



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO SUDOESTE DA BAHIA – UESB**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA E**  
**CIÊNCIA DE ALIMENTOS**

Área de Concentração: Ciência de Alimentos



**DESENVOLVIMENTO DE CHOCOLATES COM ADIÇÃO DE LEITE DE**  
**DIFERENTES ESPÉCIES E SUA CARACTERIZAÇÃO E PERFIL SENSORIAL**

Autor: Daniele Gomes Conceição

Orientadora: DSc. Sibelli Passini Barbosa Ferrão

Co-orientadores: Prof. DSc. Leandro Soares Santos  
Profª DSc. Renata Cristina  
Ferreira Bonomo

ITAPETINGA  
BAHIA - BRASIL  
Fevereiro de 2022

**DANIELE GOMES CONCEIÇÃO**

**DESENVOLVIMENTO DE CHOCOLATES COM ADIÇÃO DE LEITE DE  
DIFERENTES ESPÉCIES E SUA CARACTERIZAÇÃO E PERFIL SENSORIAL**

Tese apresentado como requisito para a obtenção do  
Título de Doutor junto ao Programa de Pós-  
Graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos  
da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, sob  
a orientação da Prof<sup>a</sup>. Dsc. Sibelli Passini Barbosa  
Ferrão.

Orientadora: Prof<sup>a</sup> DSc. Sibelli Passini Barbosa  
Ferrão

Co-orientadores: Prof. DSc. Leandro Soares Santos  
Prof<sup>a</sup> DSc. Renata Cristina  
Ferreira Bonomo

ITAPETINGA  
BAHIA - BRASIL  
Fevereiro de 2022

641.3374 Conceição, Daniele Gomes.  
C743d Desenvolvimento de chocolates com adição de leite de diferentes espécies e sua caracterização e perfil sensorial. / Daniele Gomes Conceição. – Itapetinga-BA: UESB, 2022.

121f.

Tese apresentado como requisito para a obtenção do Título de Doutor junto ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia. Sob a orientação da Prof<sup>a</sup>. D. Sc. Sibelli Passini Barbosa Ferrão e coorientação do Prof. D. Sc. Leandro Soares Santos e Prof<sup>a</sup>. D. Sc. Renata Cristina Ferreira Bonomo.

1. Chocolates ao leite - Diferentes espécies. 2. Chocolates ao leite - Diferentes espécies - Caracterização físico-química e perfil sensorial. 3. Chocolate ao leite de vaca, búfala, cabra e ovelha. I. Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia - Programa de Pós-Graduação de Doutorado em Engenharia e Ciências de Alimentos, *Campus* de Itapetinga. II. Ferrão, Sibelli Passini Barbosa. III. Santos, Leandro Soares. IV. Bonomo, Renata Cristina Ferreira. V. Título.

**CDD(21): 641.3374**

Catálogo na Fonte:

Adalice Gustavo da Silva – CRB 535-5ª Região  
Bibliotecária – UESB – Campus de Itapetinga-BA

Índice Sistemático para desdobramentos por Assunto:

1. Leite em pó de ovelha
2. Leite de diferentes espécies - Análise
3. Cacau – Produtos alimentícios

## DECLARAÇÃO DE APROVAÇÃO

**Título:** DESENVOLVIMENTO DE CHOCOLATES COM ADIÇÃO DE LEITE DE DIFERENTES ESPÉCIES E SUA CARACTERIZAÇÃO E PERFIL SENSORIAL.

**Autor (a): DANIELE GOMES CONCEIÇÃO**

**Orientador (a):** Prof.ª Dr.ª Sibelli Passini Barbosa Ferrão

**Coorientador (a):** Prof.ª Dr.ª Renata Cristina Ferreira Bonomo  
Prof. Dr. Leandro Soares Santos

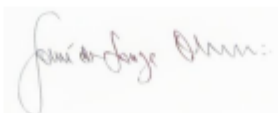
Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de **DOUTORA EM ENGENHARIA E CIÊNCIA DE ALIMENTOS, ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: CIÊNCIA DE ALIMENTOS**, pela Banca Examinadora.



Prof.ª Dr.ª Larissa Kauly Rosa Silva  
Membro Externo - UFOB




Prof.ª Dr.ª Gabrielle Cardoso Reis Fontan  
UESB



Prof. Dr. Josué de Souza Oliveira  
Membro Externo – IF-BAIANO/URUÇUCA



Prof.ª Dr.ª Grazielly de Jesus Silva  
Membro Externo – Prefeitura Municipal de Itapetinga

  
Prof.ª Dr.ª Sibelli Passini Barbosa Ferrão  
Orientadora - UESB  
Presidente da Banca

Itapetinga-BA, 25 de fevereiro de 2022

“Muda o superficial

Muda também o profundo

Muda o modo de pensar

Muda tudo neste mundo

Muda o rumo do andarilho

Ainda que isto lhe cause dano

E assim como tudo muda

Que eu mude não é estranho.”

*Todo Cambia – Mercedes Sosa*

Ao meu pai Edvaldo e à minha mãe Angélica (*In memoriam*) que foram o início de tudo

Ao meu irmão Erick, pelo estímulo e imenso carinho.

**DEDICO**

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente, gostaria de agradecer à Grazielly Silva e a Ben-Hur Gonçalves pela amizade e pela ideia do projeto da tese, à Josane Cardim e à Acsa Batista pela amizade e companhia durante todos esses anos. Muito obrigada meninas (Grazy, Jô e Acsa) por serem tão simples e ao mesmo tempo tão espetaculares em tudo o que fazem e sentem. À Ingrid Santos que em pouco tempo se tornou uma amiga tão querida, obrigada pelos conselhos e por experiências tão lindas compartilhadas. Até hoje não superei o livro *O Morro dos Ventos Uivantes* e o vinho que ganhei!

A Lucas Caiafa, Lenara Pinheiro e Mário Junior pela amizade, saibam que sinto muito carinho por vocês.

Aos funcionários da UESB Sagramor, José Orlando, Jamille, Virgínia, Tarcísio e Gilberto pela dedicação; e aos professores Alexilda Souza, Modesto Chaves, Gabrielle Fontan, Leandro Soares e Renata Bonomo pela ajuda na execução do experimento. A equipe de TDS: aos professores Gabrielle Fontan, Sibelli Ferrão e Leandro Soares, aos meus colegas Lucas Caiafa, Rebeca Oneli, Acsa Batista, Gabriel Gonçalves, Olga Gandolfi, Mateus Flores, Geraldo Ramos, Janaina Freire, Isabel Alves, Amanda Lima, Heliara Sousa e Hudson Maia.

À minha orientadora Sibelli Ferrão, aos co-orientadores Leandro Soares e Renata Bonomo e à banca (Grazielly Silva, Gabrielle Fontan, Josué Oliveira e Larissa Kauly) pela disponibilidade e contribuição no trabalho.

A todos do Grupo de Estudos em Leite pelo auxílio e carinho, em especial Ermando Virgens. À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia – FAPESB pelo apoio financeiro e ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos. Um agradecimento especial aos professores Sibelli Ferrão e Leandro Soares que sempre estiveram ao meu lado, cada um a sua maneira. Obrigada por todo acolhimento, carinho e compreensão!

Obrigada Mainha (*In memoriam*), Painho e Quinho (irmão)! Vocês são os meus guias, os meus amigos, os meus companheiros e os meus exemplos. Obrigada por me ouvirem e por me ensinarem sempre.

Como diz o trecho da música *Chão de Giz* de Zé Ramalho: “No mais, estou indo embora.”

Muito obrigada!

## SUMÁRIO

RESUMO .....	9
1. INTRODUÇÃO .....	13
Capítulo I.....	15
2. REFERENCIAL TEÓRICO .....	16
2.1 Leite de diferentes espécies .....	16
2.2 Leite em pó e o processo de atomização e liofilização .....	18
2.3 Espectroscopia de Infravermelho Médio (MIR), e Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e Análise Térmica em produtos lácteos .....	20
2.3 Chocolate .....	23
2.3.1 Cacaueiro .....	23
2.3.2. Beneficiamento das amêndoas .....	24
2.3.3 Chocolate e sua produção.....	26
2.5 Análise de textura e análise de difração de raios-X (DRX) em chocolate.....	29
2.4 Análise Sensorial .....	30
3. REFERÊNCIAS .....	33
II - OBJETIVOS.....	48
2.1 Objetivos específicos .....	48
Capítulo III .....	49
Influence of fat content and dehydration methods on physicochemical and spectroscopic characteristics of powdered sheep milk .....	49
Resumo .....	50
1 Introdução .....	51
2 Material e métodos.....	53
2.1 Obtenção da matéria-prima e secagem do leite.....	53
2.2 Análises do leite em pó .....	54
2.3. Delineamento experimental.....	55
3 Resultados e discussão.....	56
3.1 Características físico-químicas do leite fluido e do leite em pó de ovelha .....	56
3.2. Propriedades morfológicas e estruturais .....	58
3.3 Características dos espectros obtidos no MIR.....	60
3.4 Análise Térmica .....	62
4 Conclusão.....	67
5 Referências.....	67



