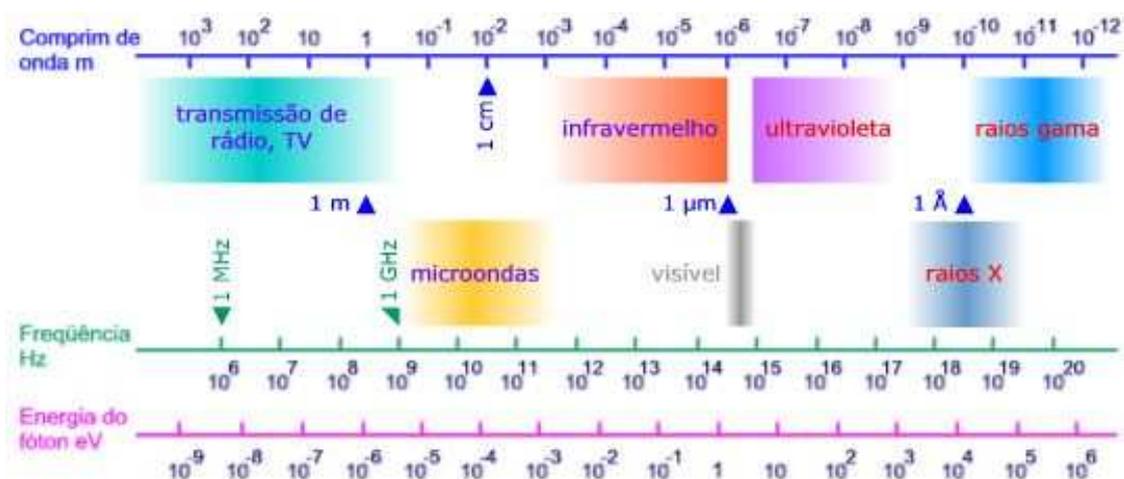
A primeira padronização do processo de pasteurização de leite, 61,7°C por 30 minutos, foi estabelecida em 1924 nos Estados Unidos baseada na temperatura e no tempo de destruição do *Mycobacterium tuberculosis*, causador da tuberculose (MEANWELL, 1927). Em 1956, *Coxiella burnetti*, causador da febre Q, que é destruída a 62,5°C por 30 minutos, foi reconhecido como sendo o microorganismo alvo o que levou a um aumento da temperatura mínima de pasteurização para 63°C; e também se estabeleceu 72°C e 15s como o binômio tempo-temperatura de pasteurização definido como “high temperature and short time” (HTST) (ENRIGHT, SADLER e THOMAS, 1957). Essas condições de tratamento proporcionam a destruição total da flora microbiana patogênica sem alteração sensível da constituição física e do equilíbrio químico do leite (BRASIL, 2002).

BRASIL (2002) estabelece que o leite destinado ao consumo humano direto na forma fluida deve ser submetido a tratamento térmico na faixa de temperatura de 72 a 75°C durante 15 a 20s. Este tratamento deve ser feito em trocador de calor a placas, dotado de painel de controle com termo-registrador e termo-regulador automáticos, válvula automática de desvio de fluxo, termômetros e torneiras de prova, seguindo-se resfriamento imediato em aparelhagem a placas até temperatura igual ou inferior a 4°C e envase em circuito fechado no menor prazo possível, sob condições que minimizem contaminações. (BRASIL, 2002).

O processo de pasteurização rápida (HTST), consta de quatro fases: regeneração, aquecimento, retardamento (ou retenção) e resfriamento. O leite entrando no processo é pré-aquecimento pelo leite passando pelo passando pela regeneração, nesta etapa o leite atinge temperaturas entre 55-60°C. Em seguida o leite passa para a seção de aquecimento, onde troca calor com água quente, atingindo a temperatura de 72-75°C. Na seqüência o produto passa pela retenção, aonde deve ser mantido por 15 a 20 segundos na temperatura de processo. Saindo da retenção o produto passa pela regeneração, aonde fornece calor ao leite entrando no processo. Por último o leite é resfriado, na seção de resfriamento, até a temperatura de 2 a 4°C (VARNAM e SUTHERLAND, 1996).

### **3.3 Microondas**

A radiação é uma forma de energia que se propaga como uma onda eletromagnética. Dentro do espectro eletromagnético, a radiação de microondas é aquela caracterizada pelo intervalo de frequência entre 300MHz e 300GHz (Figura 3.2). A radiação por microondas é uma forma de energia que, movendo-se através de objetos, pode sofrer fenômenos de reflexão, transmissão e absorção. As microondas são refletidas por superfícies metálicas e refratadas por materiais dielétricos. Sua propriedade mais importante para a tecnologia de alimentos é a absorção por materiais dielétricos, em forma de calor (ENGELDER & BUFFLER, 1991). Esta propriedade resulta em tempos de processamento mais curtos, maior rendimento do produto final e usualmente em qualidade superior à encontrada mediante técnicas convencionais do processamento (DECAREAU & PETERSON, 1986).



**Figura 3.2** – Espectro eletromagnético (SOARES, 2007).

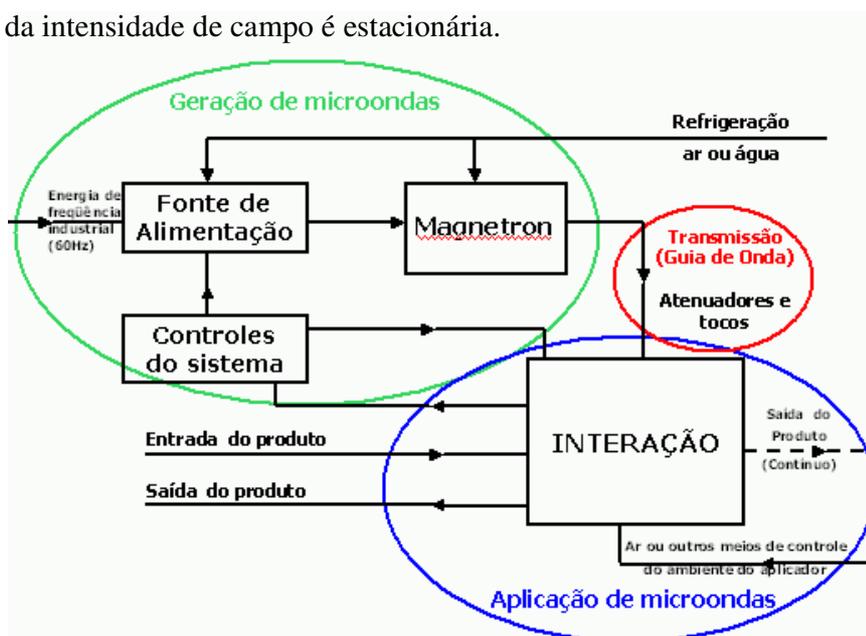
Um sistema de aplicação de microondas é composto basicamente por componentes de geração da energia em uma determinada frequência e de condução da mesma para um aplicador, no qual a potência pode ser dissipada no produto a ser aquecido. A Figura 3.3 apresenta um esquema geral de um sistema de aquecimento por microondas. As partes principais de constituição deste sistema são descritas a seguir (PEREIRA, 2007).

**Sistema de geração de microondas** – é composta pela fonte de alimentação que fornece as tensões e correntes necessárias para alimentar o gerador de microondas. O gerador é um oscilador que converte a potência fornecida pela fonte em energia nas frequências de microondas. As frequências mais utilizadas em eletrotermia industrial e doméstica são de 2,45 e 0,915GHz e o oscilador mais usual é o do tipo magnetron.

**Sistema de transmissão de microondas** – a energia gerada pelo oscilador pode ser transferida de forma guiada por meio da propagação do campo eletromagnético em forma de onda eletromagnética em tubos metálicos altamente condutivos. As ondas são refletidas

nas paredes metálicas do guia, apresentando uma distribuição de campos elétricos de maior intensidade no guia e campo elétrico zero nas paredes.

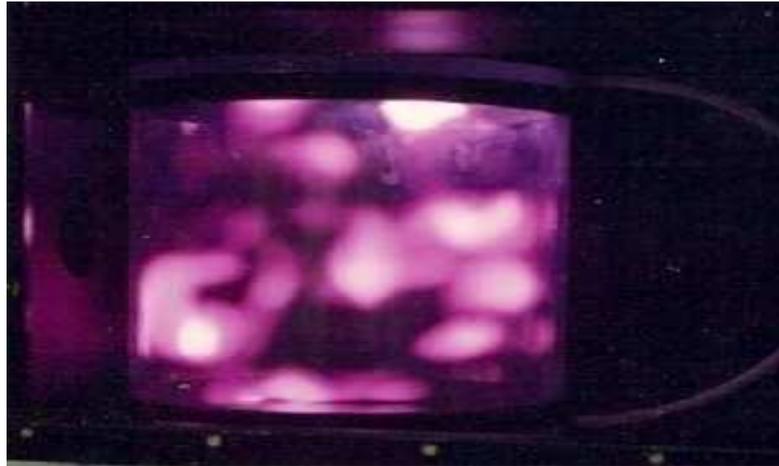
**Sistema de aplicação** – o aplicador, normalmente denominado cavidade, é um volume limitado por paredes metálicas no interior do qual se processa a interação entre o material dielétrico e a energia de microondas. O campo elétrico dentro de uma cavidade apresenta inúmeras reflexões nas suas paredes metálicas, de maneira que proporciona uma propagação de múltiplos modos na distribuição do campo eletromagnético em seu interior. Essa característica é uma das principais vilãs do aquecimento por microondas, pois as reflexões múltiplas promovem o fenômeno de interferência e apresentam como resultado regiões de maiores e de menores intensidades de campo eletromagnético no espaço. A variação da intensidade de campo é estacionária.



**Figura 3.3** – Sistema genérico de aquecimento por microondas (SILVA, 2005).

Sistemas de movimentação da carga ou agitadores de campo (refletores metálicos giratórios) são utilizados, em geral, para minimizar os problemas de aquecimento heterogêneo causado pela formação de ondas estacionárias dentro das cavidades. A Figura

3.4 ilustra, por meio de uma descarga luminosa em um gás rarefeito, a visualização do fenômeno de interferência das microondas dentro de um forno. Nessa figura são observadas zonas de reforço contrastando com zonas adjacentes de anulação da intensidade do campo elétrico.



**Figura 3.4** – Visualização da distribuição do campo elétrico em uma cavidade aplicadora de microondas (MARSALOLI, 1991).

A utilização de microondas soluciona alguns dos problemas enfrentados nos processos de aquecimento convencional. Enquanto este é feito com condução de energia da superfície do material para o seu interior, as microondas possuem uma habilidade de penetração muito alta e geram calor uniformemente através da massa de materiais eletricamente não condutores. Portanto, neste caso, o material que está sendo aquecido tem gradiente de calor menos acentuado e temperatura mais uniforme através de todo material (CAMPOS, 1986).

Atualmente, a principal meta das pesquisas sobre as propriedades elétricas dos alimentos é determinar mecanismos de interação entre os alimentos e a energia eletromagnética nas frequências de microondas, para facilitar o desenvolvimento de

processos e produtos alimentícios. Essas propriedades determinam a quantidade de energia acoplada por um produto alimentício, sua distribuição dentro do produto e, conseqüentemente, o tempo e a frequência das microondas necessárias para o aquecimento dos alimentos em processos de transferência de energia por condução e radiação (MUDGETT, 1986).

### **3.3.1 Mecanismos de aquecimento por microondas**

As frequências de microondas normalmente utilizadas no processamento industrial dos alimentos (915 e 2450 MHz) promovem interações entre os constituintes químicos dos alimentos e o campo eletromagnético, gerando aquecimento instantâneo dentro do produto. Portanto, a utilização da energia de microondas soluciona alguns dos problemas enfrentados nos processos de aquecimento convencional. Neste último, a transferência de calor ocorre por meio da condução de energia da superfície do material para o seu interior. Por outro lado, as microondas, por meio da fricção intermolecular causada principalmente por rotação dipolar de moléculas polares, geram calor internamente ao material. Dessa forma, proporcionam gradiente de calor menos acentuado (CAMPOS, 1986).

Esse aquecimento deve-se inicialmente à ruptura das pontes de hidrogênio fracas associada com a rotação dos dipolos de moléculas de água livre e com a migração eletroforética de sais livres, em um campo elétrico de polaridade rapidamente variável. Portanto os constituintes iônicos aquosos e polares dos alimentos e seus constituintes sólidos associados têm influência direta sobre como o aquecimento será conduzido (MARSAIOLI, 1991).

Os fenômenos básicos envolvidos no aquecimento por microondas são: o acoplamento da energia de um campo eletromagnético pelo produto e a atenuação da absorção da energia dentro do mesmo. As características do aquecimento de material, por sua vez, estão relacionadas não somente com as suas propriedades dielétricas, como também às propriedades de transmissão peculiares aos processos de aquecimento dielétrico e as propriedades térmicas e de transporte que afetam as transferências de calor e massa.

Atualmente, uma das principais metas das pesquisas sobre as propriedades dielétricas dos alimentos é determinar mecanismos de interação entre os alimentos e a energia eletromagnética nas frequências de microondas, para facilitar o desenvolvimento de processos e produtos alimentícios. Essas propriedades determinam a quantidade de energia acoplada por um produto alimentício, sua distribuição dentro do produto e, conseqüentemente, o tempo e a frequência das microondas necessárias para o aquecimento dos alimentos em processos de transferência de energia por condução e radiação (MUDGETT, 1986).

SACHAROW e SCHIFFMANN (1992) destacam que as microondas podem produzir alimentos com melhor sabor, assim como manter os componentes nutricionais em níveis maiores do que outros tipos de tratamento térmico, especialmente por prevenir lixiviação de nutrientes.

### **3.3.2 Propriedades Dielétricas dos Materiais**

O aquecimento de alimentos por microondas, nas frequências geralmente empregadas no processamento industrial dos alimentos (915 e 2450 MHz), resulta do

acoplamento de energia de um campo eletromagnético em uma cavidade de microondas. Essas interações levam à geração de calor instantânea dentro do produto devido ao “atrito molecular”, primariamente por causa da ruptura de pontes de hidrogênio fracas associadas com a rotação dos dipolos de moléculas de água livre e com a migração eletroforética de sais livres em um campo elétrico de polaridade rapidamente variável. Esses efeitos estão predominantemente relacionados com os constituintes iônicos aquosos dos alimentos e seus constituintes sólidos associados e de sua dissipação dentro do produto. Isto resulta em elevação de temperatura instantânea dentro do produto, em contraste com os processos de aquecimento convencionais que transfere energia da superfície, com constantes térmicas de tempo longas e lenta penetração de calor (ENGELDER e BUFFLER, 1991; MARSAIOLI, 1991).

Os alimentos, de modo geral, podem ser visualizados como dielétricos de capacitores não ideais no sentido que eles possuem a habilidade de armazenar e dissipar a energia elétrica de um campo eletromagnético, através de um conjunto de propriedades dielétricas expressa em notação complexa com uma componente real, constante dielétrica, e uma componente imaginária, perda dielétrica. Tais materiais não interagem com o componente magnético do campo por causa da sua baixa permeabilidade magnética. Eles são, além disso, geralmente isolantes pobres, porque dissipam quantias consideráveis de energia elétrica, acoplada através de mecanismos de relaxação e condução relacionados primariamente à água livre e ao teor salino, como calor gerado internamente (JONES, 1986).

Segundo MUDGETT (1986), materiais biológicos agem como maus isoladores, isto é, como capacitores não ideais, em termos de sua habilidade para armazenar e dissipar

energia elétrica de uma aplicação de campo eletromagnético para transferência por irradiação. SENISE (1985), relata que as radiofrequências e as microondas são empregadas para o aquecimento de materiais dielétricos, ou seja, materiais que, além de maus condutores de eletricidade são, geralmente, também maus condutores térmicos. Desde que a energia eletromagnética penetre no material dielétrico, ocorre a transformação em calor por um conjunto de mecanismos em escala molecular e atômica, entre os quais se sobressaem a condução iônica e a rotação dipolar.

Os parâmetros que caracterizam os materiais dielétricos são:

**Permissividade (ou constante dielétrica)  $\epsilon'$** - que mede a capacidade de um material para armazenar energia elétrica, por unidade de volume;

**Fator (ou constante) de perdas  $\epsilon''$** - que é um parâmetro adimensional dado pelas propriedades elétricas do material. Seu valor indica a capacidade do material de dissipar energia elétrica na forma de calor;

**Tangente de perdas** - que é o quociente dos dois, ou seja,  $\tan \delta = \epsilon'' / \epsilon'$ . Seu valor indica a capacidade do material de ser penetrado por um campo elétrico e de dissipar essa energia na forma de calor.

A grande maioria das aplicações de radiofrequência e microondas na indústria relaciona-se com a água. A água, no estado líquido, está incluída entre os dielétricos com valores mais elevados de  $\epsilon'$  e  $\tan \delta$ , o que permite dizer que materiais com água são “fáceis de se aquecer” por microondas ou radiofrequência (JONES, 1986).

Essas propriedades elétricas básicas determinam a extensão da reflexão e transmissão de energia nas superfícies do produto e absorção de energia dentro do produto. As propriedades dielétricas básicas dos alimentos serão consideradas primariamente em

termos dos fenômenos de relaxação e condução, como função da frequência, temperatura, composição química e estrutura física (VON HIPPEL, 1995).

### **3.3.3 Principais aplicações do processamento por microondas**

As aplicações tecnicamente possíveis de microondas em eletrotermia industrial são numerosas, sendo que suas principais aplicações são (SENISE, 1985): na indústria de alimentos, secagem de massas alimentícias, desidratação a vácuo, branqueamento, esterilização, pasteurização, cozimento, descongelamento de carnes; na indústria do papel e gráfica, secagem de tintas e revestimentos, secagem de cola; e na indústria química, selagem de plásticos, secagem de produtos em pó, expansão de espumas, reações químicas incentivadas, eliminação de resíduos tóxicos.

A energia de microondas em sendo testada em estudos de torração e secagem, onde os resultados obtidos foram bastante satisfatórios. FADINI (1998) relata que é possível a torração de cacau por microondas, em menor tempo levando à obtenção de produtos com características sensoriais semelhantes às do produto torrado de forma convencional.

BERTELI e MARSAIOLI (2005) relataram que o tempo de secagem de macarrão curto seco mediante a combinação de ar quente e microondas foi treze vezes menor quando comparado com o processo convencional de secagem. SILVA e MARSAIOLI (2003) testaram o uso da energia de microondas combinada com ar quente na secagem de amêndoas de castanha do Brasil, onde os tempos de secagens obtidos foram bem menores, em relação ao tempo gasto na secagem convencional, tendo-se conseguido manter a preservação do produto final por até seis meses.

Já SOUSA et al. (2001) estudaram o uso de microondas na secagem de bananas da variedade nanicão e concluíram que os níveis de aceitação sensorial das amostras processadas por microondas foram bem superiores aos das amostras comerciais (nacionais e importadas) bem como à das amostras processadas por processo convencional de secagem.

SEVERINI et al. (2005) compararam o branqueamento e a desidratação de batatas com o uso de microondas, com o processo tradicional de branqueamento por imersão em solução de ácido cítrico e desidratação por circulação de ar quente. Eles observaram que a batata tratada por microondas possuía maior capacidade de re-hidratação, e que o processo de branqueamento por microondas foi mais eficiente do que o processo tradicional. No entanto eles apontaram que o custo do processamento por microondas é superior ao do processo clássico.

CHEVANCE e ADRIAN (1992) estudaram os efeitos do tratamento de microondas sobre as características nutricionais dos alimentos. Eles mostraram que a energia de microondas rompe as ligações físicas de baixa energia, mas que ela é insuficiente para destruir ligações de natureza química; a energia de microondas não provoca isomerização de moléculas e não provoca perdas nutricionais. CHEVANCE e ADRIAN (1992) concluíram que a diferença de conservação de nutrientes observada entre os métodos de tratamento por microondas e clássicos deve-se a grande velocidade com que ocorre o aumento de temperatura no tratamento por microondas, bem como a ausência de superfícies de troca térmica direta.

### **3.3.4 Pasteurização de leite por microondas**

A pasteurização de leite por microondas é um método alternativo ao processo convencional que vem sendo desenvolvido desde 1969. Diferentemente de outros sistemas de aquecimento, o aquecimento por microondas proporciona aquecimento rápido e direto, o que reduz o tempo requerido para atingir a temperatura desejada (CLARE et al., 2005). O aquecimento por microondas em produtos alimentícios tem, na maior parte dos casos, envolvido aplicações de microondas em cavidade, sendo que o forno de microondas doméstico é o equipamento mais freqüentemente utilizado (JAYNES, 1975).

HAMID et al. (1969) foram os primeiros a utilizar a energia de microondas na pasteurização de leite, tanto em processos em batelada como em processos em regime contínuo. O sistema contínuo foi projetado usando-se um tubo de vidro colocado obliquamente através de um guia de ondas e usava a gravidade como força impulsora para o escoamento do fluido através do trocador de calor. As temperaturas no processo atingiram valores próximos à 83°C, e as eficiências da pasteurização em batelada e em regime contínuo atingiram os valores de 92,9% e 99,7% respectivamente.

KENYON et al (1971) usaram o processamento contínuo por microondas para processar produtos já embalados. Contudo o aquecimento contínuo de alimentos líquidos objetivando-se a pasteurização tem sido mais limitado. COPSON (1954) e HAAGENSEN (1957) adaptaram o processo para a pasteurização de sucos cítricos. STRENSTRÖM (1972), patenteou um trocador de calor anular a microondas e JAYNES (1975) desenvolveu um sistema experimental de pasteurização a microondas operando em regime contínuo usando um tubo de teflon colocado através de um guia de onda de 2450 MHz. Este último sistema possuía um tempo de retenção de 15s, com um sistema de regeneração a dois

estágios que pré-aquecia o leite que estava entrando e resfriava o leite que estava saindo do processo.

Os Laboratórios de Pesquisa da Unilever desenvolveram uma câmara pressurizada para a pasteurização de leite em queda livre, no entanto, os detalhes desse processo não foram divulgados (SALE, 1992). A energia de microondas também tem sido usada para o aquecimento de leite a 45-60°C para estender a vida de prateleira e diminuir consideravelmente a contagem de psicrófilos e a contagem total em placas (CHIU et al., 1984). MERIN e ROSENTHAL (1984) indicaram que o aquecimento em batelada por microondas (65°C/30min) pode ser mais eficiente que o aquecimento convencional, resultando em maiores reduções na contagem microbiana total do que no processo equivalente convencional. Os efeitos térmicos indesejáveis, tais como alteração de aroma, vitaminas e pigmentos, são reduzidos no tratamento por microondas (MUDGETT, 1986).

LOPEZ-FANDIÑO et al (1996) estimaram o efeito do tratamento térmico contínuo do leite em sistemas de microondas usando indicadores de intensidade do tratamento térmico (desnaturação de  $\beta$ -lactoglobulina, inativação de fosfatase alcalina e de lactoperoxidase). LOPEZ-FANDINO et al (1996) usaram um forno de microondas operando a 2450 MHz para elevar a temperatura do produto de entrada de 20°C até a temperatura de operação, 72°C-85° por 15-25s. Os resultados foram comparados com os resultados obtidos usando-se o sistema convencional tendo as mesmas fases de aquecimento, retenção e resfriamento. O tratamento contínuo por microondas provou ser um sistema efetivo para a pasteurização do leite, com a inclusão de uma etapa de retenção para manter a temperatura e o tempo de processamentos requeridos. Em temperaturas de pasteurização elevadas, a extensão da desnaturação térmica observada com o uso do

tratamento por microondas foi inferior a aquela observada no tratamento convencional. No sistema contínuo de tratamento por microondas as temperaturas são melhor distribuídas no produto e não existem superfícies quentes em contato direto com o leite (LOPEZ-FANDIÑO et al, 1996).

Em trocadores de calor operando em regime contínuo o leite pode sofrer um sobre-aquecimento próximo às superfícies trocadoras de calor dependendo de fatores como as condições de fluxo e a natureza dos sistemas de aquecimento usados. Quando a energia de microondas é usada, o leite é aquecido rapidamente e diretamente, sem superfícies de transferência térmica, evitando gradientes de temperatura que são prevaletentes em sistemas convencionais (KUDRA et al, 1991).

VALERO et al. (2000) compararam o efeito do tratamento térmico do leite realizado em trocador de calor a placas e em sistema de microondas, sobre as características do leite pasteurizado. As amostras foram tratadas a 80 ou 92°C/15s e posteriormente armazenadas sob refrigeração ( $4,5\pm 0,5^{\circ}\text{C}$ ) por 15 dias. Os autores não observaram qualquer diferença entre as amostras ao longo do tempo de estocagem quanto ao pH, características sensoriais, compostos voláteis e monossacarídeos. As amostras submetidas ao tratamento térmico menos intenso (80°C/15s), nos dois sistemas de aquecimento, apresentaram perda de qualidade sensorial ao longo do tempo. As notas atribuídas pelos provadores diminuíram de 6 para 4, numa escala de 0 a 10. Por outro lado, as notas atribuídas as amostras que receberam tratamento térmico mais intenso (92°C/15s) aumentaram de 5 para 6 ao longo do tempo, independentemente do sistema de aquecimento.

VILLAMIEL et al. (1996) estudaram o efeito do aquecimento do leite, entre 73,1 e 96,7°C, por microondas em uma unidade de tratamento contínuo operando a 2450 MHz. O

efeito do tratamento foi estimado pela medição da isomerização da lactose, desnaturação protéica, inativação da fosfatase alcalina e da peroxidase e contagem total de mesófilos. Resultados negativos para fosfatase e baixas contagens de microorganismos mesófilos, juntamente com baixos níveis de desnaturação protéica foram obtidos em várias condições de temperatura/tempo. Os autores concluíram que o processamento contínuo por microondas é eficiente e pode ser uma alternativa ao processo convencional de pasteurização.

### **3.4 Análise sensorial**

A avaliação sensorial é usada para pesquisa em desenvolvimento de novos produtos, alteração de um produto já consolidado no mercado, controle de qualidade de matéria-prima e produto acabado ou estocado, variações no processo e controle de mercado. A avaliação sensorial dos alimentos, além de indicar a opinião de um determinado grupo de consumidores em relação a um ou mais produtos, tem como principais objetivos oferecer subsídios para a melhoria de qualidade, observar os efeitos de processamento ou armazenamento e caracterizar produtos em estudo (AMERINE et al., 1965).

Pode ser realizada por métodos descritivos e por métodos afetivos. Os métodos descritivos abordam o perfil sensorial do produto em questão e avaliam a intensidade das características sensoriais do mesmo. Os métodos afetivos avaliam a preferência ou aceitação de um produto pelo mercado consumidor. O objetivo principal é conhecer a opinião de um grupo de consumidores em relação a uma amostra ou mais. A avaliação da opinião do consumidor pode ser feita quanto ao produto de forma global ou sobre certas

características do produto individualmente, como cor, textura, brilho, sabor, e outros atributos (STONE e SIDEL, 1993).

Os métodos afetivos podem ser feitos de duas maneiras distintas: por teste de preferência e por teste de aceitação do consumidor. O teste de preferência (teste de escolha forçada) tende a medir a preferência do consumidor de um produto em relação a outros. Nesse caso, o provador é “obrigado” a escolher um produto, mas não indica o grau de aceitação do mesmo. Os testes mais utilizados são: comparação pareada, ordenação e preferência múltipla variada (MEILGAARD et al., 1998).

O teste de aceitação avalia o quanto um grupo de consumidores gosta ou desgosta de um produto ou de um grupo de produtos e, embora não detecte a intenção de compra diretamente, é muito útil para ser aplicado antes de testes de pesquisa de mercado. Esses, sim, predizem a performance do produto no mercado. Eles geram informações complementares aos testes de pesquisa de mercado que são conduzidos por uma equipe de marketing. Esse tipo de teste pode ser aplicado em laboratório, na casa do consumidor ou em locais públicos (escolas, shoppings, etc.). Para o teste realizado em laboratório, o número de provadores deve estar entre 25 e 50. Um número menor que 25 pode não apresentar diferença significativa entre as amostras analisadas e um número superior a 50 pode aumentar substancialmente a probabilidade de encontrar diferenças significativas entre elas. Com relação ao número de amostras servidas, a indicação é não passar de cinco amostras por sessão. Assim, o provador permanece menos tempo nas cabines (de 10 a 15 minutos), evitando a fadiga sensorial (STONE e SIDEL, 1993).

A ficha aplicada a esse tipo de teste pode utilizar escala hedônica estruturada e não estruturada. A estruturada pode ser verbal ou mista. A escala hedônica não estruturada é

uma representação gráfica na forma de uma linha simples, geralmente de nove centímetros ancorada nos extremos: desgostei extremamente e gostei extremamente. De acordo com STONE e SIDEL (1993), não há uma evidência clara com relação à igualdade dos intervalos, pois a distância psicológica entre duas categorias pode não ser equivalente, uma vez que o grau de apreciação de cada provador pelos produtos avaliados pode não ser o mesmo.