6 Agradecimento.....	73
7 Financiamento.....	74
Capítulo IV .....	75
Chocolates ao leite de vaca, búfala, cabra e ovelha: caracterização física, química e perfil sensorial .....	76
Resumo .....	76
2 Material e métodos.....	79
2.1.1 Obtenção dos leites em pó.....	79
2.1.2 Obtenção da amêndoa de cacau, manteiga de cacau, lecitina e açúcar.....	80
2.2 Formulações e preparação dos chocolates .....	80
2.4.6 Perfil sensorial – Grupo de foco .....	85
2.4.7. <i>Temporal Dominance of Sensations</i> (TDS).....	85
2.4.8. Teste de aceitação e <i>Check-All-That-Apply</i> (CATA) .....	85
3 Resultados e Discussão .....	86
3.1 Composição do leite em pó .....	86
3.2 Caracterização do chocolate ao leite de vaca, búfala, cabra e ovelha.....	88
3.3 Teores de teobromina, cafeína, (+) catequina e (-) epicatequina nos chocolates .....	91
3.4 Textura dos chocolates .....	92
4.5 Determinação do tempo de parteleira através do índice de brancura e polimorfismo .....	93
3.6 Análises Microbiológicas.....	97
3.7. Análise sensorial .....	97
3.7.1. <i>Temporal Dominance of Sensations</i> - TDS.....	97
4.7.2 <i>Check-All-That-Apply</i> - CATA .....	99
3.7.3. Teste de aceitação e intenção de compra .....	101
5 Conclusão.....	105
6 Referências.....	106
7 Agradecimento.....	114
8 Financiamento.....	114
Capítulo V .....	115
Anexos .....	115

## LISTA DE FIGURAS

### **CAPÍTULO 1 – REFERÊNCIAL TEÓRICO**

Figura 1. Princípio do processo de liofilização – diagrama de fases da água 19

### **CAPÍTULO 3 - Influência do teor de gordura e métodos de desidratação nas características físico-químicas e espectroscópicas do leite em pó de ovelha**

Figura 1. Micrografia eletrônica de varredura (940 x) de leite de ovelha 59

Figura 2. Espectro do leite de ovelha 62

Figura 3. Curvas TG (---) e DTA/DSC (\_\_\_) do leite em pó de ovelha 63

### **CAPÍTULO 4 - Chocolate ao leite de vaca, búfala, cabra e ovelha: caracterização e perfil sensorial**

Figura 1. Índice de brancura de chocolate ao leite de vaca, búfala, cabra e ovelha durante o tempo de armazenamento de 90 dias a 7°C 94

Figura 2. Difratogramas de difração de raios – X para chocolates ao leite de (a) vaca, (b) búfala, (c) cabra, (d) ovelha. 96

Figura 3. Dominância Temporal das Sensações dos chocolates ao leite de vaca (A), búfala (B), cabra (C) e ovelha (D) 98

Figura 4. Análise de correspondências dos atributos, palavras e frases associados aos chocolates ao leite de vaca, búfala, cabra e ovelha obtidos pelo método CATA 100

Figura 5. Mapa de preferência interno para as amostras de chocolate ao leite de vaca, búfala, cabra e ovelha 104

Figura 3. Intenção de compras dos chocolates ao leite de vaca, búfala, cabra e ovelha 105

## LISTA DE TABELAS

### **CAPÍTULO 1 – REFERÊNCIAL TEÓRICO**

Tabela 1. Composição média do leite de diferentes espécies	17
Tabela 2 . Formas polimórficas da manteiga de cacau e ponto de fusão dos cristais	28

### **CAPÍTULO 3 - Influência do teor de gordura e métodos de desidratação nas características físico-químicas e espectroscópicas do leite em pó de ovelha**

Tabela 1. Média das características físico-químicas de leite em pó de ovelha integral e parcialmente desnatado obtidos por atomização e liofilização	57
Tabela 2. Valores de temperatura de pico e entalpia de transição para as amostras analisadas	66

### **CAPÍTULO 4 - Chocolate ao leite de vaca, búfala, cabra e ovelha: caracterização e perfil sensorial**

Tabela 1. Média $\pm$ DP de parâmetros químicos do leite em pó	87
Tabela 2. Média $\pm$ DP da caracterização físico-química, quantificação de (-) epicatequina, (+) catequina, cafeína e teobromina e perfil de textura dos chocolates ao leite de vaca, búfala, cabra e ovelha	88
Tabela 3. Média das notas obtidas no teste de aceitação para os chocolates ao leite de vaca, búfala, cabra e ovelha	101

## RESUMO

CONCEIÇÃO, D. G. **Desenvolvimento de chocolates com adição de leite de diferentes espécies e sua caracterização e perfil sensorial**. Itapetinga – BA: UESB, 2022. 121 p. (Doutorado em Engenharia e Ciência de Alimentos, Área de Concentração em Ciência de Alimentos). \*

O mercado de inovação na área de alimentos vem ganhando cada vez mais espaço, buscando-se o diferencial em ingredientes ou no desenvolvimento de um novo produto, a exemplo, do desenvolvimento de leite em pó de ovelha e a produção de chocolates com leites de diferentes espécies. Objetivou-se produzir chocolates ao leite, utilizando as espécies bovina, babalina, caprina e ovina e avaliar os efeitos das espécies nas características físico-químicas, estruturais e sensoriais do chocolate. Para obtenção do leite em pó de ovelha foram realizadas a atomização e liofilização para posterior comparação, através das análises físico-químicas, espectroscopia por infravermelho médio (MIR), microscopia eletrônica de varredura (MEV) e térmicas. Para o processamento dos chocolates, os leites de ovelha e búfala foram desidratados em mini atomizador e os leites em pó de vaca e cabra foram obtidos no comércio local. Foram processados chocolates com 50% de massa de cacau, 15% de leite em pó (variando a espécie), 0,4% de lecitina de soja, 6,0% de massa de cacau e 29,6% de manteiga de cacau, totalizando quatro formulações com três repetições. Para os chocolates foram realizadas análises físico-químicas (gordura, proteína, umidade, resíduo mineral fixo, acidez, pH,  $a_w$ , cor, tamanho médio de partícula, teobromina, (+) catequina, cafeína e (-) epicatequina), vida de prateleira (índice de brancura e polimorfismo), texturais (dureza), microbiológicas (*Escherichia coli* e *Salmonella* sp.) e sensoriais (Aceitação, Intenção de Compra, *Temporal Dominance of Sensations* -TDS e *Check-all-that-apply* - CATA). Para as amostras de leite em pó de ovelha atomizado e liofilizado os leites atenderam aos parâmetros físico-químicos legais para leite em pó integral e parcialmente desnatado, com espectros obtidos por MIR indicando semelhantes modos de vibração, partículas do leite em pó atomizado com forma esférica, enquanto as partículas do leite em pó liofilizado apresentaram estrutura contínua pelo MEV. A análise térmica demonstrou que o leite de ovelha atomizado apresentou picos endotérmicos e exotérmicos com diferentes formas e

---

\* Orientador (a): Sibelli Passini Barbosa Ferrão, DSc., UESB. Co-orientador (a): Renata Cristina Ferreira Bonomo e Leandro Soares Santos, DSc., UESB.

posição dos picos. Os chocolates ao leite de vaca, búfala, cabra e ovelha apresentaram diferença significativa para os parâmetros de proteína, umidade, resíduo mineral fixo, acidez, pH,  $a^*$ ,  $b^*$  e dureza entre os chocolates que permaneceram estáveis durante a vida de prateleira. Pela análise sensorial de aceitação foi possível observar que o chocolate ao leite de vaca, búfala e ovelha foram os mais aceitos. Pela análise TDS houve diferença significativa das sensações para os chocolates ao leite de vaca, búfala e ovelha. Os chocolates ao leite de vaca, búfala, cabra e ovelha obtiveram parâmetros físico-químicos de acordo com a legislação brasileira e pelos resultados da análise sensorial a utilização dos leites de búfala, cabra e ovelha pode apresentar-se com uma alternativa viável e inovadora para um produto já consolidado no mercado como é o chocolate.

**Palavras-chave:** Desidratação, Cacau, Sensorial, Microscopia, Espectroscopia.

## ABSTRACT

CONCEIÇÃO, D. G **Development of chocolates with the addition of milk from different species and their characterization and sensory profile.** Itapetinga – BA: UESB, 2022. 121 p. (Doutorate in Engineering and Food Science, Area of concentration in Food Science).<sup>2</sup>

The innovation market in the food sector has been gaining more and more space, seeking the differential in ingredients or in the development of a new product, for example, the development of sheep's milk powder and the production of chocolates with milks of different species. The objective was to produce milk chocolates, using bovine, babalina, goat and sheep species and to evaluate the effects of the species on the physicochemical, structural and sensory characteristics of chocolate. To obtain the powdered sheep's milk, atomization and lyophilization were performed for later comparison, through physical-chemical analyses, medium infrared spectroscopy (MIR), scanning electron microscopy (SEM) and thermal. For the chocolate processing, sheep and buffalo milks were dehydrated in a mini atomizer and powdered cow and goat milks were obtained from the local market. Chocolates with 50% cocoa mass, 15% powdered milk (various species), 0.4% soy lecithin, 6.0% cocoa mass and 29.6% cocoa butter were processed. totaling four formulations with three replications. For the chocolates, physicochemical analyzes were performed (fat, protein, moisture, fixed mineral residue, acidity, pH, aw, color, average particle size, theobromine, (+) catechin, caffeine and (-) epicatechin), shelf life shelf (whiteness and polymorphism index), textural (hardness), microbiological (*Escherichia coli* and *Salmonella sp.*) and sensory (Acceptance, Purchase Intent, Temporal Dominance of Sensations -TDS and Check-all-that-apply - CATA). For the samples of atomized and lyophilized sheep's milk powder, the milks met the legal physicochemical parameters for whole and partially skimmed milk powder, with spectra obtained by MIR indicating similar modes of vibration, particles of atomized milk powder with spherical shape, while the lyophilized powdered milk particles showed a continuous structure by SEM. Thermal analysis showed that the atomized sheep's milk presented endothermic and exothermic peaks with different peak shapes and position. Cow, buffalo, goat and sheep milk chocolates showed a significant difference for the parameters of protein, moisture, fixed mineral residue, acidity, pH, a\*, b\* and hardness among the chocolates that remained stable during the shelf life. Through the sensory analysis of acceptance, it was possible to observe that cow's, buffalo and sheep's milk chocolate were the most accepted. By the TDS analysis, there was a

---

<sup>2</sup> Advisor: Sibelli Passini Barbosa Ferrão, DSc., UESB. Co-supervisor: Renata Cristina Ferreira Bonomo and Leandro Soares Santos, DSc., UESB.

significant difference in sensations for cow's, buffalo and sheep's milk chocolates. Cow, buffalo, goat and sheep milk chocolates obtained physicochemical parameters in accordance with Brazilian legislation and, based on the results of the sensory analysis, the use of buffalo, goat and sheep milks can be presented as a viable and innovative alternative for a product already consolidated in the market such as chocolate.

**Keywords:** Dehydration, Cocoa, Sensory, Microscopy, Spectroscopy.

## 1. INTRODUÇÃO

O leite é um alimento que possui alto valor biológico, pois apresenta em sua composição proporção adequada de macro nutrientes, perfil de lipídeos e aminoácidos apresentam componentes essenciais, além de apresentar micronutrientes importantes para a saúde, por isso é considerado um alimento completo para o homem, principalmente nos primeiros estágios de vida. Leite é definido como a secreção natural, sem colostro, obtida ao ordenhar vacas sadias. Quando se fala em leite, parte-se do pressuposto que é o leite de vaca, o leite de outros animais deve ser denominado segundo a espécie, leite de búfala, leite de cabra, leite de ovelha, entre outros (BRASIL, 2020). Dentre os leites das diferentes espécies o leite de vaca possui a maior produção mundial, seguido do leite de búfala, cabra e ovelha (FAO, 2021).

Com relação a aplicação dos leites de diferentes espécies, o leite de vaca é utilizado na produção dos mais diversos derivados lácteos, enquanto o leite de búfala é empregado, principalmente, na fabricação da muçarela de búfala. Os leites de cabra e ovelha são aplicados na elaboração de queijos e iogurtes. O rendimento dos derivados são maiores quando utilizados os leites de ovelha e búfala devido ao maior teor de sólidos totais do leite dessas espécies. Os leites de cabra e ovelha possuem melhor digestibilidade quando comparados ao leite bovino, devido à maior quantidade de ácidos graxos de cadeia curta e média (CRUZ et al., 2016; CLARK et al., 2017; MOHAPATRA et al., 2019; GONÇALVES et al., 2020).

Devido à sazonalidade do leite de algumas espécies, uma alternativa muito utilizada para ter a disponibilidade de leite o ano inteiro é a secagem, pois garante estabilidade microbiológica e físico-química e redução de custo no transporte e distribuição. Considerando-se o leite, podem ser utilizadas a secagem por atomização e por liofilização, sendo que a primeira é comumente utilizada para a fabricação de leite em pó, enquanto a liofilização é utilizada para alimentos que são sensíveis à alta temperatura, entretanto possui custo mais elevado. A secagem do leite permite o uso em vários produtos, dentre eles o chocolate.

O consumo de chocolate no Brasil em 2020 foi de 743 mil toneladas, com consumo *per capita* de 3,5 Kg por habitante, quantidade considerada baixa quando comparado com os países desenvolvidos que tem consumo *per capita* de 8,0 Kg (ABICAB, 2020). Com relação as exportações, o país em 2020 exportou cerca de 30 mil toneladas de chocolate para 145 países, com faturamento de US\$101 bilhões. O Brasil tem destaque na produção de chocolate por ser um dos maiores produtores de cacau, e também em indústrias de beneficiamento da amêndoa, na produção de leite em pó e açúcar, ingredientes importantes para o desenvolvimento de



chocolate. A maioria das indústrias de produção de chocolate está no modelo de cooperativas e parcerias entre produtor e indústria (ABICAB, 2020).

Existe diferentes tipos de chocolate, dentre os principais estão o chocolate intenso, meio intenso, branco e ao leite. As diferenças entre eles são a composição e os ingredientes utilizados. Os ingredientes básicos para a produção do chocolate são manteiga de cacau, massa de cacau, açúcar, emulsificante e leite em pó. O chocolate ao leite de vaca é comumente encontrado no mercado nacional e internacional, contudo a produção de chocolates utilizando leite de diferentes espécies ainda é pouco explorado, devido a sazonalidade e dificuldades de encontrar esses leite como leite em pó. Entretanto, o uso de leite das demais espécies é interessante pela diversificação dos produtos, inserção de novos sabores, características que esses leites podem induzir nos chocolates e pode ser uma forma importante de agregação de valor para o setor.

Ao ampliar o mercado de leite em pó e chocolate, é importante conhecer as características desses produtos. Para isso análises físico-químicas, texturais, morfológicas, térmicas e sensoriais podem ser realizadas. As análises físico-químicas são utilizadas para demonstrar a composição do produto. As análises texturais morfológicas e térmicas caracterizam as propriedades da amostra que auxiliam nos processos de fabricação. A análise sensorial é utilizada para entender a preferência do consumidor, para isso os testes afetivos e o levantamento de atributos tornam-se fundamentais. Testes sensoriais rápidos como *Temporal Dominance of Sensations* (TDS) e *Check-all-that-apply* (CATA) estão sendo cada vez mais utilizados devido ao baixo custo, tempo de análise e confiabilidade dos resultados.

A tese foi dividida em cinco capítulos, neste primeiro capítulo é apresentado o referencial teórico utilizado como base para a execução deste estudo, no segundo são apresentados os objetivos norteadores da pesquisa. No terceiro capítulo é avaliado o efeito do método de secagem de atomização e liofilização em leite em pó de ovelha parcialmente desnatado e integral. No quarto capítulo é avaliado o efeito do leite em pó de vaca, búfala, cabra e ovelha sobre as propriedades dos chocolates ao leite, por fim, no quinto é apresentado o anexo com a ficha sensorial CATA, aceitação e intenção de compras utilizada na avaliação sensorial dos chocolates ao leite.

# Capítulo I

## **Referencial Teórico**

## 2. REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 Leite de diferentes espécies

Entende-se por leite, sem outra especificação, o produto oriundo da ordenha completa, ininterrupta, em condições de higiene, de vacas saudáveis, bem alimentadas e descansadas (BRASIL, 2020). O leite de vaca corresponde a 81% da produção mundial, seguido do leite de búfalas 15%, leite de cabra 2 % e leite de ovelha 1% (FAO, 2021). Com relação à composição o leite de todas as espécies contém gordura, proteína, lactose, minerais e vitaminas, o que altera de uma espécie para outra é a quantidade desses componentes. Fatores como alimentação, estágio de lactação, estações do ano, manejo e número de ordenhas podem variar os teores dos componentes do leite, principalmente a gordura (CRUZ et al., 2016).

O leite de vaca é o mais explorado para produção de derivados, além disso, é a espécie mais utilizada quando se fala em inovação de produtos lácteos. Como exemplo já é possível encontrar nos mercados produtos com zero lactose em leite fluido e em derivados, produtos enriquecidos com proteína, e produtos com leite variante da beta-caseína A2 (SGARBIERI, 2012; BARBOSA et al., 2019; RIZZO et al., 2020).

As búfalas produzem em média 6 a 8 litros/animal/dia durante 300 dias de lactação, e o leite possui uma coloração branca devido à pequena concentração de beta-caroteno (pró-vitamina A), maior valor nutricional e rendimento industrial, e de acordo com Borges (2017), um aumento de 0,5% no teor de sólidos contribui para um aumento de 11% no rendimento de leite em pó. Os glóbulos de gordura são maiores, o que facilita o desnatado, além de possuir menor teor de colesterol e maiores teores de ácidos graxos saturados, principalmente ácido palmítico, ácido mirístico, ácidos graxos trans, ácido linolênico e ácido linolênico conjugado (CLA), além de possuir cerca de 25,5% a mais de aminoácidos essenciais, quando comparado com o leite de vaca (ROSATI e VAN VLECK, 2002; JUNIOR et al., 2009; MÉNARD et al., 2010; MUIR, 2012; CRUZ et al., 2016; FERRÃO et al., 2018; GONÇALVES et al., 2020). O leite de búfala é tradicionalmente utilizado para a produção de queijo muçarela (ABSINGLE et al., 2020).

As cabras possuem em média 150 dias de lactação, com produção de 3 a 4 litros/animal/dia, e o leite apresenta características distintas quando comparado ao leite de vaca. Apresenta maior digestibilidade devido ao alto conteúdo de ácidos graxos de cadeia curta e glóbulos de gordura de menor diâmetro (CAMPOS, 2011; MUIR, 2012; CRUZ et al., 2016). Devido à maior quantidade de ácidos graxos caproico, caprílico e cáprico o leite de cabra possui odores característicos (KALYANKAR et al., 2016).

O leite de cabra possui menor quantidade da fração  $\alpha$ 1-caseína, o que pode favorecer o consumo para alérgicos, entretanto um indivíduo que tem alergia à proteína do leite de vaca não necessariamente pode consumir o leite de cabra, devendo verificar antes a qual fração a pessoa é alérgica (DRUNKLER et al., 2010; RONCADA et al., 2012; FUC et al., 2018). As micelas de caseína do leite de cabra são menores, possuem mais cálcio e fósforo inorgânico, são menos estáveis ao calor do que as do leite de vaca (KALYANKAR et al., 2016). Este leite é tradicionalmente utilizado para produção de iogurte, bebida láctea, queijos e leite em pó (GRACIA et al., 2014, CRUZ et al., 2016).

As ovelhas são criadas para a obtenção de lã, carne e leite, com produção média de 1 litro/animal/dia durante 150 dias de lactação. O leite possui alto rendimento devido ao maior teor de gordura e proteína, e melhor digestibilidade quando comparado com o leite de vaca (BLAGITZ et al., 2013; CRUZ et al., 2016; MATIELLO, et al., 2016). Devido ao teor de gordura o leite de ovelha possui rendimento semelhante ao leite de búfala e alta cremosidade nos derivados, além de maior quantidade dos ácidos graxos de cadeia curta e média possibilita o consumo deste leite por pessoas com dificuldade de digerir e absorver lipídeos de cadeia longa (CRUZ et al., 2016; DAMODARAN, 2018; MOATSOU et al., 2019).