### **3.5 Vida de prateleira**

A vida útil de um produto (“shelf life” ou vida de prateleira) é definida como o tempo entre o processamento e o ponto no qual o produto torna-se inaceitável para o consumo (CROMIE, 1989). Autores como CROMIE et al. (1989); CROMIE (1991); HOFFMANN et al. (1996); MUIR (1996); BLAKE et al. (1995) definem vida útil ou de prateleira, como sendo o tempo em que o produto permanece agradável, não apresentando alterações de ordem física, química ou sensorial e seguro do ponto de vista de saúde pública. Para VATTE et al (1991), vida de prateleira é o tempo em dias desde a produção até o ponto de venda/compra/utilização do produto pelo consumidor.

LARSEN (1995), considera o termo “shelf life” ou vida de prateleira ambíguo, pois depende do critério a ser considerado como fator de qualidade, muitas vezes critérios diferentes definem tempo de vida útil de um produto como: aceitação do consumidor, crescimento microbiano, alterações físico-químicas, etc.

A qualidade e durabilidade de um produto dependem em grande parte da qualidade da matéria-prima utilizada na sua fabricação (HUNN et al, 1980). Um leite cru de má

qualidade reduz o tempo de vida útil do produto pasteurizado e ainda dificulta a padronização dos derivados (COSTA et al, 1984).

A população microbiana no leite pasteurizado, seu crescimento e atividades metabólicas limitam o tempo durante o qual o leite pode ser estocado para consumo. Pode-se maximizar a vida de prateleira reduzindo o crescimento microbiológico e suas atividades metabólicas, sendo baixas temperaturas de estocagem meios efetivos para prolongar a vida de prateleira do leite (CROMIE, 1991).

Nos Estados Unidos o leite pasteurizado tem vida de prateleira normal de 7 a 14 dias, bastante limitada por ser um produto altamente perecível (CROMIE et al, 1989). Com o advento de novas tecnologias, com a descentralização nas indústrias e mudanças sociais como urbanização e novos hábitos dos consumidores (menor frequência de visitas aos supermercados) têm-se dado ênfase em aumentar a vida de prateleira de certos produtos, principalmente a do leite e seus derivados. Porém com a quebra frequente na cadeia de frio durante a distribuição (laticínios, supermercados e consumidores) o leite pasteurizado tem que apresentar uma boa qualidade, para prevenir a deterioração caso seja mantido a elevadas temperaturas (HOFFMANN et al, 1996).

Muitos trabalhos (VALLE et al. (1979); CROMIE et al. (1989); CROMIE (1991); VATTE e CASTBERG (1991); BLAKE et al. (1995); HOFFMANN et al. (1996); MUIR (1996)) têm sido realizados com o intuito de aumentar a vida útil do leite pasteurizado para produzir leite com maior vida de prateleira, que seja aceitável e seguro para o consumidor às vezes apenas com modificações de temperatura de pasteurização, outras vezes com a incorporação de novas tecnologias (microondas, membranas, tratamento ôhmico) ao processo de beneficiamento.

Segundo CROMIE (1991) e FREDSTED et al (1995) alguns fatores que contribuem e/ou afetam a vida de prateleira do leite pasteurizado são qualidade da matéria prima (microbiológica e físico-química); condições de pasteurização (diferentes tratamentos térmicos); contaminação durante a pasteurização e embalagem; presença e atividade de contaminantes pós-pasteurização; meio ambiente (presença de microorganismos termorresistentes e/ou microorganismo psicrotróficos); tipos de embalagens (polipropileno, caixa).

LARSEN (1995) e NIELSEN (1995), em seus trabalhos de revisão sobre tratamento térmico de leite consideraram que o sistema de pasteurização HTST promoveu uma redução média de 1,0 a 2,0 ciclos logarítmicos da carga inicial de microorganismos mesófilos totais. NIELSEN (1995) considerou ainda uma vida útil de 10 dias para o leite pasteurizado (HTST), quando armazenado a temperaturas de 5°C e de seis dias quando o leite foi armazenado à temperatura de 8°C.

No Brasil a vida de prateleira de um leite pasteurizado é determinada pelos fabricantes segundo o Código de Defesa do Consumidor (BRASIL, 1990), levando em conta não somente as características físico-químicas e microbiológicas, mas também as propriedades sensoriais dos leites pasteurizados. A vida útil de um leite pasteurizado é em média de 2 a 3 dias em condições adequadas de armazenamento, exceto para o leite pasteurizado tipo A, onde sua vida útil pode chegar a 7 dias sob refrigeração.

## **4. MATERIAL E MÉTODOS**

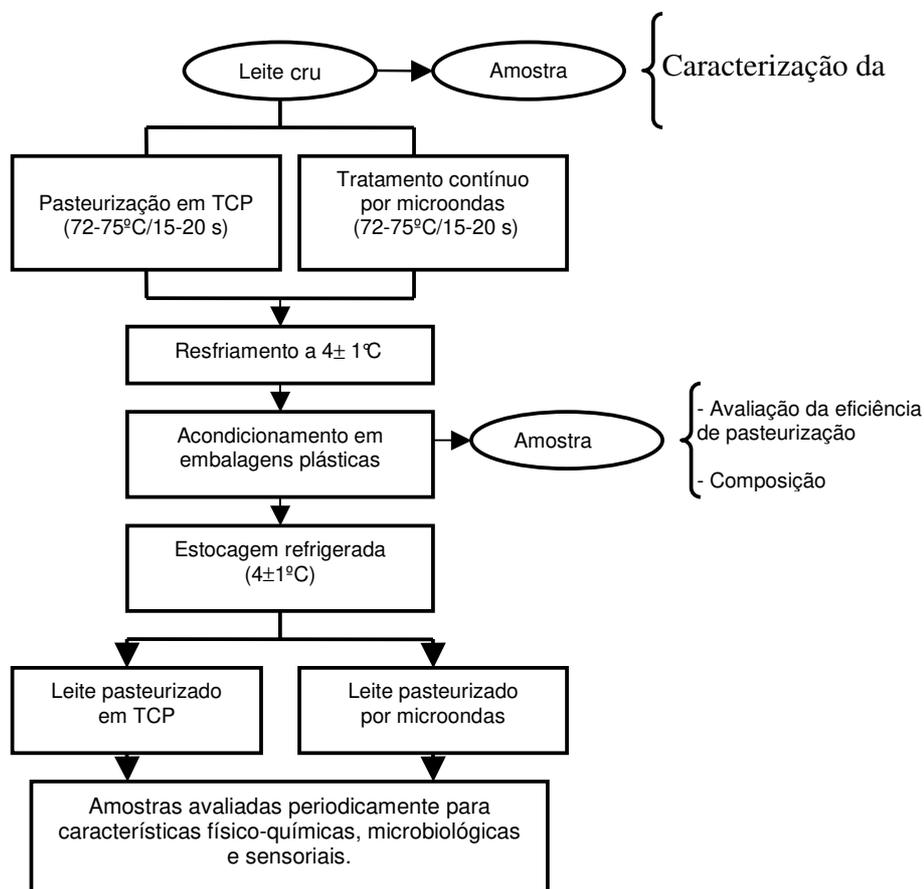
### ***4.1 Matéria-Prima***

O leite cru utilizado nos processamentos foi adquirido na Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia/USP, em Pirassununga/SP. Imediatamente após sua chegada na Faculdade de Engenharia de Alimentos/UNICAMP, o leite foi homogeneizado com misturador perfurado de aço inox previamente higienizado, e amostras representativas do leite cru foram coletadas dos latões e colocadas em frascos estéreis, destinados à realização das análises microbiológicas, e frascos higienizados, para as análises físico-químicas. Em cada um dos três processamentos foram utilizados aproximadamente 100 litros de leite cru integral divididos em 50 litros para a pasteurização em trocador de calor de placas e 50 litros para a pasteurização por microondas. O leite cru foi analisado, para sua caracterização, quanto pH, acidez titulável, extrato seco total, gordura, nitrogênio total, nitrogênio solúvel em pH 4,6 e nitrogênio solúvel em TCA 24%, contagens de bactérias mesófilas, contagem de psicrotóxicos e salmonela.

### ***4.2 Metodologia experimental***

Foram realizados três processamentos entre Abril e Julho/2007. Em cada processamento foram empregados dois sistemas distintos de pasteurização: pasteurização clássica, em trocador de calor de placas, e pasteurização em sistema de microondas.

O esquema geral da metodologia experimental seguida na realização do projeto é apresentado na Figura 4.1.



**Figura 4.1** - Esquema geral de processo.

A amostra de leite recebida em latões foi homogeneizada e em seguida dividida em duas porções de 50 litros. Em seguida foram feitas simultaneamente as pasteurizações pelo método convencional em trocador de calor de placas, e com aplicação de microondas. O binômio tempo-temperatura usado como referência foi 72-75°C/15-20s em ambos os processos. Uma amostra representativa do leite cru foi recolhida para que fossem feitas as análises para caracterização da matéria-prima.

Depois de pasteurizados, os leites de ambos os processos foram resfriados até a temperatura de  $4\pm 1^{\circ}\text{C}$  e então embalados em embalagens plásticas de polietileno do tipo “barriga mole” de cerca de 250mL cada uma. Amostras do leite recém-pasteurizado por ambos os processos foram coletadas para que fossem feitas as análises de fosfatase e peroxidase. A armazenagem no decorrer da vida de prateleira do produto foi feita na temperatura de  $4\pm 1^{\circ}\text{C}$ , em câmara refrigerada.

Amostras de ambos os lotes foram avaliadas diariamente quanto à contagem total em placas para determinação da vida de prateleira do leite pasteurizado, essa análise foi feita até que a contagem padrão em placas atingissem valor superior a  $8 \times 10^4$  UFC/mL para determinação da vida de prateleira. As amostras pasteurizadas também foram avaliadas diariamente quanto a pH, acidez e pela contagem de psicrotróficos; e em dias alternados quanto aos teores de nitrogênio total, nitrogênio solúvel em pH 4,6 e nitrogênio solúvel em TCA 24%, para determinação da proteólise.

As análises realizadas para caracterização da matéria-prima são: pH, acidez titulável, extrato seco total, gordura, nitrogênio total, nitrogênio solúvel em pH 4,6 e nitrogênio solúvel em TCA 24%, contagens de bactérias mesófilas, contagem de psicrotróficos e salmonela. E as análises realizadas no leite recém-pasteurizado foram: pH, acidez, extrato seco total, gordura, nitrogênio total, nitrogênio solúvel em pH 4,6 e nitrogênio solúvel em TCA 24%, contagens de bactérias mesófilas, contagem de psicrotróficos, coliformes, *Salmonella sp.*, fosfatase e peroxidase.

As análises sensoriais de diferença (teste triangular) e de aceitabilidade (escala hedônica) foram feitas no terceiro processamento, nos dias 1, 5, 7, 9, e 12 da vida de prateleira dos produtos. Também foi feito teste de aceitabilidade com o leite pasteurizado

por microondas quando este atingiu o décimo quarto dia de vida de prateleira. As análises de dimensão de glóbulo de gordura foram feitas no sétimo dia da vida de prateleira dos leites do terceiro processamento.

#### **4.2.1 Pasteurização em trocador de calor a placas**

O leite foi pasteurizado em trocador de calor de placas (Sumápack, Sumá Indústria e Comércio Ltda) pelo sistema HTST (*high temperature and short time*, alta temperatura e curto período de tempo) conforme as normas brasileiras (BRASIL, 2002). Durante o processamento o leite cru entrava na unidade de pasteurização e era pré-aquecido pelo leite que estava passando pela seção de regeneração. O leite pré-aquecido seguia para a seção de aquecimento, onde era aquecido por água quente, gerada na caldeira, até a temperatura requerida de 72-75°C. O tubo de retenção garantia que o leite era mantido pelo tempo necessário na temperatura de pasteurização (15-20s). A vazão de leite (100L/h) foi determinada por uma bomba de pressão positiva. A temperatura do leite era medida na saída da seção de aquecimento, caso a temperatura estivesse fora da faixa estabelecida à válvula de desvio abria-se automaticamente, e o leite era descartado.

O trocador de calor de placas utilizado nos processamentos era dotado de painel de controle com termo-registrador de disco e termo-regulador automáticos, válvula automática de desvio de fluxo e termômetros. O resfriamento foi feito imediatamente após a pasteurização, até a temperatura de  $4\pm 1^\circ\text{C}$ . O envase foi feito imediatamente após a pasteurização em embaladeira (Sumápack, Sumá Indústria e Comércio Ltda) provida de luz

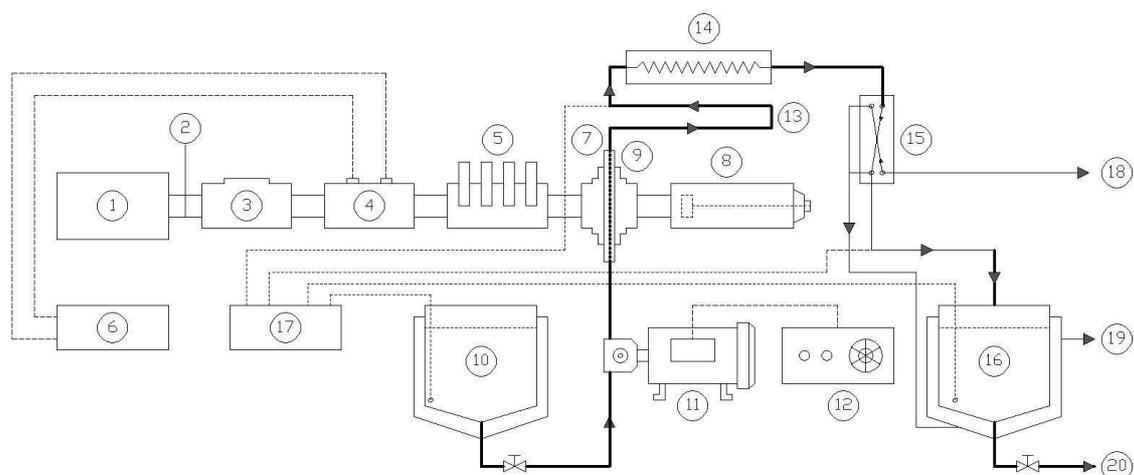
ultra-violeta. A Figura 4.2 ilustra o trocador de calor de placas empregado na pasteurização do leite.



**Figura 4.2** - Trocador de calor de placas com capacidade para 100 L/h.

#### **4.2.2 Pasteurização em sistema aplicador de microondas**

Para o processamento por microondas foi usado um sistema aplicador de microondas de 700W e 5,8GHz operando em fluxo contínuo (modelo GA4007A, Gerling Applied Engineering Inc., Estados Unidos) (Figuras 4.3 e 4.4). Este equipamento foi escolhido por oferecer um campo eletromagnético homogêneo e máximo na região de fluxo do produto.