O leite de ovelha é abundante nos minerais cálcio, fósforo, potássio, sódio e magnésio. Este leite é tradicionalmente utilizado para a produção de queijos Roquefort, Feta, Pecorino, e iogurte (MUIR, 2012; MOHAPATRA et al., 2019; HERMANDEZ, et al., 2020). Em termos de composição global, a gordura e proteína são as características que mostram maior diferença entre o leite das diferentes espécies. Na Tabela 1 estão apresentados os valores médios da composição do leite de diferentes espécies de maior interesse comercial. Em termos de composição global, o teor de gordura e proteína dos leites de búfala e ovelha mostram maior diferença entre o leite das diferentes espécies.

Tabela 1. Composição média do leite de diferentes espécies

<b>Espécie</b>	<b>Gordura (%)</b>	<b>Proteína (%)</b>	<b>Lactose (%)</b>	<b>Água (%)</b>
Vaca	3,8	3,1	4,6	87,7
Búfala	7,2	4,2	4,8	83,2
Cabra	3,8	3,4	4,1	87,5
Ovelha	6,4	5,6	4,9	81,3

Fonte: Park et al., 2007; Claeys et al., 2014; Alichanidis et al., 2016; Kalyankar et al., 2016; Mohapatra et al., 2019.

## **2.2 Leite em pó e o processo de atomização e liofilização**

O leite em pó é o produto obtido por desidratação do leite de vaca integral, desnatado ou parcialmente desnatado e apto para a alimentação humana, por processos tecnológicos adequados (BRASIL, 2018). Dos derivados lácteos, o leite em pó é o mais comercializado mundialmente. De acordo com a FAO (2021), o comércio internacional de leite em pó em 2020 foi de 2,7 milhões de toneladas, e o Brasil exportou em 2020 aproximadamente 55.000 toneladas de leite em pó (ABLV, 2020).

A secagem do leite possibilita que o produto seja conservado por mais tempo e a disponibilidade do leite de espécies que são sazonais, como exemplo, leite de búfala, cabra e ovelha. O leite em pó é importante para o setor de alimentos, uma vez que o produto é muito utilizado para a produção de sorvetes, chocolates, produtos de confeitaria entre outros (ALVES et al., 2020).

O leite bovino in natura possui cerca de 87,5% de água e após o processo de secagem pode chegar a 2,5% a 4,0% de umidade (FOSCHIERA, 2004; FERRÃO et al., 2018). O leite em pó pode ser classificado como integral, parcialmente desnatado ou desnatado. O integral possui teor de gordura maior ou igual a 26%, umidade máxima de 5%, acidez titulável máxima de 18 mL NaOH 0,1N/10g, teor de proteína no extrato seco desengordurado mínimo de 34%, índice de solubilidade de no máximo 1,0 mL e partículas queimadas máximo disco B (BRASIL, 2018).

O leite em pó é formado a partir da desidratação de gotículas de leite fluido, por meio da atomização. Durante os processos de bombeamento, agitação, aquecimento e homogeneização ocorrem interações entre os componentes do leite que podem interferir nas propriedades de reconstituição e de fluxo do leite em água, e propriedades como densidade e tamanho de partículas obtidas no processo estão relacionadas com produtos em pó de alta qualidade. O rápido resfriamento do leite em pó, para evitar a migração da gordura para a superfície da partícula, contribui para melhor solubilidade, molhabilidade e escoamento do leite em pó (FONSECA et al., 2010; BOTH et al., 2018; FERRÃO et al., 2018; FROHLICH et al., 2020).

O processo para obtenção do leite em pó por atomização consiste em três etapas: primeiramente o leite fluido é concentrado e transferido até o atomizador através de bombas e disperso como gotas para aumentar a área superficial, posteriormente a gotícula entra em contato com o vapor de ar quente e finalmente a água evapora e as partículas de leite em pó são formadas, passando por um ciclone, sendo acondicionado em um coletor (KUROZAWA e COSTA, 2014; KESHANI et al., 2015; BORGES et al., 2017). A pequena partícula formada é

importante, pois permite a rápida evaporação da água em uma temperatura baixa, minimizando os danos térmicos ao leite, pois grande parte da energia é utilizada para a mudança do estado líquido para vapor. Na secagem por atomização a temperatura do leite não ultrapassa 80°C, enquanto a temperatura do ar pode variar de 140 a 175°C (SCHUCK, 2013; CRUZ et al., 2017).

A secagem por atomização é cerca de 4 a 5 vezes mais econômica quando comparada com a secagem por liofilização. O processo de secagem por liofilização é realizada em baixa temperatura, pois é uma técnica com base na remoção da água por sublimação seguida da dessorção e, assim, permite a redução da atividade de água e a manutenção dos componentes termossensíveis do produto (SANTO et al., 2013; SCHUCK, 2013; BARRESI et al., 2018). No entanto, como a velocidade de desidratação é lenta, manter as condições de operação (baixa temperatura e vácuo) tornam o custo do processo elevado (FELLOWS, 2018; TADINI et al., 2016).

Para o processo de liofilização o alimento deve ser previamente congelado, pois com o fornecimento de calor à pressão constante (abaixo de 4,58 mm Hg) o alimento congelado inicia a sublimação. A aplicação do vácuo é necessária, pois resulta na menor temperatura de vaporização da água, onde a uma pressão menor as moléculas de água atingem em menor tempo uma energia cinética que permita que as moléculas vençam a pressão externa que está sobre a superfície do alimento e assim passem do estado sólido para o estado de vapor (Figura. 1) (CAMPBRL-PLATT, 2015; FELLOWS, 2018).

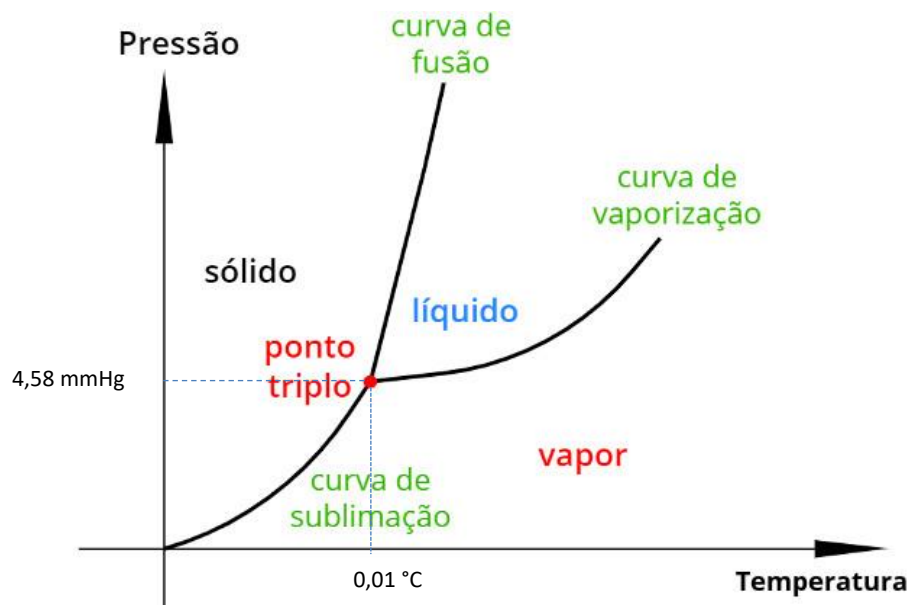


Figura 1: Princípio do processo de liofilização - diagrama de fases da água

Fonte: Campbell-Platt, 2015.

As etapas de secagem são divididas em secagem primária (sublimação) e secagem secundária (dessorção), na primeira ocorre a eliminação da água por sublimação, e na segunda a água ligada por adsorção é eliminada por evaporação. Nesta secagem a temperatura utilizada varia de 30 a 60°C, a depender do equipamento, sendo necessário também no sistema de liofilização um sistema de condensação que opere a temperaturas inferiores à do produto congelado (KUROZAWA e COSTA, 2014; MARQUES e COSTA, 2015).

A liofilização é principalmente utilizada em produtos como frutas e hortaliças, café solúvel, ervas aromáticas e preparo para alimentos infantis, como também para as chamadas dietas completas, em que são incluídas refeições para militares, viagens espaciais e esportes específicos (CAMPBELL-PLATT, 2015; FELLOWS, 2018).

### **2.3 Espectroscopia de Infravermelho Médio (MIR), e Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e Análise Térmica em produtos lácteos**

A espectroscopia de infravermelho é uma técnica espectroscópica vibracional baseada na absorção molecular em que a energia quando absorvida por uma determinada molécula, promove transições vibracionais e rotacionais, e a diferença entre a radiação emitida e a radiação absorvida pela matéria origina o espectro (SKOOG et al., 2007; PAIVA et al., 2010).

A região do infravermelho pode ser dividida em três: infravermelho próximo (NIR: *Near Infrared*), infravermelho médio (MIR: *Middle infrared*) e infravermelho distante (FIR: *Far Infrared*) que estão contidas na faixa de 12800-10  $\text{cm}^{-1}$ . Para uma amostra absorver na região do infravermelho é necessário suas vibrações moleculares resultarem numa alteração do momento dipolar. Essas alterações podem ser deformações axiais ou estiramento (alterações na distância internuclear dos átomos envolvidos), ou deformações angulares (mudança no ângulo de ligação com um grupo de átomos) (SOARES, 2006; SKOOG et al., 2007; DOMINGO et al., 2015).