- |                  |                               |                                  |
|------------------|-------------------------------|----------------------------------|
| [1] Gerador      | [8] Curto móvel               | [15] Trocador de calor de placas |
| [2] Guia-de-onda | [9] Tubo de quartzo           | [16] Tanque de aço inoxidável    |
| [3] Circulador   | [10] Tanque de aço inoxidável | [17] Termômetro multi-canais     |
| [4] Acoplador    | [11] Moto bomba peristáltica  | [18] Água a 4°C                  |
| [5] Sintonizador | [12] Variador de velocidade   | [19] Retorno ao sistema          |
| [6] Watímetros   | [13] Tubo de retenção         | provedor de água gelada          |
| [7] Aplicador    | [14] Pré-resfriador           |                                  |

**Figura 4.3** – Esquema do sistema aplicador de microondas.

As microondas provenientes de um gerador [1], dotado de regulagem de potência, percorrem o guia-de-onda [2] e adquirem uma configuração estacionária em virtude da reflexão no final do guia-de-onda junto ao curto móvel [8]; este é posicionado de modo tal a que o valor do campo elétrico seja máximo no plano transversal ao guia-de-onda que é atravessado por um tubo de quartzo [9] por onde circula o leite no aplicador [7]. Um ajuste fino complementar é feito através da regulagem micrométrica dos 4 tocos do sintonizador [5], a fim de minimizar a onda refletida, o que pode ser monitorado pela leitura de dois wattímetros [6], um que mede a potência transmitida e outro que mede a potência refletida, através dos dois sensores incorporados no acoplador [4]. Qualquer parcela excedente de potência refletida poderá ser absorvida pelo circulador [3], onde está situada uma carga

d'água. O leite cru é armazenado a baixa temperatura, não superior a 10°C no início, em um tanque de aço inoxidável [10], de onde é bombeado pela moto-bomba peristáltica [11], com vazão ajustável pelo variador de velocidade [12], para atravessar o guia-de-onda através do tubo de quartzo [9]. Neste trecho o leite, com vazão ajustada à razão de 9L/h, é aquecido a uma temperatura de pasteurização (72 a 75°C) mantido nessa temperatura no tubo de retenção (15-20s) [13], de onde é imediatamente resfriado ao passar por um pré-resfriador [14], que é constituído de uma serpentina de tubo de aço inoxidável imerso em mistura água-gelo, para a seguir percorrer um trocador de calor de placas [15], resfriado pela circulação de água a 4°C entrando em [18] e saindo, após passar pela camisa do tanque de estocagem de aço inoxidável [16], pela conexão [19] de volta ao sistema provedor de água gelada. As temperaturas do processo são monitoradas por termopares conectados ao termômetro multi-canais [17]. O envase foi feito imediatamente após a pasteurização em embaladeira (Sumápack, Sumá Indústria e Comércio Ltda) provida de luz ultra-violeta. A foto da Figura 4.4 ilustra a montagem física do sistema esquematizado na Figura 4.3, sem o trocador de calor de placas.



**Figura 4.4** - Equipamento de microondas com capacidade para 9 L/h.

### ***4.3 Determinações analíticas***

#### **4.3.1 Análises Físico-químicas**

##### ***pH***

A determinação do pH das amostras foi feita à temperatura ambiente por leitura direta em potenciômetro digital (LANARA, 1981).

##### ***Acidez titulável***

A acidez foi determinada através da titulação da amostra com hidróxido de sódio N/9 e 4 gotas de solução indicadora fenolftaleína, de acordo com AOAC, até o

aparecimento de coloração levemente rósea persistente (metodologia 33.02.06, AOAC, 1995).

### ***Extrato seco total***

A determinação do extrato seco total foi feita por secagem em estufa a 105°C de acordo com AOAC (metodologia 33.2.09/A, AOAC, 1995).

### ***Gordura***

A determinação do teor de gordura foi feita pelo método de Geber, no qual após a digestão total dos componentes orgânicos, excetudando-se a gordura, através da adição de ácido sulfúrico seguida de centrifugação, faz-se a leitura direta da porcentagem de gordura na escala do butirômetro (BRITISH STANDARD INSTITUTION, 1989).

### ***Frações nitrogenadas***

#### ***Proteína total***

A determinação do nitrogênio total foi feita pelo método micro-Kjeldahl para leite de acordo com AOAC (metodologia 33.2.11, AOAC, 1995). Foi feita a titulação das amostras previamente digeridas em blocos digestores modelo – TE 008/50, e destilados em destilador modelo TE-036, com ácido clorídrico 0,02N.

#### ***Nitrogênio solúvel em pH 4,6***

A determinação de nitrogênio solúvel em pH 4,6 foi feita pelo método macro-Kjeldahl de acordo AOAC (metodologia 33.2.18, AOAC, 1995). Foi feita a titulação das amostras, previamente digeridas em blocos digestores modelo – TE 008/50, e destilados em destilador modelo TE-036, com ácido clorídrico 0,02N.

### Nitrogênio solúvel em TCA 24%

A determinação da fração de nitrogênio solúvel em TCA 24% foi feita pelo método micro-Kjeldahl para leite de acordo com AOAC (metodologia 33.2.12, AOAC, 1995). Foi feita a titulação das amostras, previamente digeridas em blocos digestores modelo – TE 008/50, e destilados em destilador modelo TE-036, com ácido clorídrico 0,02N

A proteína total foi determinada multiplicando-se o nitrogênio total pelo fator de conversão 6,38. A caseína foi calculada através da subtração do nitrogênio solúvel em pH 4,6 do nitrogênio total. A proteína verdadeira foi calculada multiplicando-se a diferença do nitrogênio total e do nitrogênio solúvel em TCA 24% por 6,38.

### ***Fosfatase***

A atividade da enzima foi avaliada segundo metodologia descrita na AOAC 33.2.50 (1995), a qual se baseia no potencial da enzima, quando ativa, de hidrolisar os ésteres fosfóricos, com liberação de fenol. Este condensa com a 2.6 dibromo ou 2.6 dicloroquinona cloroimida dando um indofenol que em meio alcalino apresenta coloração azul.

### ***Peroxidase***

A atividade da enzima foi avaliada segundo metodologia descrita por LANARA (1981), a qual se baseia no potencial da enzima, quando ativa, de hidrolisar o peróxido de hidrogênio, liberando oxigênio, que transforma o guaiacol da sua forma leuco para sua forma corada.

### ***Diâmetro médio dos glóbulos de gordura***

O cálculo do diâmetro médio dos glóbulos de gordura foi realizado de acordo com o método descrito por TROUT (1950) com algumas modificações. Para o preparo das

lâminas colocou-se uma gota da amostra diluída (0,1mL de leite : 20 mL de glicerina 40%) em uma lâmina escavada, colocando-se uma lamínula sobre a lâmina. Foi feito o exame direto em microscópio das laminas preparadas para os leites de ambos os processamentos. Examinaram-se cinco campos diferentes de cada lâmina, selecionados ao acaso, listando-se o número de glóbulos de cada tamanho presente em cada campo. Realizou-se a contagem e a medida dos glóbulos utilizando-se uma objetiva de imersão de 100 X. A ocular possuía uma escala micrométrica calibrada.

O diâmetro médio dos glóbulos de gordura foi calculado por:

$$\bar{d} = \frac{\sum n \times d}{N}$$

Onde:  $\bar{d}$  = diâmetro médio dos glóbulos de gordura

n = número de glóbulos de diferentes diâmetros

d = diâmetro dos glóbulos ( $\mu$ );

N = número total de glóbulos observados.

### 4.3.2 Análise microbiológica

#### *Contagem padrão em placas*

A contagem padrão em placas foi feita pelo método de plaqueamento em profundidade, utilizando agar padrão (PCA), incubando as placas a 35°C por 48 horas, segundo (APHA, 1992).

A eficiência da pasteurização em termos de destruição de microorganismos mesófilos foi calculada por:

$$\text{Eficiência} = \frac{\text{CMMI} - \text{CMMD}}{\text{CMMI}} \times 100$$

CMMI

Onde: CMMI = contagem de microorganismos mesófilos presentes no leite cru

CMMD = contagem de microorganismos mesófilos presentes no leite pasteurizado

### ***Coliformes a 30-35°C e a 45°C***

A contagem de coliformes foi feita pelo método do número mais provável (NMP) através das seguintes etapas: 1) Inoculação em Caldo Lauril Sulfato Triptose (LST) incubado por 48 horas a 35°C; 2) Transferência de uma alçada dos tubos com produção de gás para tubos contendo Caldo Verde Brilhante Bile (VB) e incubação a 35°C por 48 horas; 3) Transferência de uma alçada dos tubos com produção de gás para Caldo E. coli (EC) e incubação em banho-maria 45,5°C por 24 horas (APHA, 1992).

### ***Salmonella sp.***

A contagem de unidades formadoras de colônia de *Salmonella sp.* foi feita seguindo-se as seguintes etapas: 1) Pré-enriquecimento em água peptonada tamponada e incubação a 35°C/18-24 horas; 2) Enriquecimento seletivo em Caldo Tetrionato (TT) e em Caldo RV (Rappaport-Vassiliadis), incubados a 35°C/18-24 horas e 42°C/18-24 horas, respectivamente; 3) Transferência de uma alçada para Agar HE (Hektoen Entérico), Agar XLD (Xilose Lisina Desoxicolato) e para Agar Bismuto Sulfito (BS); 4) Identificação das colônias suspeitas em Agar Tríplice Açúcar e Ferro (TSI) e em Agar Lisina e Ferro (LIA) (APHA, 2001).

## ***Psicrotróficos***

A contagem de psicrotróficos foi feita pelo método de plaqueamento em superfície, utilizando agar padrão (PCA), incubando-se as placas a 7°C por 10 dias, segundo (APHA, 1992).

### **4.3.3 Vida de prateleira do leite pasteurizado**

O final da vida de prateleira do leite pasteurizado foi estabelecido como sendo o primeiro dia em que as amostras apresentaram contagem total de microorganismos mesófilos aeróbios superior a  $8,0 \times 10^4$  UFC/mL, valor este considerado o limite máximo para a comercialização do leite pasteurizado segundo a Instrução Normativa 51, Anexo 5 (BRASIL, 2002).

### **4.3.4 Análise sensorial**

Para avaliar se existe diferença entre os leites pasteurizados em trocador de calor de placas e por microondas aplicou-se o teste triangular. Foram servidas aos provadores 3 amostras de 30 mL de leite em copos plásticos numerados aleatoriamente. Duas dessas amostras eram iguais e uma amostra diferente. Os provadores foram solicitados a identificar qual das amostras fornecidas era diferente (ASTM, 1968). Este teste foi aplicado nos dias 1, 5, 7, 9 e 12 da vida de prateleira dos leites obtidos no terceiro processamento.

Para se determinar a aceitabilidade dos leites produzidos pelos dois processos de pasteurização, utilizou-se o método da escala hedônica de 9 pontos conforme descrito por CHAVES e SPROESSER (1996) e por DUTCOSKY (1996). Os provadores receberam



<p>Ficha de avaliação sensorial</p> <p>ESCALA HEDÔNICA</p>	
Nome: _____	Data: __/__/____
<p>Por favor, prove as amostras codificadas de leite pasteurizado e, utilizando a escala abaixo, indique o quanto você gostou ou desgostou.</p>	
(9) Gostei muitíssimo	Amostra n°: _____ _____
(8) Gostei muito	
(7) Gostei regularmente	
(6) Gostei ligeiramente	
(5) Indiferente	
(4) Desgostei ligeiramente	
(3) Desgostei regularmente	
(2) Desgostei muito	
(1) Desgostei muitíssimo	
Comentários: _____ _____ _____ _____	

**Figura 4.6** – Modelo de ficha usada no teste de aceitabilidade.

#### **4.4 Análises estatísticas**

O delineamento experimental utilizado foi o Split-plot temporal com dois fatores (STELL e TORRIE, 1960). O fator principal foi o tipo de processamento do leite, por microondas e em trocador de calor a placas; o fator secundário foi o tempo de estocagem do leite pasteurizado, cujos níveis de variação foram dependentes da vida de prateleira do produto.

O efeito dos tratamentos sobre as características físico-químicas e microbiológicas do leite cru e físico-químicas do leite pasteurizado foi avaliado por análise de variância multivariada e pelo teste de comparação entre médias de Sheffé, ao nível de 5% de significância.

Os resultados da análise sensorial foram avaliados por análise de variância (ANOVA), com a utilização do teste de Tukey, considerando-se um nível de significância  $p=0,05$ .

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Caracterização da matéria prima

Os dados de qualidade da matéria-prima (leite cru) utilizada para a realização dos três processamentos são apresentados na Tabela 5.1.

**Tabela 5.1** – Características físico-químicas e microbiológicas do leite cru.

Características	Média	DP
pH	6,78	0,03
Acidez (°D)	15,63	0,18
Extrato seco total (%)	12,32	0,03
Gordura (%)	3,43	0,06
Extrato seco desengordurado (%)	8,89	0,03
Proteína total (%)	3,37	0,01
Caseína (%)	2,73	0,04
N <sub>SpH4,6</sub> (% da PV)	19,07	0,26
N <sub>STCA24%</sub> (% da PV)	5,54	0,12
Caseína (% da PV)	80,92	0,26
Mesófilos (UFC/mL)	2,9x10 <sup>4</sup>	0,31
Psicrotróficos (UFC/mL)	3,6x10 <sup>4</sup>	0,10

Os valores médios de acidez titulável, gordura, extrato seco desengordurado e proteína total estão de acordo com a legislação, apresentando variações dentro dos limites esperados. Os valores preconizados pela Instrução Normativa nº 51 para o leite cru refrigerado são: acidez titulável de 14 a 18°D; mínimo de 3,0g de gordura/100g de leite; mínimo de 8,4g de sólidos não gordurosos/100g de leite; e, mínimo de 2,9g de proteína/100g de leite (BRASIL, 2002). Os valores médios obtidos para todos os parâmetros estão de acordo com os valores apresentados por SANVIDO (2007).

O leite cru apresentou baixa contagem de microorganismos mesófilos, com contagem total de  $2,9 \times 10^4$  UFC/mL, a qual é inferior ao limite estabelecido pela Instrução Normativa nº51, que estabelece o máximo de  $1,0 \times 10^6$  UFC/mL (BRASIL, 2002); e apresentou, igualmente, baixa contagem de microorganismos psicrotróficos.

As matérias-primas (leite cru) utilizadas nos processamentos foram de boa qualidade apresentando baixas contagens microbiológicas, e situando-se dentro dos padrões físico-químicos e microbiológicos esperados.

## **5.2 Caracterização do leite pasteurizado**

As médias de composição do leite imediatamente após a pasteurização quanto a fosfatase, peroxidase, pH, acidez, extrato seco total, gordura, proteína total, caseína, NSpH4,6 (%PV), NSTCA24% (%PV), caseína (%PV), contagem de microorganismos mesófilos, contagem de microorganismos psicrotróficos, coliformes 30-35°C, coliformes 45°C e *Salmonella sp.*, são apresentados na tabela 5.2.

**Tabela 5.2** – Características físico-químicas e microbiológicas do leite pasteurizado.

Características	TCP	micro	p
Fosfatase	negativo	negativo	-
Peroxidase	positivo	positivo	-
pH	6,77 ± 0,03 <sup>a</sup>	6,78 ± 0,02 <sup>a</sup>	0,783
Acidez (°D)	15,6 ± 0,2 <sup>a</sup>	15,9 ± 0,5 <sup>a</sup>	0,418
Extrato seco total (%)	12,51 ± 0,08 <sup>a</sup>	12,54 ± 0,07 <sup>a</sup>	0,716
Gordura (%)	3,43 ± 0,06 <sup>a</sup>	3,43 ± 0,06 <sup>a</sup>	1,000
Proteína total (%)	3,28 ± 0,07 <sup>a</sup>	3,36 ± 0,02 <sup>a</sup>	0,107
Caseína (%)	2,65 ± 0,03 <sup>a</sup>	2,71 ± 0,00 <sup>a</sup>	0,898
NSpH4,6 (% da PV)	19,2 ± 0,3 <sup>a</sup>	19,3 ± 0,4 <sup>a</sup>	0,972
NSTCA24% (% da PV)	5,5 ± 0,1 <sup>a</sup>	5,5 ± 0,2 <sup>a</sup>	0,978
Caseína (% da PV)	80,7 ± 0,3 <sup>a</sup>	80,7 ± 0,4 <sup>a</sup>	0,972
Mesófilos (UFC/mL)	2,7 x 10 <sup>2a</sup>	4,7 x 10 <sup>1b</sup>	<0,01
Psicrotróficos (UFC/mL)	5,4 x 10 <sup>0a</sup>	1,8 x 10 <sup>0b</sup>	0,024
Coliformes 30-35°C (NMP/mL)	0,07 ± 0,04 <sup>a</sup>	<0,03 <sup>a</sup>	0,484
Coliformes 45°C (NMP/mL)	<0,03 <sup>a</sup>	<0,03 <sup>a</sup>	1,000
<i>Salmonella spp.</i> (25mL)	ausência	ausência	-

<sup>a, b</sup> Médias com a mesma letra não diferem significativamente entre si (p>0,05).

Os processamentos tanto por TCP como por microondas obtiveram resultados de fosfatase negativa e de peroxidase positiva, indicando pasteurização eficiente e atendendo aos requisitos da legislação brasileira. Não foram observadas diferenças significativas entre a composição dos leites pasteurizados por microondas e em TCP quanto aos parâmetros pH, acidez, extrato seco total, gordura, proteína total, caseína, NSpH4,6 (%PV), NSTCA24% (%PV) e caseína (%PV).

Nenhum lote apresentou desenvolvimento de *Salmonella spp.* em 25mL de amostra; a contagem de coliforme totais e fecais foi respectivamente de 0,07 NMP/mL e inferior a 0,03 NMP/mL para leite pasteurizado em trocador de calor de placas e inferior a 0,03 para o leite pasteurizado por microondas. Portanto ambos os processos atenderam as exigências da legislação que preconiza que imediatamente após a pasteurização o produto deve

apresentar coliformes 30-35°C <0,3 NMP/mL, limite máximo de coliformes igual a 4NMP/mL e ausência de *Salmonella spp* em 25mL. A diferença no NMP/mL de coliformes 30-35°C não foi estatisticamente significativa.

Com relação à carga de psicrotróficos, foi observado no presente estudo, que todos os lotes apresentaram contagens da ordem de 10<sup>0</sup>UFC/mL, demonstrando boa eficiência do processo quanto à destruição dessas bactérias, já que a contagem inicial era da ordem de 10<sup>4</sup>UFC/mL. Segundo TEIXEIRA (2000) o número de psicrotróficos não deve ultrapassar 10% do de mesófilos, observa-se que os leites de ambos os processos atenderam com segurança a este critério. As contagens de psicrotróficos diferiram significativamente (p=0,024) entre si, sendo que a contagem do leite pasteurizado em trocador de calor de placas é maior do que no leite pasteurizado por microondas.

A Tabela 5.3 mostra a eficiência de pasteurização para os dois sistemas, considerando a contagem de microorganismos mesófilos do leite cru e dos leites pasteurizados. Pode-se concluir que ambos os sistemas de pasteurização foram eficientes, uma vez que foi obtida uma redução de 2 ciclos logarítmicos para a pasteurização em trocador de calor de placas e 2,7 para a pasteurização por microondas. O resultado obtido está de acordo com os valores preconizados pela literatura nacional e internacional que é de 2 a 3 ciclos log de redução da carga microbiológica inicial (BRASIL, 2002; FREDSTED et al., 1995).

**Tabela 5.3** – Eficiência de pasteurização em termos de redução da carga mesófila.

Sistema de pasteurização	Eficiência de pasteurização (%)	Redução em ciclos logarítmicos (mesófilos aeróbios)
TCP	98,76	2,0
Microondas	99,74	2,7

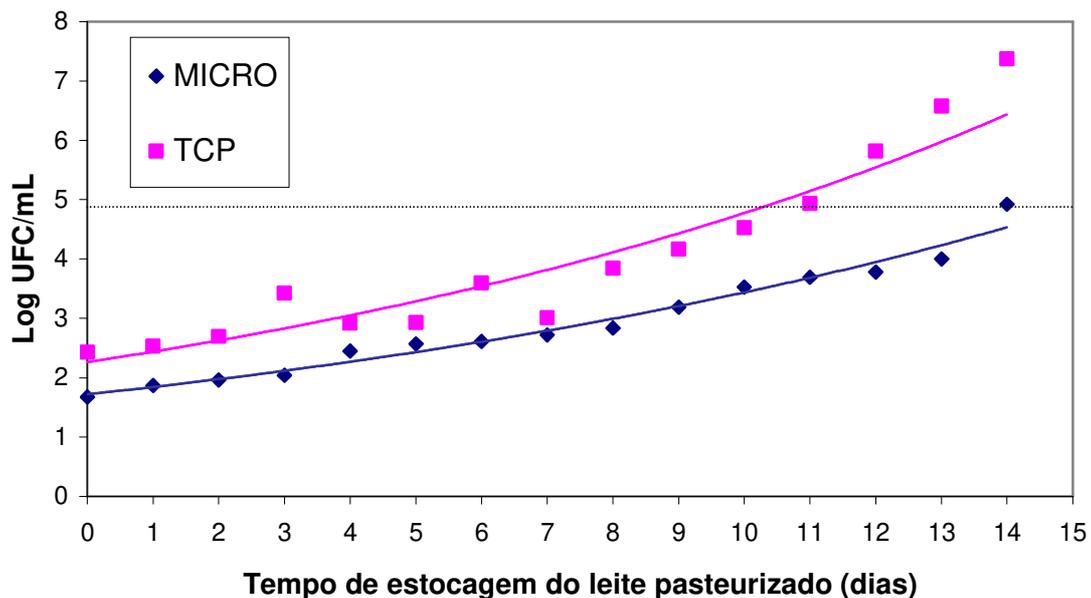
Os valores médios de mesófilos para ambos os processos foram compatíveis com o limite para leite tipo B pasteurizado, que é de  $8 \times 10^4$  UFC/mL (BRASIL, 2002). No entanto o valor médio de mesofilos no leite pasteurizado por microondas é significativamente diferente do valor médio de mesófilos no leite pasteurizado em TCP. Esse resultado condiz com os resultados apresentados por HAMID (1969) e por VILLAMIEL (1996) na pasteurização em batelada na frequência de 2,45MHz, e por MERIN e ROSENTHAL (1984) na pasteurização em batelada também na frequência de 2,45MHz.

A maior eficiência do processo por microondas pode ser explicada pelo mecanismo de aquecimento que é empregado. As microondas interagem diretamente com a matéria provocando aquecimento instantâneo devido à interação do campo elétrico das moléculas com as ondas eletromagnéticas em diferentes fases produzindo a condução iônica e a rotação dipolar, enquanto no TCP a transferência de energia para a matéria é feita por condução. A letalidade microbiana é resultado da penetração do leite pelas ondas eletromagnéticas, as quais aquecem fluidos intra e extra-celulares por transferência de energia das moléculas dipolares de água e íons dissolvidos. STILES (1963), FUNG e CUNNINGHAM (1980) em seus trabalhos sugerem que a destruição dos microorganismos seja causada principalmente devido a um efeito térmico de exposição às microondas, mas que o mecanismo da destruição ainda não é compreendido inteiramente.

### ***5.3 Vida de prateleira***

Os resultados das análises de contagem de microorganismos mesofilos foram comparados com os padrões microbiológicos estabelecidos pela legislação brasileira. O fim da vida de prateleira dos leites foi estabelecido quando os mesmos atingiram contagem de

microorganismos aeróbios mesófilos superior a  $8 \times 10^4$  UFC/mL. Este valor é sugerido pela IN nº51 como limite máximo aceitável para leite pasteurizado (BRASIL, 2002). O comportamento de microorganismos mesofílicos aeróbios ao longo do tempo é apresentado na Figura 5.1, onde se observa o aumento da contagem total para ambos os processos, durante o período de estocagem.



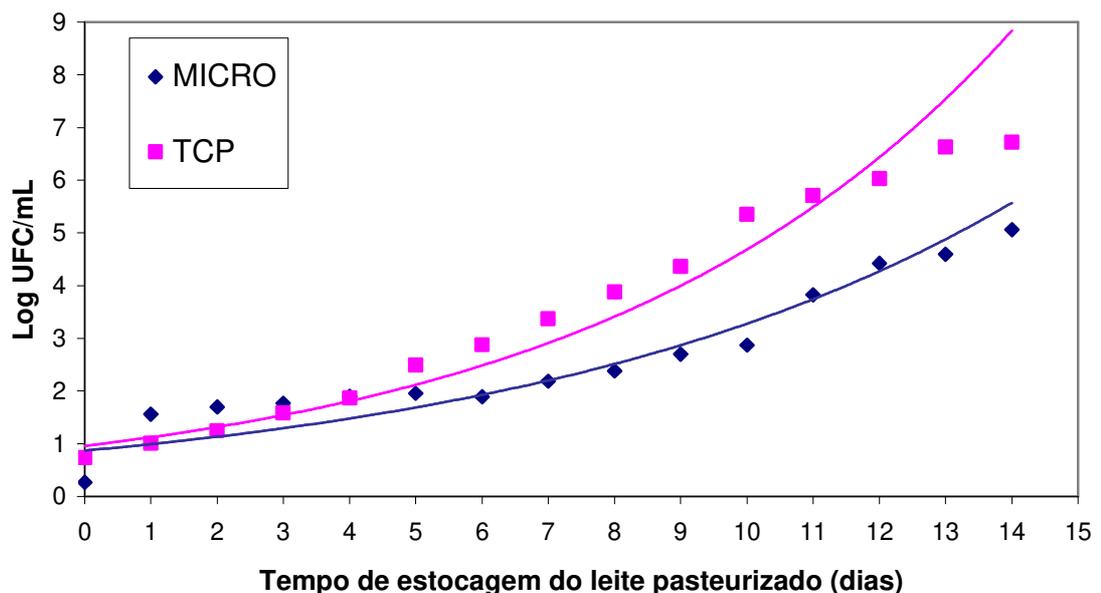
**Figura 5.1** – Desenvolvimento de microorganismos mesófilos durante o período de estocagem do leite pasteurizado.

O tempo de armazenamento teve efeito significativo ( $p < 0,01$ ) sobre o crescimento de mesófilos, enquanto que o tipo de pasteurização e a interação entre os fatores não apresentaram significância estatística ( $p = 0,047$  e  $p = 0,978$ , respectivamente).

O tempo necessário para se atingir o limite da vida de prateleira foi maior na pasteurização por microondas, nessa condição de processamento a vida de prateleira do leite foi de 14 dias, enquanto que na pasteurização em TCP foi de 11 dias. As microondas agem sobre as moléculas de água intracelulares dos microorganismos e extracelulares presentes no leite gerando calor, as moléculas de água ao aquecerem passam do estado

líquido para o estado vapor; a água no estado vapor ocupa um volume maior, dilatando a parede celular do microorganismo até que ocorra o rompimento. O mesmo ocorre no tratamento em trocador de calor de placas, mas o mecanismo de aquecimento é a condução, sendo necessário um tempo maior para que o calor comece a gerar efeitos sobre a microbiota do leite. Resultados parecidos para a vida de prateleira de leite pasteurizado por microondas foram obtidos por VILLAMIEL (1996) e por CROMIE (1991) para a pasteurização por microondas em regime contínuo, em forno de microondas doméstico adaptado, de frequência 2,45MHz, e por SANVIDO (2007) para o leite pasteurizado em TCP armazenado a  $4 \pm 1^\circ\text{C}$ . CLARE (2005) obteve vida de prateleira de 10 dias armazenando o leite achocolatado pasteurizado por microondas a  $5 \pm 2^\circ\text{C}$ .

O tempo de armazenamento afetou significativamente o desenvolvimento de microorganismos psicrotróficos ( $p=0,02$ ), já o tipo de processamento (microondas ou TCP), e a interação entre os fatores não tiveram efeito significativo ( $p=0,18$  e  $p=0,81$ , respectivamente). O comportamento de microorganismos mesófilos aeróbios ao longo do tempo é apresentado na Figura 5.2.