A espectroscopia de infravermelho médio (MIR) possui número de onda na faixa de 4000 a 400  $\text{cm}^{-1}$ , e é muito utilizada para classificar, identificar e avaliar a qualidade dos alimentos devido a grande quantidade de modos vibracionais associados a grupos funcionais presentes em alimentos orgânicos nesta região, tais como proteínas, carboidratos e lipídeos. Cada tipo de ligação, por exemplo, C-N, C-C, C=O, O-H, irá absorver em um determinado número de onda do espectro resultando na formação de bandas/picos correspondendo às frequências de vibração entre os átomos. Por isso é uma técnica que possui sensibilidade

elevada e alta resolução, o espectro obtido é considerado a impressão digital da amostra (SKOOG et al., 2007; KAROULI et al., 2010).

A identificação das bandas de absorção da amostra acontece com a reflexão de um feixe de radiação infravermelha que incide, passando de um meio denso (cristal, que geralmente é de seleneto de zinco, germânio, diamante ou brometo-iodeto de tálio) para um meio menos denso (amostra). Uma pequena parte dessa radiação absorve na amostra. Com a absorção, o feixe de radiação infravermelho sofre uma atenuação, então é medido a mudança na intensidade no feixe após o contato com o cristal que está em contato com a amostra (KAROULI et al., 2010; BENETTI et al., 2014).

Esta técnica é rápida, requer pouco ou nenhum preparo da amostra, não utiliza reagentes químicos e pode ser acoplada a outras técnicas, o que torna o MIR muito utilizado na indústria e laboratórios de pesquisa. Na área de lácteos, a técnica vem sendo utilizada para discriminação de leite e leite sem lactose (PINTO et al., 2021), detecção de melanina em fórmula infantil (BALABIN et al., 2011), detecção de soro em leite em pó (CARVALHO et al., 2015), prever os principais componentes de leite comercial (GORLA et al., 2020), e previsão da acidez do leite de vaca (CALAMARI et al., 2016).

Com o uso do Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) é possível obter imagens ampliadas de um material e distinguir detalhes não revelados a olho nu em alta resolução, porque o MEV utiliza a radiação com comprimento de onda menor que a luz visível como fonte de iluminação do objeto e ampliação de até 3000.000 vezes, pois o que é visualizado no monitor do aparelho é a transcodificação da energia emitida pelos elétrons (CASTRO, 2005; MUTALIBI et al., 2017). Fornece informações estruturais tridimensionais significativas sobre a superfície, incluindo buracos ou fissuras, que aparecem de cor escura nas imagens, e protuberâncias e saliências, que aparecem claras nas imagens, sobre materiais biológicos e não biológicos, como exemplo: análise morfológica de pós e identificação e composição química das fases presente em uma amostra (PAREDES, 2014; BURGAN et al., 2017).

A MEV emprega uma pistola de elétrons, lentes magnéticas eletrônicas e bobinas de varredura para focalizar e rastrear um feixe de elétrons sobre a superfície de uma amostra aterrada colocada em uma câmara de alto vácuo. O que torna o MEV versátil é a capacidade de examinar amostras, variando de escala centimétrica a nanométrica. À medida que o feixe de elétrons impacta a amostra, a mesma reage emitindo diferentes tipos de sinais, que são lidos por detectores específicos e usados para reconstituir a topografia da superfície da amostra ou fornecer informações sobre a composição elementar (BURGAN et al., 2017; MUTALIBI et al., 2017).



A análise morfológica de pós é possível por meio do MEV devido esses alimentos serem secos e terem baixa atividade de água. Zouari et al. (2020) estudaram a composição química e microestrutura de leite em pó de vaca e camela integral e parcialmente desnatado, e observaram que visualmente a superfície dos leites apareceram estrutura homogêneas com a presença de rugas distinguíveis. Borges et al. (2017) estudaram a morfologia do leite em pó de búfala com tempos de 0 a 150 dias de armazenamanto, e concluíram que as partículas do leite em pó no tempo 0 apresentaram-se mais murchas, enquanto que com o aumento do tempo de armazenamento partículas mais lisas foram observadas.

Análise térmica é um grupo de técnicas em que a propriedade física ou produtos da reação de uma amostra é medida, enquanto a amostra é submetida a uma mudança de temperatura. As principais técnicas associadas à análise térmica são a térmica diferencial (*Differential Thermal Analysis - DTA*), calorimetria exploratória diferencial (*Differential Scanning Calorimetry - DSC*) e termogravimétrica (*Thermogravimetric Analysis - TG*) (HAINES, 2005; IONASHIRO, 2014). O que diferencia uma técnica da outra é a propriedade física monitorada durante a análise. Na DTA a propriedade monitorada é a temperatura, na DSC a entalpia e na TG a massa da amostra quando comparado com um material de referência inerte (alumina, carbeto de silício ou pérolas de vidro) (RAMACHANDRAN et al., 2002; SKOOG et al., 2007).

Existe a DSC por compensação de potência e por fluxo de calor. Na DSC por compensação de potência a referência e a amostra são mantidas na mesma temperatura por aquecedores elétricos individuais, enquanto que na DSC por fluxo de calor a referência e a amostra são acondicionadas em um disco de metal onde ocorre a troca de calor. Por meio das análises de DSC/DTA é possível obter informações sobre a decomposição, transição de fase, cristalização e oxidação da amostra (KLANCINIK e MEDVEL, 2010; RISCOB et al., 2011).

Um termogravimétrico é composto por uma termobalança, que é um instrumento que mede a perda de massa de uma amostra à medida que ocorre a mudança de temperatura. Os parâmetros razão de aquecimento e temperatura podem ser ajustados. Fatores instrumentais e da amostra podem afetar as medidas da análise térmica, tais como taxa de aquecimento, geometria do forno, sensibilidade da balança, e fatores da amostra, tais como quantidade e tamanho de partícula da amostra, densidade de empacotamento e condutividade térmica (RAMACHANDRAN et al., 2002).

A análise térmica pode ser utilizada em produtos ou materiais para determinação de pureza, de polimorfismo, estabilidade e decomposição térmica e identificação de adulteração. Na área de ciência e tecnologia de alimentos essas técnicas são utilizadas para estudo do

comportamento térmico de conservantes (Jesus et al., 2021), caracterização física do chocolate ao leite utilizando soro de leite em pó (Lapcikava et al., 2022), análise térmica de queijos semi-duros fabricados com alecrim (Marinho et al., 2015).

A análise térmica foi utilizada por (Cheng et al., 2017) para prever a estabilidade térmica de fórmula infantil armazenados em alta temperatura, eles concluíram que quando o leite foi armazenado a 70°C ocorreram eventos de cristalização e fusão da gordura do leite nos primeiros dois dias de armazenamento.

## **2.3 Chocolate**

### **2.3.1 Cacaueiro**

O cacaueiro (*Theobroma cacao* L.) pertencente à família *Sterculiaceae*, originário do norte da América do Sul é uma espécie de grande importância econômica, pois as amêndoas são utilizadas para a produção de chocolate e extração da manteiga de cacau, que podem ser utilizadas tanto na indústria alimentícia e de cosméticos (SANTOS et al., 2018). Para o cultivo do cacaueiro são necessárias chuvas regulares com precipitações de 1500 a 2000 mm, temperatura média de 24 a 28°C em solo profundo e fértil (MOTAMAYOR et al., 2008). Cada árvore produz cerca de 20 a 50 frutos e devido à sensibilidade ao sol cada cacaueiro deve ser plantado sob a sombra de outras árvores, chamadas de mães cacaueiras, como árvores de coco, palmeiras, bananeiras e florestas. (BELITZ et al., 2009).

O fruto deve ser colhido maduro, entretanto não maduro demais, por ser um fruto não-climático é importante um tempo de espera para a quebra do mesmo, pois as enzimas são ativadas e com isso ocorre quebra dos polissacarídeos em monossacarídeos, que são açúcares responsáveis pela fermentação (BELITZ et al., 2009).

As variações de sabor do chocolate estão relacionadas à origem, tipo de solo, idade da planta e variedade do cacau. As variedades Criollo, Trinitário e Nacional são conhecidas pelo sabor diferenciado por apresentarem notas frutadas/florais e picantes, enquanto a variedade Forastero possui sabor “forte”, ácido, intenso e menos frutado/floral (HINNEHA et al., 2019). A variedade Nacional é utilizado para a produção de chocolate fino, e para os demais chocolates *blends* de amêndoas (SCHMIDT et al., 2015).

A variedade Forastero representa cerca de 85% da produção mundial porque é resistente a doenças. Essa variedade tem cor da semente variando do roxo pálido a escuro (DAND et al., 2011; CALIGIANI et al., 2016). A variedade Criollo representa apenas 2% da produção

mundial, é mais susceptível a doenças, e quando maduro o fruto é vermelho e alongado (FERREIRA et al., 2017).

### 2.3.2. Beneficiamento das amêndoas

A escolha da variedade do cacau e o beneficiamento das amêndoas influencia na obtenção de um chocolate de qualidade. O cacau utilizado para o beneficiamento deve ter um teor de umidade máximo de 8%, boa aparência e aroma natural. As principais etapas de beneficiamento das amêndoas são a fermentação das sementes de cacau, secagem e torrefação das amêndoas (EFRAM et al., 2010).

A fermentação e a secagem são dois processos essenciais para uma boa qualidade do chocolate. Durante a fermentação das sementes ocorre o início das reações bioquímicas responsáveis pelo sabor e aroma do chocolate. É durante esta etapa que ocorre a perda do poder germinativo e a transformação das sementes de cacau em amêndoa (FERREIRA et al., 2013).

Geralmente a fermentação é realizada durante 2 a 8 dias, a depender da condição e variedade do cacau. O cacau da variedade Criollo apresenta fácil fermentação (2 a 3 dias), o da variedade Trinitário apresenta fermentação intermediária e o Forasteiro fermentação prolongada (5 a 7 dias) (CAMPOS et al., 2012). Sementes bem fermentadas possuem cor uniforme marrom escuro que são facilmente separadas em seus cotilédones, enquanto quando mal fermentadas possuem cor violeta, sabor amargo, adstringente, elevados teores de amido, polifenóis e são de baixa qualidade (BELITZ et al., 2009; SCHMIDT et al., 2016; PÉREZ et al., 2020).