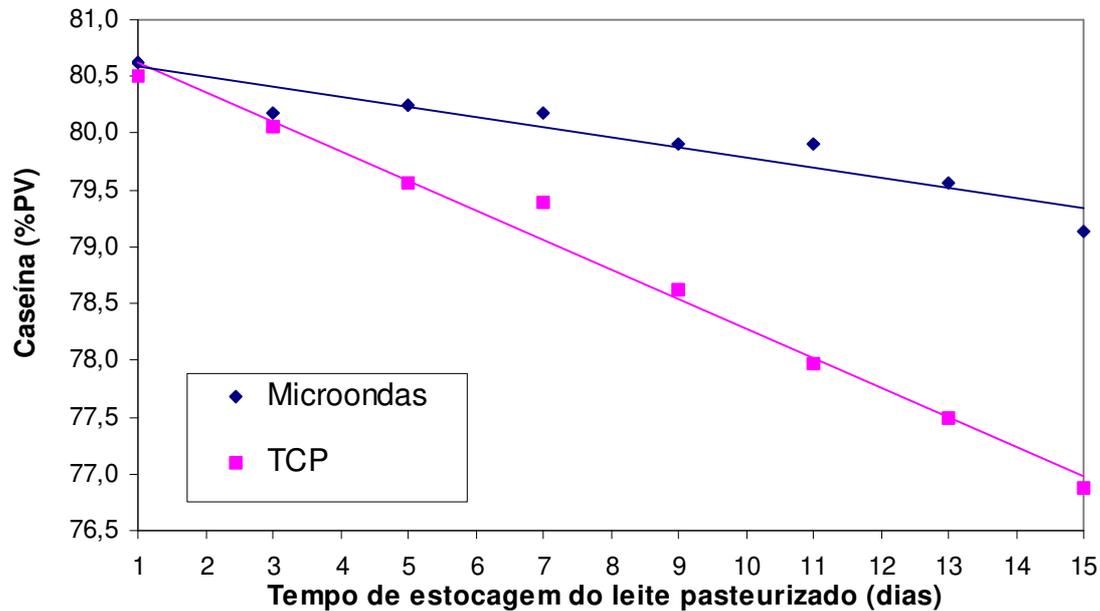


**Figura 5.2** – Evolução da contagem de microorganismos psicrotróficos durante a vida de prateleira.

Observa-se que há um aumento exponencial no número de psicrotróficos (UFC/mL) presentes no leite para ambos os processos, sendo a curva do leite TCP levemente mais acentuada do que no leite MICRO. Psicrotróficos presentes no leite armazenado, em baixas temperaturas (abaixo de 7°C), desenvolvem uma série de atividades metabólicas relacionadas ao seu crescimento e manutenção e que leva tanto à fermentação de carboidratos como à hidrólise de proteínas e lipídios (COUSIN, 1982). Essas alterações dos componentes do leite, em função do crescimento dos psicrotróficos, limitam a vida de prateleira dos produtos lácteos devido ao aparecimento de alterações no sabor e no odor, assim como na aparência desses produtos.

O valor de  $10^6$  UFC/mL de psicrotróficos é considerado crítico para a qualidade do leite (SANTOS, 2007), mas não define o término da vida de prateleira. Tal valor foi atingido no 12º dia para o leite TCP e no 15º dia para o leite micro. A contaminação do leite por bactérias psicrotróficas é considerada o fator mais crítico que influencia a manutenção da qualidade do leite refrigerado (VEIGA, 2007).

A evolução da proteólise, expressada em termos de porcentagem de caseína (%PV), é apresentada na figura 5.3. Houve efeito significativo tanto do tipo de tratamento ( $p=0,01$ ) quanto do tempo de estocagem ( $p<0,01$ ) sobre este parâmetro. Não houve efeito significativo da interação tempo x tipo de tratamento sobre a caseína (%PV).



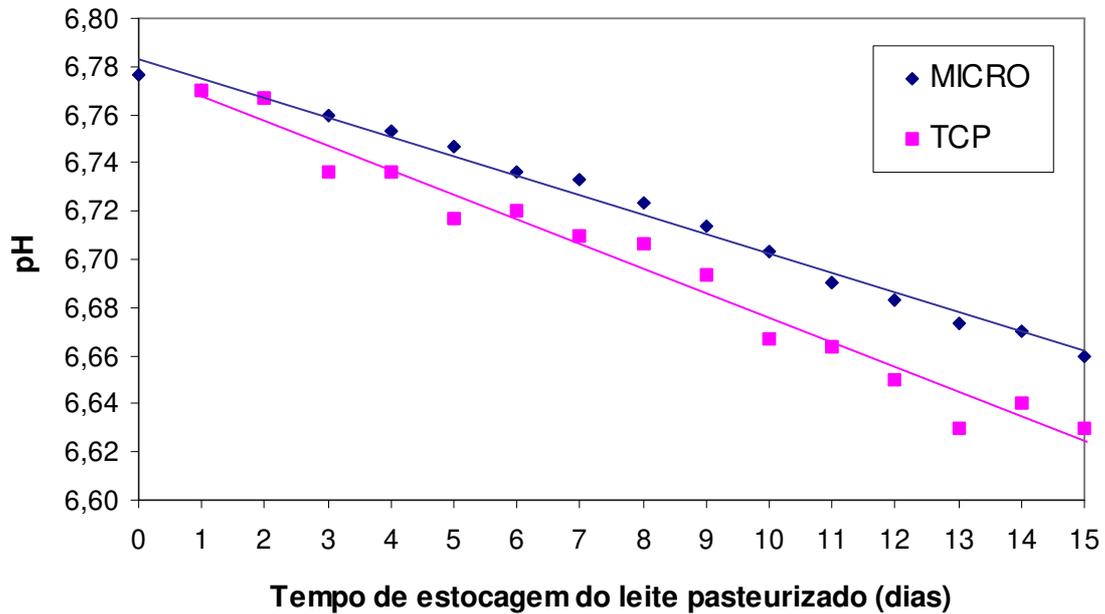
**Figura 5.3** – Proteólise durante a vida de prateleira.

A proteólise para ambos os processos aumentou durante o armazenamento, ou seja, houve efeito do tempo de armazenamento sobre esta variável (Figura 5.3). Esta proteólise está relacionada com a quebra da caseína pela ação das proteases bacterianas originárias principalmente das bactérias psicrótróficas presentes no leite cru, que após o tratamento HTST, são eliminadas, porém as enzimas termorresistentes continuam atuando lentamente sobre as proteínas durante o armazenamento do leite. Este resultado concorda com o estudo de VIDAL-MARTINS et al (2005) no qual foi reportado um aumento na proteólise do leite HTST durante o armazenamento, estimada a partir da determinação de ácido siálico liberado da fração  $\kappa$ -caseína. A  $\kappa$ -caseína localizada na superfície da micela de caseína é hidrolisada pelas proteinases dos psicrótróficos causando a desestabilização da micela, levando a coagulação do leite.

Este maior desenvolvimento de proteólise no leite TCP está relacionado à maior contagem de microorganismos psicrotóxicos presentes no leite TCP do que no leite MICRO, que apesar de não ser significativo ao nível de 5%, promoveu efeitos significativos sobre a proteólise.

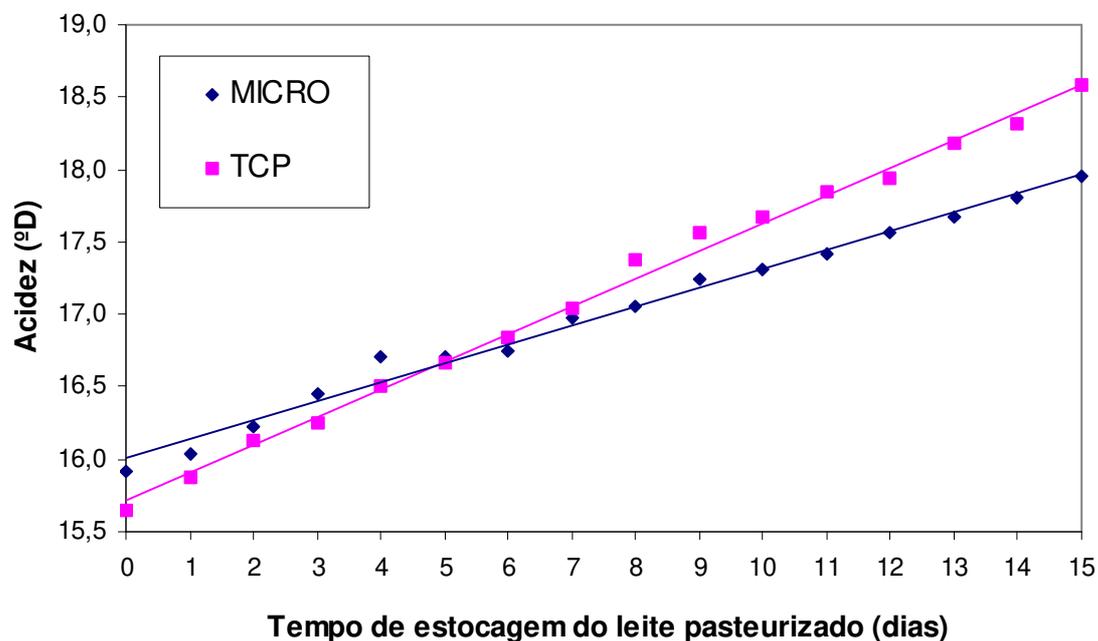
O tratamento HTST destrói as células viáveis dos psicrotóxicos, no entanto, as enzimas produzidas por esses microorganismos são termorresistentes e quando em alta concentração são as principais responsáveis pela degradação sensorial do produto com o decorrer do tempo.

Os resultados das análises de pH, ao longo do estudo da vida de prateleira dos leites pasteurizados, estão ilustrados na Figura 5.4. Os valores de pH dos leites pasteurizados por microondas se apresentaram levemente superiores aos dos leites pasteurizados em TCP, havendo diferença significativa ( $p=0,024$ ) entre as medidas de pH de ambos os processos ao longo da vida de prateleira. O tempo de armazenamento também teve efeito significativo ( $p<0,01$ ) sobre o pH do leite. O pH decaiu linearmente com o passar do tempo, passando de 6,78 para o leite recém-pasteurizado a 6,64 para o leite pasteurizado em TCP e 6,68 para o leite pasteurizado por microondas no décimo quinto dia de vida de prateleira. A interação tempo de armazenamento x tipo de tratamento não teve efeito significativo ( $p=1,00$ ).



**Figura 5.4** – Evolução do pH do durante a vida de prateleira.

Os resultados das análises de acidez titulável ao longo do estudo da vida de prateleira dos leites pasteurizados para os processamentos são apresentados na Figura 5.5. Não há diferença significativa ( $p=0,535$ ) entre os leites obtidos pelos diferentes processos. Observa-se que houve efeito linear do tempo de armazenamento sobre a acidez, tendo o tempo efeito significativo ( $p<0,01$ ) sobre a acidez. Não houve efeito da interação sobre a acidez. A acidez do leite aumentou linearmente com o passar do tempo, passando de 15,6 e 15,9°D para os leites recém pasteurizados em TCP e por microondas, respectivamente, a 18,5 e 17,9°D no décimo quinto dia de vida de prateleira.



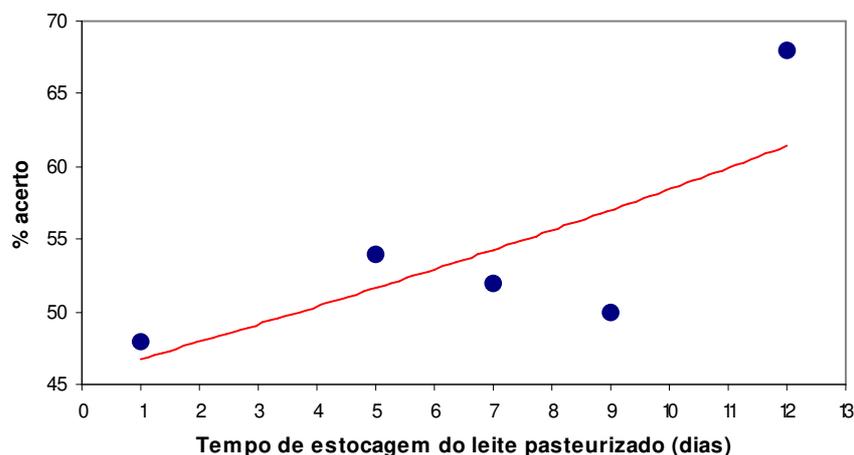
**Figura 5.5** – Evolução da acidez durante a vida de prateleira.

O aumento da acidez e a redução do pH condiz com o avanço da vida de prateleira do leite. Durante toda a vida de prateleira a acidez esteve dentro dos limites estabelecidos em legislação para leite pasteurizado, que é de 14 a 18°D. TEIXEIRA (2000) obteve resultados diferentes para a evolução do leite pasteurizado em TCP, em seu trabalho ele indica que o leite levou apenas 8 dias para ultrapassar o valor de 18°D, sendo este aumento da acidez acompanhada de um decréscimo substancial no pH. O aumento da acidez no decorrer da vida de prateleira deve-se a ação das bactérias sobre a lactose, gerando ácido láctico, que acarreta sabor e aroma ácidos no leite.

### 5.3.4 Análise sensorial

#### 5.3.4.1 Teste triangular de diferença

Durante a realização da análise sensorial os provadores foram solicitados a identificar a amostra diferente em um conjunto de três amostras. Foram obtidas respectivamente 25, 27, 26, 25 e 34 respostas corretas para a identificação da amostra diferente. O número mínimo de respostas corretas necessárias para se estabelecer diferença ao nível de significância  $p=0,05$  é de 24 (ASTM, 1968). Frente a isso se observa que existe diferença significativa entre os leites pasteurizados por microondas e em TCP quanto ao aspecto sensorial. A Figura 5.6 ilustra a porcentagem de julgamentos corretos obtidos ao longo da vida de prateleira. A porcentagem de acerto oscila na faixa de 50 a 55% para os leites dentro do prazo de validade, subindo para 68% imediatamente após a amostra pasteurizada em TCP atingir contagem mesófila total superior a  $8 \times 10^4$  UFC/mL.



**Figura 5.6** – Porcentagem de identificações corretas da amostra diferente no teste triangular.

Entre os comentários dos provadores obtidos neste teste até o 9º dia de vida de prateleira evidencia-se a semelhança sensorial entre as amostras e a dificuldade em se definir qual das amostras é a amostra diferente, havendo comentários como: “as amostras são muito parecidas” ou “não sei qual é a amostra diferente”. Alguns provadores indicaram nos comentários das fichas que perceberam diferença no teor de gordura das amostras, na coloração e na intensidade do sabor adocicado.

VILLAMIEL (1996) obteve resultados parecidos para o leite pasteurizado por microondas na frequência de 2,45MHz, contudo em seu trabalho ele aponta que há diferença significativa já no 8º dia de vida de prateleira.

#### ***5.3.4.2 Escala hedônica de aceitabilidade***

Na avaliação de preferência geral, o leite pasteurizado por microondas apresentou diferença significativa ( $p < 0,01$ ) do leite pasteurizado em TCP durante toda a vida de prateleira, sendo esta diferença ainda mais evidente no 12º dia de armazenamento, quando o leite TCP obteve nota 2,84 e o leite microondas obteve nota 7,08. As notas médias obtidas por cada sistema de pasteurização em função do tempo de armazenamento são apresentadas na Tabela 5.4, bem como a diferença entre as médias e a diferença mínima significativa (DMS) necessária para estabelecer diferença calculada pelo teste de Tukey.