Por ser um processo espontâneo e natural, a fermentação envolve diversos micro-organismos, como leveduras e bactérias ácido lácticas que hidrolisam os açúcares glicose, frutose e sacarose encontrados na polpa para a produção de etanol e ácido láctico, ocorrendo aumento da temperatura nesta etapa. É importante a polpa do cacau ter uma quantidade suficiente de açúcares para servir de substrato para os micro-organismos, geralmente a polpa de cacau contém cerca de 10% de glicose e frutose (BELITZ et al., 2009; CAMPOS et al., 2012).

Durante a fermentação a polpa é decomposta por enzimas e se torna líquida, passando a ser chamada de suco de fermentação. Leveduras como *Saccharomyces cerevisiae*, *Pichia kudriavzevii* e *Kluyveromyces marxianus* produzem enzimas proteolíticas que quebram a pectina causando colapso na polpa, com a formação de espaços vazios entre os grãos permitindo a aeração dos mesmos. Esta circulação do ar é importante para o desenvolvimento das bactérias do ácido acético que convertem o etanol em ácido acético, aumentando a temperatura (50°C) e

o ácido produzido pelas bactérias entra pela testa e o pH do cotilédone muda causando a morte do gérmen. Neste momento a semente passa a ser chamada de amêndoa (BELITZ et al., 2009; CAMPOS et al., 2012).

A alta temperatura (50°C) e o baixo pH (3,5) são necessários para o desenvolvimento das leveduras *Kloeckera apiculata* e *Saccharomyces cerevisiae* var *chevalierir* que causam a quebra da proteína com liberação de aminoácidos que são os precursores dos compostos voláteis no cacau, como acetato de isopropila, acetato de etila e álcool isoamílico, enquanto a bactéria *Bacillus* sp é responsável pela produção de ácido acético. Álcool, aldeídos e cetonas são produzidos durante os dois primeiros dias de fermentação, ésteres e ácido acético são produzidos durante o terceiro e quinto dia e a produção de ésteres e álcoois mais importantes da fermentação são produzidos durante o sexto e oitavo dia de fermentação (BELITZ et al., 2009; CAMPOS et al., 2012; JUNIOR et al., 2020). Compostos como peptídeos, aminoácidos livres e açúcares redutores são degradados e são responsáveis pelo sabor do chocolate (PÉREZ et al., 2020).

Os ácidos orgânicos são formados principalmente durante a fermentação, sendo os ácidos acético, cítrico e oxálico os principais. O ácido acético é parcialmente perdido durante a conchagem. Para o chocolate não ter um sabor residual ácido elevado é importante no final da fermentação o teor residual de ácido acético ser de 12 - 15 meq.g/100g. Geralmente amêndoas com excesso de ácido acético indicam que a fermentação não foi completa, e se a quantidade de ácido acético for maior que 20 meq/100g o sabor ácido é perceptível no chocolate pelo consumidor (CALIGIANI et al., 2016).

A secagem das amêndoas reduz a umidade de 40% a 50% para 6% a 7%, sendo o principal objetivo a interrupção da fermentação, como também redução da adstringência, da acidez, formação dos compostos responsáveis pelo aroma e sabor característico do chocolate, oxidação dos compostos fenólicos, remoção de ácido acético, ésteres voláteis e outros compostos indesejáveis do aroma e a destruição de possíveis ovos de larvas que estejam nas amêndoas (BELITZ et al., 2009; CAMPOS et al., 2012). Uma secagem a 70°C é suficiente para produzir compostos voláteis desejáveis no cacau para a produção do chocolate. Durante a secagem são formados proantocianidinas poliméricas e melanoidinas de cor marrom que contribuem para a cor final do chocolate (EFRAIM et al., 2011; CAMPOS et al., 2012; SACHETTI et al., 2016).

A torrefação das amêndoas ocorre em temperatura de 70°C a 175°C, com tempo variável de 15 minutos a 2 horas. Mudanças como redução da umidade de 6% a 7% para 1,5% a 2%, redução de cerca de 70% dos ácidos voláteis, realce do sabor e facilidade para remoção da casca

para produção do nibs ocorrem durante a torrefação (EFRAIM et al., 2011; APROTODOAIE et al., 2016). Durante a torra compostos responsáveis pelo sabor do chocolate são formados como as pirazinas e aldeídos (resultante da reação de Maillard) e furanos e pequenos éteres cíclicos (BRAGA et al., 2018).

### **2.3.3 Chocolate e sua produção**

Chocolate é o produto obtido a partir da mistura de derivados de cacau (*Theobroma cacao L.*), massa (pasta ou líquido) de cacau, cacau em pó e/ou manteiga de cacau, com demais ingredientes, contendo no mínimo 25% (g/100g) de sólidos totais de cacau (BRASIL, 2005). O Brasil teve em 2020 um consumo interno de 743 mil toneladas de chocolate, sendo a região Sudeste o maior consumidor do país, com 55% do total, seguido da região Sul com 28%, e região Nordeste com 9% (ABICAB, 2021).

As pesquisas apontam que o consumo de chocolate pode prevenir doenças cardiovasculares e hipertensão devido à presença de flavonoides. A catequina é o principal flavonoide do chocolate, e a epicatequina é o mais biodisponível e com maior influência nas defesas antioxidantes. O consumo do chocolate está associado a efeitos antidepressivos e anti-inflamatórios, por promover o aumento da serotonina, hormônio responsável pelo bem-estar (ALLGROVE e DAVISON, 2018; VERONESE et al., 2018).

O chocolate é apreciado e consumido por pessoas de todas as idades e classes sociais, pois é considerado uma boa fonte de carboidratos, lipídeos, minerais e vitaminas (IEGGLI et al., 2011). Os ingredientes básicos para a produção do chocolate são nibs, manteiga de cacau, leite em pó e açúcar. A quantidade de cada ingrediente depende do tipo de chocolate a ser produzido, sendo que os mais comercializados são chocolates ao leite, meio intenso, intenso e branco (AFOAKWA, 2016). Geralmente o chocolate ao leite tem de 20 a 39% de massa de cacau e 14% de sólidos totais de leite (SOUZA, 2010). O leite contribui para a cremosidade, devido à presença de caseína e proteínas do soro, enquanto a gordura do leite é mais propensa a oxidação, o que contribui para a menor vida de prateleira do chocolate ao leite (AFOAKWA, 2016).

As principais etapas de processamento do chocolate são a mistura dos ingredientes, refino, conchagem e temperagem. A mistura dos ingredientes tem por objetivo a obtenção de uma massa homogênea (AFOAKWA, 2016) e o refino é responsável pela textura lisa e redução da granulometria da massa, tornando os grânulos não perceptíveis na boca durante a degustação

do chocolate. Para um bom chocolate é recomendado que 90% das partículas sejam menores que 30  $\mu\text{m}$  (COHEN et al., 2004; BELITZ et al., 2009).

A conchagem ocorre em um misturador de superfície raspada que proporciona a formação do sabor do chocolate e transforma a massa de chocolate em um líquido fluido. As funções da conchagem são remover a umidade e voláteis indesejáveis como ácido acético, reduzir o sabor amargo, desenvolver a uniformização da cor, sabor e aroma em decorrência da reação de Maillard. Durante esta etapa as proteínas do leite que possuem atividade de superfície agem como emulsificante, devido à sua característica anfifílica tem a capacidade de se desdobrar e migrar para a interface do açúcar facilitando a mistura com a manteiga de cacau (SILVA et al., 2017; DOMADARAN et al., 2018; BECKETT et al., 2019).

A temperagem é uma técnica de pré-cristalização controlada dos cristais da manteiga de cacau para a forma mais estável, que tem o objetivo de permitir rápida solidificação do chocolate no molde, induzir um empacotamento adequado dos triglicerídeos, facilitar a desmoldagem, evitar o *fat bloom* no resfriamento e armazenamento, e conferir boas características de brilho, textura e fusão (DEBASTE et al., 2008; GARTI et al., 2012; CAPAROSA et al., 2018).

Dentre os ingredientes utilizados para a fabricação do chocolate a manteiga de cacau é responsável pela dureza à temperatura ambiente, fusão rápida e completa na boca, brilho e rápido desprendimento de sabor e aroma. A manteiga de cacau é composta por 98% de triacilgliceróis, possui derretimento entre 35°C a 40°C, forma uma estrutura semicristalina com ligações de Van der Waal para interação entre as gorduras e ligação de hidrogênio para interação entre as partículas e interação entre partícula e gordura (QUAST et al., 2011; SILVA et al., 2017; ZHAO e JAMES 2018).

A existência de diversas estruturas cristalinas com diferentes empacotamentos moleculares formados pela mesma substância é conhecido como polimorfismo. A manteiga de cacau cristaliza em diferentes formas devido à temperatura de armazenamento, tempo e condição de processamento. Existem seis formas de cristais (I – VI) (Tabela 2). As formas dos cristais mais desejáveis para o chocolate são a V que é formada a 32 - 34°C, e a VI que pode ser formada durante o armazenamento, conferindo brilho, boa aderência e resistência ao *fat bloom* no chocolate (AFOAKWA et al., 2009; BAKALIS et al., 2011; PIROUZIAN et al., 2020).

Tabela 2. Formas polimórficas da manteiga de cacau e ponto de fusão dos cristais

<b>Formas polimórficas de manteiga de cacau</b>	<b>Ponto de fusão (°C)</b>
I	17,3
II	23,3
III	25,5
IV	27,5
V	33,8
VI	36,3

Fonte: Garti et al., 2012; Afoakwa et al., 2016;

Os cristais são formados durante a temperagem, em que o chocolate é submetido a uma série de etapas de aquecimento e resfriamento. Primeiro inicia-se o aquecimento do chocolate a temperatura próxima a 50°C ocorrendo a fusão de todos os cristais de gordura, posteriormente é feito o resfriamento do chocolate a temperatura de 27 a 29°C, induzindo à cristalização da gordura. Em seguida ocorre o aquecimento novamente da massa até a temperatura de 30°C para a transformação polimórfica e fusão dos cristais instáveis que possuem temperatura de fusão mais baixa (AFOAKWA et al., 2016; BAKALIS et al., 2011; GARTI et al., 2012).

O chocolate que não é bem temperado, durante o armazenamento pode-se formar uma camada branca na superfície, conhecida como *fat bloom* devido à migração da gordura para a superfície do chocolate e posterior recristalização. Alguns fatores contribuem para a ocorrência da migração da gordura: o primeiro fator é falha no processo de temperagem, os cristais não estão na forma polimórfica mais estável, e esse defeito pode ocorrer com menos de dois dias quando armazenado em temperatura ambiente; o segundo fator é o armazenamento a longo prazo, mesmo nos chocolates bem temperados, devido ao rearranjo de cristais da manteiga de cacau na superfície na forma VI. Embora a transição não seja necessariamente a causa do branqueamento, os mecanismos que causam o *fat bloom* tardio ainda não estão bem elucidados (WALTER e CORNILLON, 2002; GLICERINA et al., 2013; TADINI et al., 2016; CAPAROSA et al., 2018; BECKETT, 2019).

A presença de gordura láctea no chocolate retarda a formação de *fat bloom* e cristalização da manteiga de cacau. Devido a composição de triglicerídeos que apresentam ponto de fusão menor e cristalizam-se mais lentamente quando comparados com os triglicerídeos da manteiga de cacau (AFOAKWA, 2016; BECKETT, 2019).

Após a temperagem os chocolates são transferidos para formas de formatos diversos e passam por uma mesa vibratória para evitar a formação de bolhas de ar em sua superfície, e em seguida são resfriados até 4°C para ficarem sólidos e logo após são embalados (AFOAKWA et al., 2016).

## **2.5 Análise de textura e análise de difração de raios-X (DRX) em chocolate**

A reologia é a ciência que estuda as deformações dos sólidos e fluidos, quando submetidos à ação de forças mecânicas, isto é, a forma como os materiais respondem à aplicação de tensões ou deformações (TEDINI et al., 2016). A textura de um alimento refere-se às suas propriedades reológicas e estruturais (geométricas e de superfície). (CARNEIRO et al., 2011).

O estudo das propriedades de textura é importante para controlar o comportamento do produto durante a produção, armazenamento e consumo. A composição do chocolate influencia diretamente na textura, e devido às propriedades da manteiga de cacau que é sólido a temperatura ambiente (25°C) e que derrete facilmente durante a degustação (36°C). Cada ingrediente é responsável por uma característica; sendo que, a manteiga de cacau e o leite em pó conferem maciez ao chocolate (GLICINA et al., 2013; AFOAKWA 2016; SILVA et al., 2019).

A análise de textura pode ser realizada por métodos sensoriais e instrumentais. Fatores térmicos, geométricos e químicos influenciam na análise de textura e a percepção é puramente mecânica, por isso, métodos instrumentais são utilizados para avaliação de textura (CARNEIRO et al.; 2011). Para o chocolate é utilizado o texturômetro (máquina de compressão) composto por uma probe e copo de teste, que tem baixo custo e uma boa alternativa para análise de rotina para o controle de qualidade. Dentre os parâmetros de textura, a dureza é um dos mais utilizados em materiais sólidos, sendo a força necessária para deformar uma amostra (CHEN e OPARA, 2013; TEDINI et al., 2016).

Estudos realizados comparando a dureza de chocolates branco, ao leite e intenso foram realizados por Ostrowska-Ligeza et al. (2018), e os resultados mostraram que o chocolate intenso obteve valores mais altos de dureza (124 e 177N) quando comparado com os chocolates ao leite (83 e 96N) e branco (59N).

Glicina et al. (2013) estudaram a influência das etapas de mistura, pré-refino, refino, conchagem e temperagem nas características de textura do chocolate com 38% de massa de



cacau. Os resultados mostraram que o valor de dureza nas etapas do processamento do chocolate variaram de 378,82N na etapa de refino a 20,10N na etapa de temperagem.

Além das propriedades de deformação (ou dureza) o conhecimento de como a cristalização ocorre se torna fundamental para garantia da qualidade do chocolate. Este estudo pode ser realizado por análise de difração.

O fenômeno da difração se baseia na interação entre o feixe de raios-X que incidente no material e a radiação difratada pelos planos cristalinos da amostra. A condição para a difração ocorrer se baseia segundo a Lei de Bragg, ou seja,  $n\lambda = 2d\sin(\theta)$  onde, n: número inteiro,  $\lambda$ : comprimento de onda dos raios X incidentes (medido entre o feixe incidente e os planos cristalinos); d: distância interplanar e  $\theta$ : ângulo de difração. Os raios-X são utilizados devido o seu comprimento de onda (entre  $10^{-10}$  a  $10^{-8}$  m), serem da mesma ordem de grandeza da distância entre os átomos dos cristais. As principais vantagens da técnica são rapidez do método e confiabilidade dos resultados, visto que o perfil de difração obtido é único para cada tipo de cristal) (BRAGG, 1992; CULLITY e STOCK, 2001).

Com o intuito de estudar as formas de cristais do chocolate com diferentes concentrações de leite de búfala, Silva (2019) conclui que a substituição da massa de cacau pelo leite de búfala resultou em diferentes formas polimórficas da manteiga de cacau no chocolate, visto que nos chocolates com 0% e 5% de leite de búfala foi predominante a forma V e com 10%, 15% e 20% de leite de búfala a forma VI.

Estudo avaliando o efeito da etimetilcelulose (EC) e de triglicerídeos de cadeia média (TCM) na manutenção dos cristais de manteiga de cacau da forma V foi realizado por Ceballos et al. (2016). Os autores concluíram que uma concentração de 0,2% de EC e 1,9% de TCM contribuiu para a manutenção da forma polimórfica V em chocolate intenso.

## **2.4 Análise Sensorial**

A análise sensorial é uma ciência nova que começou a ser desenvolvida na segunda metade do século XX, justamente com a expansão da indústria de alimentos, sendo iniciada com o desenvolvimento de teorias psicológicas para medir e prever respostas humanas a estímulos externos. A análise sensorial é definida como um método usado para evocar, medir, analisar e interpretar respostas aos produtos como percebidos através do sentido da visão, olfato, tato, paladar e audição (LAWLESS e HEYMANN, 2010). Gostar e não gostar não são as únicas perguntas que são respondidas pela análise sensorial, a percepção do consumidor e respostas emocionais também podem ser explorados (DRAKE, 2007).

A indústria do chocolate está sempre procurando maneiras de criar um produto que atenda às necessidades e desejos dos consumidores e produzi-los a baixo custo, como exemplo o uso de variedades diferentes de cacau ou buscando alternativas para os ingredientes necessários (PELSMAEKER et al., 2019).

Atualmente, devido ao desenvolvimento da indústria de alimentos e a rotatividade de produtos no mercado, existe a necessidade de uma avaliação sensorial rápida e que possa obter respostas precisas sobre a aceitação e avaliação deste produto. Assim, métodos rápidos e que não precisam de treinamento estão cada vez mais sendo utilizados na indústria e no meio acadêmico (XIA et al., 2020), como exemplo as análises de *Temporal Dominance of Sensations* (TDS) que significa dominância temporal das sensações e *Check-all-that-apply* (CATA), que significa marque-tudo-que-se-aplica.

A TDS surgiu ao se perceber que a sensação dos alimentos é um processo temporal, e com este teste podemos analisar vários atributos em uma única análise. Quando a análise TDS é realizada busca-se registrar a dominância da sensação em tempo, mas opta-se por fazer isso somente quando um atributo atrai a atenção do provador. Este é o conceito de domínio, sendo o atributo dominante não necessariamente o mais intenso, sendo que com a técnica é possível registrar uma sequência de atributos dominantes (SCHILICH, 2017; MEYNER e CASTURA, 2018; BOMMEL et al., 2019; OLEGARIO et al., 2020).

A TDS pode ser usada por julgadores (provadores treinados) e consumidores, entretanto julgadores tendem a usar menos atributos e demoram para escolher o primeiro atributo que estão percebendo. Por isso é uma análise mais adequada para consumidores que passam por um treinamento apenas para o uso do software e explicação da análise (LAWLESS e HEYMANN 2010; RODRIGUES et al., 2016; SCHILICH, 2017).

Percepção de nozes em chocolates foi estudado por Paz et al. (2021) sendo utilizado o TDS para estudar a resposta dos consumidores em relação a cinco tipos de chocolates (intenso, ao leite, dourado, branco sabor frutado e branco sabor baunilha) e três diferentes nozes (avelã, amêndoa e pistache). O estudo mostrou que os consumidores conseguiram diferenciar as três nozes, entretanto no chocolate com avelã a percepção foi mais dominante, enquanto que o chocolate com amêndoa a percepção foi menos dominante. Para os chocolates ao leite, dourado, branco, frutado e de baunilha a percepção das nozes foi menor, com relação ao chocolate intenso.

Januszewska et al. (2020), utilizando o TDS, estudaram o impacto da origem da baunilha (Madagascar, Indonésia e Nova Guiné) nas características sensoriais do chocolate branco e chocolate ao leite. O estudo mostrou que para o chocolate branco foi fácil detectar a origem da

baunilha, enquanto que para o chocolate ao leite a percepção esteve relacionada com a dosagem da baunilha.

O CATA é uma técnica utilizada para obter informações sobre a percepção dos consumidores sobre as características dos atributos. Esta técnica permite que os provadores marquem em uma lista predefinida todos os atributos sentidos no produto, atributos estes que podem ser fornecidos por julgadores, após avaliação do produto ou ser obtida na literatura, em que tenha sido realizada a análise com produtos de mesma característica (WORCH et al., 2015; LLOBELL et al., 2019).