**Tabela 5.4** – Notas médias obtidas no teste de aceitação.

Tempo de armazenamento (dias)	Microondas	TCP	Diferença entre as médias	DMS
1	7,20	6,32	0,88	0,55
5	7,26	6,62	0,64	0,50
7	7,08	6,44	0,64	0,59
9	6,92	5,28	1,64	0,79
12	7,08	2,84	4,24	0,48
14	7,36			

O leite pasteurizado por microondas manteve a qualidade sensorial durante toda a vida de prateleira, recebendo notas na escala entre (7) gostei regularmente e (8) gostei muito. O leite pasteurizado em TCP além de apresentar desde o primeiro dia uma aceitação inferior, apresentou perda da qualidade sensorial ao longo do tempo. No primeiro dia apresentou notas entre (6) gostei ligeiramente e (7) gostei regularmente; e após 9 dias de armazenamento refrigerado, entre (4) desgostei ligeiramente e (6) gostei ligeiramente, e imediatamente após atingir sua vida de prateleira entre (2) desgostei muito e (3) desgostei regularmente.

Nas fichas de avaliação, durante toda a vida de prateleira, os provadores comentaram que observaram diferença no teor de gordura das amostras. O que levou a suspeita de que a pasteurização em equipamento de microondas também estivesse promovendo a homogeneização do produto, o que levou conseqüentemente a realização da análise para determinação do diâmetro médio dos glóbulos de gordura.

Houve também comentários com relação ao sabor das amostras, os provadores disseram preferir a amostra pasteurizado por microondas por ter um sabor mais “natural” quando comparado com o sabor da amostra pasteurizada em TCP. Comentários menos frequentes foram feitos com relação ao sabor adocicado das amostras, e com relação à cor branca. Novamente os provadores disseram preferir as amostras pasteurizadas por

microondas, já que esta é levemente mais doce, e menos branca do que as amostras pasteurizadas em TCP.

VILLAMIEL (1996) obteve resultados parecidos para a aceitação das amostras pasteurizadas por microondas na frequência de 2,45MHz com um painel de 12 membros treinados. CLARE (2005) obteve notas de aceitação entre (8) gostei muito e (9) gostei muitíssimo, superiores aos deste trabalho para amostras pasteurizadas por microondas na frequência de 2,45MHz, e analisando os atributos sabor e aroma separadamente da aceitação global, obteve notas (8) gostei muito e (7) gostei regularmente respectivamente. MARQUES et al. (2004) apresenta notas em torno de (6) gostei ligeiramente e (8) gostei muito durante toda a vida de prateleira do leite pasteurizado em trocador de calor de placas, neste trabalho a vida de prateleira foi de apenas 5 dias.

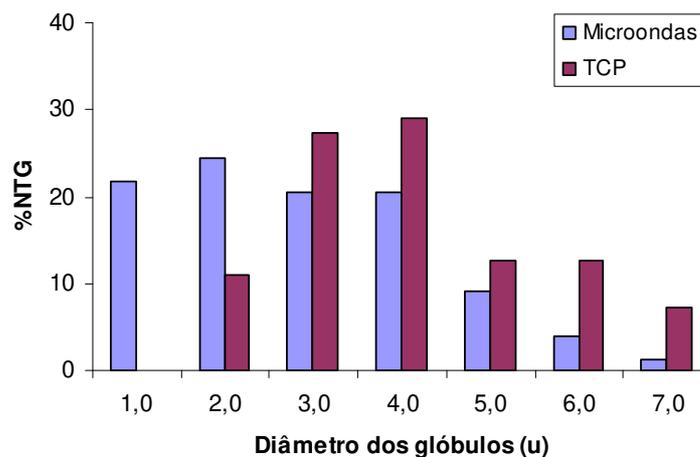
Os leites pasteurizados em TCP e por microondas não puderam ser distinguidos pelo painel sensorial imediatamente após o processamento, e nos dias seguintes ao processamento. No entanto, em concordância com o avanço da vida de prateleira e com os resultados de proteólise, a deterioração do sabor foi mais rápida no leite TCP.

#### **5.4 Diâmetro médio dos glóbulos de gordura**

A Tabela 5.5 apresenta os diâmetros dos glóbulos de gordura, o número de glóbulos de gordura encontrados em cinco campos ao acaso, a porcentagem do número total de glóbulos (%NTG) e o diâmetro médio dos glóbulos obtidos respectivamente nos processamentos por microondas e em TCP. A Figura 5.7 apresenta o histograma de distribuição dos glóbulos de gordura obtidos nos processamentos por microondas e em TCP.

**Tabela 5.5** – Diâmetros dos glóbulos de gordura, número de glóbulos de gordura encontrados em cinco campos ao acaso, porcentagem do número total de glóbulos (%NTG) e diâmetro médio dos glóbulos obtidos nos processamentos por microondas e em TCP.

Processamento	Diâmetro ( $\mu$ )	nº de glóbulos	% NTG	Diâmetro médio ( $\mu$ )
Microondas	1,0	17	21,79	2,85
	2,0	19	24,36	
	3,0	16	20,51	
	4,0	16	20,51	
	5,0	6	9,09	
	6,0	3	3,85	
	7,0	1	1,28	
TCP	1,0	0	0,00	4,11
	2,0	6	10,91	
	3,0	15	27,27	
	4,0	16	29,09	
	5,0	7	12,73	
	6,0	7	12,73	
	7,0	4	7,27	



**Figura 5.7** – Histograma de distribuição dos glóbulos de gordura obtidos nos processamentos por microondas e em TCP.

A gordura encontra-se no leite formando uma emulsão de pequenos glóbulos esféricos ou ovóides, cujo diâmetro varia de 0,5 a 10 $\mu$ m segundo DILANJAN (1984), e de 0,1 a 15 $\mu$ m segundo WALSTRA (1975). A função básica da homogeneização é romper os glóbulos de gordura em outros menores de forma que retarde a separação do creme.

Observa-se nos resultados obtidos que o diâmetro dos glóbulos de gordura do leite pasteurizado por microondas foi significativamente ( $p < 0,01$ ) inferior ao diâmetro dos glóbulos de gordura do leite pasteurizado em TCP. O processamento por microondas promoveu a homogeneização do leite sem que esta etapa tenha sido feita no processo. Isso pode ter ocorrido devido à alta densidade de potência de microondas aplicada sobre o leite, durante o processamento (expressa em 77,8 Wh/kg), já que o aquecimento por microondas é instantâneo e ocorre sobre um volume de leite de apenas 1,57 mL, em um percurso de apenas 2 cm.

## 6. CONCLUSÕES

A pasteurização por microondas mostrou-se eficaz, já que obteve resultados de fosfatase negativa e de peroxidase positiva; e mostrou-se mais eficiente do que a pasteurização em trocador de calor de placas já que obteve contagens microbiológicas inferiores e vida de prateleira mais longa (14 dias de vida de prateleira contra 11 dias atingidos pelo leite pasteurizado em trocador de calor de placas).

Não houve diferença entre a pasteurização por microondas e em trocador de calor de placas quanto as características físico-químicas (pH, acidez, extrato seco total, gordura e caseína (%PV)), no entanto foram observadas diferenças quanto a contagem de microorganismos mesófilos e psicotróficos.

Ao longo da vida de prateleira dos leites não foram observadas diferenças significativas entre os processos quanto à acidez, contagem de microorganismos mesófilos e de psicotróficos; porém houve diferença significativa quanto ao pH e caseína (%PV).

Porém foram observadas diferenças significativas quanto aos parâmetros sensoriais, sendo que as notas atribuídas pelos provadores para as amostras pasteurizadas por microondas foram superiores àquelas pasteurizadas em trocador de calor de placas.

Houve também diferença significativa entre os diâmetros dos glóbulos de gordura dos leites pasteurizados por microondas e em trocador de calor de placas.

## 7. REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA

- AMERINE, M. A. E.; OUCH, C. S. (1965). **Methods for Analysis of Musts and Wines**. 2ª ed. New York. Jymiley E Sons, Inc. s.d., 337p.
- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION (APHA). (1992). **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 3.ed. Washington.
- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION (APHA). (2001). **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 4.ed. Washington.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC). (1995). **Official methods of analysis of AOAC international**. 16.ed. Washington, 1995. v. 1-2.
- AMERICAN SOCIETY FOR TESTING MATERIALS (ASTM). (1968). **Manual of sensory Testing Methods**. American Society for Testing and Materials. Special technical Publication No. 434, Philadelphia, PA.
- AJZENTAL. (1994). **Histórico do tratamento térmico de leite**. Leite e derivados, São Paulo, 17 (4): 13-14.
- BARROS, V. R. M.; PANETTA; PERCES, J. C. (1984). **Eficiência do sistema de pasteurização em usinas de beneficiamento de leite da capital de São Paulo, Brasil**. Higiene Alimentar, São Paulo, 3(314): 199-206.
- BERTELI, M. N.; MARSAIOLI, A. (2005). **Estudo comparativo de processos de secagens de sólidos granulados com e sem assistência de microondas**. Tese de Doutorado, Faculdade de Engenharia de Alimentos, UNICAMP, Campinas, SP, 87p.
- BLAKE, M. R. et al. (1995). **Sensory and microbial quality of milk processed for extended shelf life by direct stean injection**. Journal of Food Protection, Des Moines, 58: 1007-13.
- BRASIL. (1990). Ministério da Justiça. Secretaria do Direito Econômico e do Departamento de Proteção e Defesa do Consumidor. **Código de Defesa do Consumidor – Lei 8078/90**. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF 11 Setembro 1990.
- BRASIL. (1997). Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Departamento Nacional de Inspeção Federal de Produtos de Origem Animal. **Decreto nº 2244**. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF 05 Junho 1997, Seção 1, p. 11555.
- BRASIL. (2002). Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 51 de 18 de setembro de 2002. **Regulamentos técnicos de produção**,

- identidade, qualidade, coleta e transporte de leite.** Balde Branco, São Paulo, ano XXXVIII, n. 456.
- BRITISH STANDARDS INSTITUTION. (1989). **Determination of fat content of milk and milk products (Gerber methods). Methods.** London: British Standards Institution. 12p.
- BUSANI, S. F. B. (2005). **Estudo da viabilidade de tratamentos térmicos alternativos para leite pasteurizado e de vida de prateleira estendida.** Tese de Doutorado, Faculdade de Engenharia de Alimentos, UNICAMP, Campinas, SP, 239p.
- CAMPOS, M. S. (1986). **Influência da energia de microondas na qualidade tecnológica do trigo.** Dissertação de Mestrado, Faculdade de Engenharia de Alimentos e Agrícola, UNICAMP, Campinas, SP, 120 p.
- CARDOSO, A. L. (2000). **Ocorrência, multiplicação e produção de toxina diarreica por cepas de mesofilos e psicrotróficos de Bacillus cereus, em leite pasteurizado.** Campinas, 2000, 95p. Tese (Doutor em Tecnologia de Alimentos), Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP).
- CHAVES, J. B. P.; SPROESSER, R. L. (1996). **Práticas de laboratório de análise de alimentos e bebidas.** Viçosa, MG: Imprensa Universitária da Universidade Federal de Viçosa. 81 p.
- CHEVANCE, M.; ADRIAN, J. (1992). **Les consequences nutritionnelles des traitements par micro-ondes.** Méd.et Nut. T. XXVIII, n°6.
- COMISSAO DO CODEX ALIMENTARIUS. (1982). Organization de las Naciones Unidas para la Agricultura e la Alimentacion. Organization Mundial de la Salud. Programa Conjunto FAO/OMS sobre Normas Alimentarias. **Deficiones de tratamento térmico segundo se aplica a la leche y los productos lacteos.** Roma, Abril.
- CHIU, C. P.; TATEISHI, K.; KOSIKOWSKI, F. V.; ARMBRUSTER, G. (1984). **Microwave treatment of pasteurized milk.** J. Microwave Power. 17:316; 19:269.
- CLARE, D. A.; BANG, W. S.; CARTWRIGHT, G.; DRAKE, M. A.; CORONEL, P.; SIMUNOVIC, J. (2005). **Comparison of sensory, microbiological, and biochemical parameters of microwave versus indirect UHT fluid skim milk during storage.** Journal of Dairy Science. 88:4172-4182.
- CONFEDERAÇÃO DA AGRICULTURA E PECUÁRIA DO BRASIL (CNA). **Previsão de crescimento para agronegócio do leite.** Informativo técnico Revista Gleba, mar./abr, 2003. Disponível em: <[www.cna.com.br](http://www.cna.com.br)>. Acesso em: 11 Agosto 2006.
- COPSON, D. A. (1954). **Microwave irradiation of orange juice concentrate for enzyme inactivation.** Food Technol. 8:397-399.

- COSTA, L. C. G.; CARVALHO, E. P.; CARVALHO, A. S. (1984). **Qualidade microbiológica do leite cru obtido por meio da ordenha manual e mecânica, na fonte de produção.** Ver. I. L. C. T., 39 (235). p. 3-6.
- COUSIN, M. A. (1982). **Presence and activity of psychrotrophs microorganisms in milk and dairy products: a review.** Journal of Food Protection, v. 54, nº2, p. 172-207.
- CROMIE, S. J.; DOMMET, T. W. ; SCHMIDT, D. (1989). **Changes in the microflora of milk with different pasteurization and storage conditions and aseptic packaging.** The Australian Journal of Dairy Technology, 44(1), 74-77.
- CROMIE. (1991). **Microbiological aspects of extended shelf life products.** The Australian Journal of Dairy Technology, 46 (2), p. 101-104.
- CROMIE, S. J.; DOMMET, T. W. ; SCHMIDT, D. (1989). **Effect of pasteurization and storage conditions on the microbiological, chemical and physical quality of aseptically package milk.** The Australian Journal of Dairy Technology, 44 (1), 25-30.
- DECAREAU, R.V.; PETERSON, R.A. (1986). **Microwave processing and engineering .** Chichester : Ellis Horwood, 224 p.
- DELAVAL (2006). **Informações técnicas: leite.** Disponível em: <[http://www.delaval.com.br/Dairy\\_Knowledge/EfficientCooling/Leite.htm](http://www.delaval.com.br/Dairy_Knowledge/EfficientCooling/Leite.htm)> Acesso em: 07 Jul 2006.
- DIAS, A. S.; ROGICK, F. A. (1967). **Eficiência da pasteurização do leite tipo “C” nas usinas do estado de São Paulo.** Bol. Ind. Animal 24 (único). p. 255.
- DUTCOSKY, S. D. (1996). **Análise sensorial de alimentos.** Curitiba: Champagnat, 1996. 123 p.
- EMBRAPA. (2006a). Centro Nacional de Pesquisa de gado de leite. **Classificação mundial dos principais países produtores de leite, 2003. Tabela 02.12.** Disponível em: <<http://www.cnppl.embrapa.br>>. Acesso em: 03 de Agosto de 2006.
- EMBRAPA. (2006b). Centro Nacional de Pesquisa de gado de leite. **Consumo Brasileiro de Leite Pasteurizado – 1990-2000. Tabela 07.04.** Disponível em: <<http://www.cnppl.embrapa.br>>. Acesso em: 03 de Agosto de 2006.
- EMBRAPA. (2006c). Centro Nacional de Pesquisa de gado de leite. **Produção, Importação, Exportação e Consumo de Leite no Brasil, 1980-2003. Tabela 07.06.** Disponível em: <<http://www.cnppl.embrapa.br>>. Acesso em: 03 de Agosto de 2006.
- ENGELDER, D.; BUFFLER, C. (1991). **Measuring dielectric properties of food products at microwave frequencies.** Microwave World, v.12, 2, p.6-15.

- FADINI, A. L. (1998). **Comparação da eficiência do processo convencional de torração do cacau. frente ao processo por microondas.** Dissertação de Mestrado, Faculdade de Engenharia de Alimentos, UNICAMP, Campinas, SP, 122p.
- FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION (FAO). (2003). FAOSTAT - **Agriculture data.** Disponível em: <www.fao.org>. Acesso em: 10 Agosto. 2006.
- FREDSTED, L. B.; RYSSTAD, G.; EIE, T. (1995). **Pure-Lac: The nem milk with protected freshness and extended shelf life.** Heat Treatments e alternative methods, International Dairy Federation Symposium – Vienna (Austria), 104-125.
- GRANT, I. R.; WILLIAMS, A. G.; ROWE, M. T.; MUIR, D. D. (2005). **Efficacy of various pasteurization time-temperature conditions in combination with homogenization on inactivation of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in milk.** Applied and Environmental Microbiology, v. 71, nº 6, p. 2853-2861.
- FUNG, D. Y. C.; CUNNINGHAM, F. E. (1980). **Effect of microwaves on microorganisms in foods.** Journal of Food Protection, Ames, v. 43, nº 8, p. 641-650.
- HAAGENSEN, D. B. (1957). **U.S.Patent 2.811.624.**
- HALL, C. W.; TROUT, G. M **Milk pasteurization.** (1968). Westpot, Connecticut: The AVI Publishing Compagny, 234p.
- HAMID, M. A. K.; BOULANGER R. J.; TONG, S. C.; GALLOP, R. A.; PEREIRA, R. R. (1969). **Microwave pasteurization of raw milk.** J. Microwave Power 4:272-275.
- HANSON, M. L.; WENDORFF, W. L.; HOUCK, K. B. (2005). **Effect of heat treatment of milk on activation of *Bacillus* spores.** Journal of Food Protection, v. 68, nº 7, p. 1484-1486.
- HOFFMANN, W.; KLOBES, H.; KIESNER, C. H. R.; SUHREN, G.; KRUSCH, U.; CLAWIN-RÄDECKER, I.; LARSEN, P. H. (1996). **Use od microfiltration for the production of pasteurized milk with extended shelf life.** Bulletin International Dairy Federation, 311: 45-46.
- HUNN, S.; HAJDENURERCEL, J. R.; MORAES, J. M.; VARGAS, O. L. (1980). **Qualidade microbiológica do leite cru obtido por meio de ordenha manual e mecânica e a chegar à plataforma.** Revista do Instituto de Laticínios “Cândido Tostes”, Juiz de Fora, 32 (209). p.3-8.
- INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION (IDF). (2003). **The world dairy situation.** Bulletin 384/2003, Brussels. p. 32-35.
- JAYNES, H. O. (1975). **Microwave pasteurization of milk.** J. Milk Food Techonol. 38:386-387.

- JONES, P.L., (1986). **High frequency dielectric heating in paper making.** *Drying Technology*, v.4, 2, p.103-107.
- KENYON, E. M.; WESTCOTT, D. E.; LA CASSE, P.; GOULD, J. N. (1971). **A system for continuous thermal processing of food pouches using microwave energy.** *J. Food Sci.* 36:289-293.
- KUDRA, T.; VAN DER VOORT, F. R.; RAGHAVAN, G. S. V.; RAMASWAMY, H. S. (1991). **Heating characteristics of milk constituents in a microwave pasteurization system.** *J. Food Sci.* 56: 931-934, 937.
- LANARA. (1981). **Métodos analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes.** Ministério da Agricultura, Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária, Laboratório Nacional de Referencia Animal. Brasília/DF: A secretaria.
- LARSEN, P. H. (1995). **Microfiltration for pasteurized milk.** *Treatments and Alternative Methods, International Dairy Federation Symposium – Viennas (Austria)*, 232-239.
- LOPEZ-FANDIÑO, R.; VILLAMIEL, M.; CORZO, N.; OLANO, A. (1996). **Assessment of the thermal treatment of milk during continuous microwave and conventional heating.** *Journal of food protection*, vol 59, nº 8, p. 889-892.
- MACHADO, P. F. (2002). **O futuro do agronegócio do leite no Brasil.** *Anuário Milkbuzz 2001/ 2002*, 408p.
- MARSAIOLI, Jr. A., (1991). **Desenvolvimento da tecnologia de aplicação de microondas em secador cilíndrico-rotativo combinado com ar quente para produtos granulados.** Tese de Doutorado em Engenharia de Alimentos, UNICAMP, Campinas, SP, 197 p.
- MARTINS E GUILHOTO (2001). **O desempenho da pecuária de leite em 2002 e perspectivas para 2003.** *Boletim Informativo FAEP*. n. 775, 2003. Disponível em : < <http://www.fae.com.br/boletim/bi775/encartebi775.htm>> . Acesso em: 11 out. 2003.
- MARQUES, L. G. S.; SANTOS, G. T.; SAKAGUTI, E. S.; DAMASCENO, F. C. (2004). **Avaliação do leite pasteurizado proveniente de dois laticínios das regiões norte e noroeste do estado do Paraná.** *Acta Scientiarum Animal Sciences*, v.26, nº 2, p. 259-264.
- MEANWELL, L. J. (1927). **An investigation into the effect of pasteurization on the bovine tubercle Bacillus in naturally infected tuberculous milk.** *J. Hyg.* 26:392-402.
- MEILGAARD, M.; CIVILLE, G.V.; CARR, B.T. (1998). **Sensory Evaluation Techniques**, Ch. 9: Affective tests: consumer tests and in-house panel acceptance tests, 2<sup>nd</sup>. Ed., CRC Press, Florida, USA.

- MEIRELLES, A. J. (1983). **Leite paulista: história da formação de um sistema cooperativista no Brasil**. 1ª edição. São Paulo: Cultura HMR Editores Associados Ltda.
- MERIN, U.; ROSENTHAL, I. (1984). **Pasteurization of milk by microwave irradiation**. *Milchwissenschaft*. 39:643-644.
- MUDGETT, R.E. (1996). **Microwaves properties and heating characteristics of foods**. *Food Technology*, v.40, 6, p. 84-93.
- MUIR, D. D. (1996). **The shelf-life of dairy products: 1. Factors influencing raw milk and fresh products**. *Journal of the Society of Dairy Technology, Cumbria*, v. 49, p. 24-32.
- NATIONAL ADVISORY COMMITTEE ON MICROBIOLOGICAL CRITERIA FOR FOODS (NACMCF). (2006). **Requisite scientific parameters for establishing the equivalence of alternative methods of pasteurization**. *Journal of Food Protection*. V. 69, 5, p. 1190-1216.
- NIELSEN, W. K. (1995). **New methods for food preservation**. Treatments and Alternative Methods, International Dairy Federation Symposium – Vienna (Áustria). p. 240-248.
- PEREIRA, N. R. (2007). **Estudo da aplicação de microondas na secagem de bananas tratadas osmoticamente**. Tese de Doutorado, Faculdade de Engenharia de Alimentos, UNICAMP, Campinas, SP, 188p.
- PORTO, E. (2007). **Pasteurização**. LAN1444. Disponível em: <<http://www.esalq.usap.br/departamentos/lan/pdf/pasteuricao.pdf>>. Acesso em: 13 Jul 2007.
- POTINENI, R. V.; PETERSON, D. G. (2005). **Influence of thermal processing conditions on flavor stability in fluid milk: benzaldehyde**. *Journal of Dairy Science*, v. 88, nº 1, p. 1-6.
- POTTER, N. N.; HOTCHKISS, J. H. (1995). **Milk and milk products**. In: *Food Science*. New York: Chapman and Hall. P. 279-315.
- SALE, A. J. H. (1992). **A review of microwaves for food processing**. *J. Food Technol*, 11: 319.
- SACHAROW, S.; SHIFMANN, R. (1992). **Microwave packaging**. Pira International, UK, 155p.
- SANTOS, E. C. (1966). **Controle da Eficiência da pasteurização do leite beneficiado em Belo Horizonte**. *Arq. Esc. Vet.*, 18. p. 99-104.

- SANTOS, M. G. (2007). **Avaliação do leite UHT durante o período de estocagem.** Relatório de Iniciação Científica. Faculdades Associadas de Uberaba. 10p.
- SANVIDO, G. (2007). **Efeito do armazenamento do leite cru e da temperatura de estocagem do leite pasteurizado sobre sua vida de prateleira.** Dissertação de Mestrado, Faculdade de Engenharia de Alimentos, UNICAMP, Campinas, SP, 78p.
- SENISE, J.T., 1985. **A utilização de rádio frequência e microondas na eletrônica industrial.** Revista Brasileira de Engenharia Química, v.8, 1, p.51-61.
- SILVA, F. (2005). **Estudo da aplicação de energia de microondas na secagem da noz macadâmia (*Macadamia integrifolia* Maiden & Betch).** Tese de Doutorado, Faculdade de Engenharia de Alimentos, UNICAMP, Campinas, SP, 239p.
- SILVA, F.; MARSAIOLI, A. (2003). **Drying Brazil nuts using hot air assisted by microwaves compared to conventionally dried samples.** In: Proceedings of the 9<sup>th</sup> International Conference on Microwaves and High Frequency Heating, Loughborough, UK, Sept. 1-5, 2003. Editor Jon Binner, p. 341-344.
- SOARES, M. (2007). **Eletromagnetismo – espectro eletromagnético.** Disponível em: <<http://www.mspc.eng.br/elemag/eletr6C.asp>>. Acesso em: 29 Ago 2007.
- SOUSA, W. A.; PITOMBO, R. N. M; DA SILVA, M. A. A. P.; MARSAIOLI, A. (2001). **Sensory evaluation of dried bananas obtained from air dehydration assisted by microwaves.** In: Advances in Microwave and Radio Frequency Processing – Report from the 8<sup>th</sup> International Conference on Microwaves and High Frequency Heating, Bayreuth, Germany, Sept 3-7, 2001. Editor Monika Willerd-Porada, Springer Verlag, p. 289-302.
- SOUZA, D. P. H. **Análise da estrutura de custo e preço de sobrevivência dos principais sistemas de produção de leite.** Viçosa, UFV, 2000. 85p.
- STELL, R. G.; TORRIE, J. H. (1960). **Principles and procedures of statistics, with special references to the biological sciences.** 6ed. New York: McGraw-Hill Book Company, Inc, 481p.
- STILES, M. E. (1963). **Thermal inactivation and injury of *Staphylococcus aureus*.** Thesis (PhD). University of Illinois, Urbana.
- STONE, H.; SIDEL, J.L., (1993). descriptive analysis, ch. 6, In: STONE, H.; SIDEL, J.L., **Sensory Evaluation Practices**, Academic Press, London, p.202-226.
- STRENSTRÖM, L. A. (1972). **Apparatus for the electromagnetic heating of fluids.** U. S. Patent 3.668.358.

- TEIXEIRA, L. A. M. (2000). **Efeito da qualidade microbiológica e do desnate do leite cru na qualidade e vida útil do leite pasteurizado tipo C**. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Lavras. 41p.
- TROUT, G. M. (1950). **Homogenized milk**. East Lassing, Michigan State College Press. 233p.
- U.S. FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, DEPARTEMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES (FDA). 2003. **Grade “A” pasteurized milk ordinance, 2003 revision**. Disponível em: <<http://www.cfsan.fda.gov/~dms/juicgu10.html>>. Acesso em: 07 Jul 2006.
- VALERO, E.; VILLAMIEL, M; SANZ, J.; MARTÍNEZ-CASTRO, I. (2000). **Chemical and sensorial changes in milk pasteurised by microwaves and conventional systems during cold storage**. Food Chemistry, v. 70, nº 1, p. 77-81.
- VALLE, J. L. E.; TAKAHASHI, S.; KEATING, P. F.; MARTINS, J. F. P.; FIGUEIREDO, I. B. (1979). **Comportamento do leite tipo “C”, esterilizado pelo processo UHT, acondicionado em embalagem não estéril e conservado a 4°C**. Boletim Ital, 16 (1): 81-89.
- VARNAM, A. H.; SUTHERLAND, J. P. (1996). **Milk and milk products**. Technology, chemistry and microbiology. London: Chapman e Hall. 451p.
- VATTE, K. B.; CASTBERG, H. B. (1991). **Processing and packaging aspects of extended shelf life products**. The Australian Journal of Dairy Technology 46 (2): 98-100.
- VEIGA, M.; FONSECA, L. (2007). **Monitoramento da qualidade do leite. Módulo 3 – Microorganismos Psicrófilos afetando a qualidade do leite**. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. USP.
- VEISSEYRE, R. (1988). **Lactologia técnica: composición, recogida, tratamiento y transformación de la leche**. Zaragoza: Acribia. 629p.
- VIDAL-MARTINS, A. M. C. e al. (2005). **Evolução do índice proteolítico e do comportamento reológico durante a vida de prateleira de leite UAT/UHT**. Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas, v. 25, p. 698-704.
- VIGNOLA C.L. (2002). **Science et Technologie du Lait - Transformation du lait**. Fondation de Technologie Laitière du Québec inc Ecole Polytechnique de Montréal.
- VILLAMIEL, M. ; LÓPEZ-FANDIÑO, R. CORZO, N. (1996). **Effects of continuous flow microwave treatment on chemical characteristics of milk**. Z. Lebensm Un ters Forsch, 202. p. 15-18.
- VILLARES, J. B. (1959). **Qualidade do leite tipo C em São Paulo**. Boletim Industria Aninal, Nova Odessa, 17. p. 59-81.

VON HIPPEL, A. R. (1995). **Dielectric and waves** 2. ed. Massachusetts: MIT Press, 284p.

WALSTRA, P. (1975). **Effect of homogenization on the fat globule size distribution in milk**. Netherland Milk Dairy Journal, 29 (43): 279-294.

WALSTRA, P.; JENNES, R. (1984). **Química y física lactologica**. Zaragoza, España: Editorial Acribia. 423p.