Estes termos presentes na lista CATA podem ser atributos, conceitos e sensações relacionados ao produto. As principais vantagens desta análise são: poder ser realizada por consumidores, ser rápida, e não requer treinamento dos provadores, podendo fazer parte desta análise provadores, julgadores e até crianças que saibam ler (ROCHA et al., 2021; ALENCAR et al., 2019). Os resultados são expressos em um gráfico de dispersão obtido por Análise de Componentes Principais ou Análise de Correspondência, em que o produto e atributos são dispersos no gráfico e assim pode-se correlacionar, através da proximidade, o conceito ou atributo mais associado aquele produto (LLOBELL et al., 2019).

Geralmente três cuidados devem ser tomados na lista do CATA: (1) na lista os termos devem ser conhecidos pelos provadores, assim mais termos eles podem marcar para maior caracterização do produto avaliado (ARES et al., 2015a), (2) lista muito grande pode tirar a atenção do provador, e assim ele não avalia se está realmente sentindo a sensação no produto e (3) pesquisas também apontam que os termos devem ser aleatorizados, pois os julgadores tendem a marcar com mais frequência os primeiros termos da lista, entretanto não há consenso para os números de termos na lista do CATA (ARES et al., 2015b; JAEGER et al., 2015).

Pesquisa que consideram as emoções e o conhecimento do produto do consumidor foi realidade por Merlindo et al. (2021) que estudaram as preferências e emoções dos consumidores enquanto consumiam chocolate. Os resultados mostraram que as emoções desagradáveis como ansiedade, tédio e cansaço estão relacionadas ao chocolate com adição de nozes, cereais e frutas; enquanto que sensações de felicidade, fome e desejo foram associadas ao consumo de chocolate branco, intenso, e ao leite. A pesquisa mostrou ainda que mais de 40% dos participantes conhecem informações como qualidade do cacau, informações nutricionais e certificação de qualidade no chocolate.

Torrico et al. (2020) avaliaram a aceitação do chocolate com açúcar e sem açúcar correlacionando com três espaços de simulação virtual (cabine tradicional; floresta de campo aberto e sala antiga com espaço fechado), o estudo mostrou que independente do tipo de

chocolate as sensações “enérgico” e “feliz” foram correlacionados com um ambiente de campo aberto, as sensações “bom” e “calmo” foram correlacionados com um ambiente de sala tradicional e as sensações “entediado” e “culpado” associados a um ambiente de sala antiga e espaço fechado.

Os testes sensoriais afetivos são importantes para medir o quanto um provador gosta ou desgosta de um produto e podem expressar diretamente a opinião sobre o produto. Este teste é realizado com grande número de pessoas que representem parte da população. Entre os testes afetivos, o de aceitação é mais comum, através de uma escala hedônica, os provadores ou consumidores expressam a aceitação pelo produto, e alguns atributos como cor, aroma, sabor, textura e impressão global são medidos por uma escala que vai do “gostei extremamente” ao “desgostei extremamente”, podendo ter cinco, sete ou nove termos para descrever o produto. Esta análise é muito usada devido à simplicidade da análise e confiabilidade dos resultados (LAWLESS e HEYMANN 2010; DUTCOSKY 2019).

### 3. REFERÊNCIAS

ABESINGHE, A. M. N. L.; VIDANARACHCHI, J. K.; ISLAM, N.; PRAKASH, S.; SILVA, K. F. S. T.; BHANDARI, B.; KARIM, M. A. Effects of ultrasonication on the physicochemical properties of milk fat globules of *Bubalus bubalis* (water buffalo) under processing conditions: A comparison with shear-homogenization. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 59, pág 102237, 2020.

ABIA. Associação Brasileira da Indústria de Alimentos. Faturamento da indústria de alimentos cresce 12,8% em 2020. 24/02/2021 Disponível em <https://www.abia.org.br/releases/faturamento-da-industria-de-alimentos-cresce-128-em-2020>. Acesso 30/03/2022

ABICAB. Associação Brasileira da Indústria de Chocolates, Cacau, Amendoim, Balas e Derivados, Agronegócio do cacau no Brasil – Produção, transformação e oportunidade, 2020.

ABLV – Associação Brasileira da Indústria de Lácteos Longa Vida. Relatório anual 2020. Disponível em: <https://ablv.org.br/wp-content/uploads/2021/05/ABLV-Relatorio-Anual-2020.pdf>. Acesso em 14 de março de 2022.

AFOAKWA, E. O. *Chocolate Science and Technology*. Willey-Blackwell. 2 ed. Ghana, 2016.

AFOAKWA, E. O.; PATERSON, A.; FOWLER, M.; VIEIRA, J. Microstructure and mechanical properties related to particle size distribution and composition in dark chocolate. *Journal of Food Engineering*, v. 44, p. 111-119, 2009.

AFOAKWA, E. O.; PATERSON, A.; FOWLER, M.; VIEIRA, J. Influence of tempering and fat crystallization behaviours on microstructural and melting properties in dark chocolate systems. *Food Research International* v. 42, n. 1, p. 200–209 , 2009.

ALANON, M. E.; CASTLE, S. M.; SISWANTO, P. J.; CIFUENTES-GOMEZ, T.; SPENCER, J. P. E. Assessment of flavanol stereoisomers and caffeine and theobromine content in commercial chocolates. *Food Chemistry*. 208, 177-184, 2016.

ALENCAR, N. M. M.; RIBEIRO, T. G.; BARONE, B.; BARROS, A. P. A.; MARQUES, A. T. B.; BEHERENS, J. H. Sensory profile and check-all-that-apply (CATA) as tools for evaluating and characterizing syrah wines aged with oak chips. *Food Research Internacional*. v. 124, p. 156-164, 2019.

ALICHANIDIS, E.; MOATSOU, G.; POLYCHRONINADOU, A. capitulo 5 - Composition and properties of non-cow milk and products. *Now-cow milk and products*, 81-116, 2016.

ALLGROVE, J.; DAVISON, G. *Dark Chocolate/ Cocoa polyphenols and oxidative*. Polyphenols: Mechanisms of Action in Human Health and Disease. Cap 16, 2018.

ALVES, M. F.; BORGES, M. V.; FLORÊNCIO FILHO, D.; CHAVES, M. A.; LANNA, D. P.; PEDREIRA, M. dos S.; FARRÃO, S. P. B.; FERNENDES, S. A. de A.; Effect of spray drying on the fatty acids content and nutritional indices of buffalo powdered milk. *Food Science and Technology*. 40, pág 230-237, 2020.

APROTOSOAIÉ, A. C.; LUCA, S. V.; MIRON, A. Flavor chemistry of cocoa and cocoa products - na overview. *Comprehensive reviews in food science and foo satefy*. 15, 73-91, 2016.

ªARES, G.; REIS, F.; OLIVEIRA, D.; ANTÚNEZ, L.; VIDAL, L.; GIMÉNEZ, A.; CHHEANG, S. L.; HUNTER, D. C.; KAM, K.; ROIGARD, C. M.; PAISLEY, A. G.; BERESFORD, M. K.; JIN, D.; JAEGER, S. R. Recommendations for use of balanced presentation order of terms in CATA questions. v. 46, p. 137-141, 2015.

ᵇARES, G.; ANTÚNEZ, L.; GIMÉNEZ, A.; JAEGER, S. R. List lenght has little impact on consumers' visual attention to CATA qaustions. *Food Quality and Preference*. 42, pág 100-

109, 2015.

BAKALIS, S. REVEREND, B. J. D. Le, ANWAR, N. Z. R.; FRYER, P. J. Modelling crystal polymorphisms in chocolate processing. *Procedia Food Science* v. 1, p. 340–346 , 2011.

BALADIN, R. M.; SMIRROV, S. V. Melamine detection by mid- and near- infrared (MIR/NIR) spectroscopy: A quick and sensitive method for dairy products analysis including liquid milk, infant formula, and milk powder. *Talanta*, v. 85, p. 562-568, 2011.

BARBOSA, M. G.; SOUZA, A. B. de; TAVARES, G. M.; ANTUNES, A. E. C. Leites A1 e A2: revisão sobre seus potenciais efeitos no trato digestório. *Segurança Alimentar e Nutricional*. V. 26, p. 1-11, 2019.

BARRESI, A. A.; RASETTO, V.; MARCHISIO, D. L. Use of computational fluid dynamics for improving freeze-dryers design and process understanding. Part 1: Modelling the lyophilisation chamber. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, v. 129, p. 30-44, 2018.

BECKETT, S. T. *The Science of Chocolate*. Edição 3. RCD ed. Nova York, 2019.

BELITZ, H. D.; GROSCH, W.; SCHIEBERLE, P.; *Food Chemistry*, 4th revised and extended edition, Springer, Germany, 2009.

BENETTI, C. Estudo da reparação óssea por espectroscopia ATR-FTIR após remoção de fragmento da região mandibular com laser de Er,Cr:YSGG ou broca multilaminada. São Paulo – SP: 2014, 91 p. Tese (Doutorado em Ciência na Área de tecnologia Nuclear – Materiais).

BLAGITZ, M. G.; BATISTA, C. F.; GOMES, V.; SOUZA, F. N. de; LIBERA, A. M. M. P. D. Características físico-químicas e celularidade do leite de ovelhas Santa Inês em diferentes estágios de lactação. *Revista Ciência Animal Brasileira*. v. 14, n. 4, p. 454-461, 2013.

BORGES, M. V.; ALVES, M. F.; CHAVES, M. A.; EGITO, A. S.; GROSS, E.; FERRÃO, S. P. B. Chemical, structural and proteomic profile of buffalo milk powder produced in mini spray dryer. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*. V. 16, n. 1, p. 67-76, 2017.

BOTH, E. M.; NUZZO, M.; MILLQVIST-FUREBY, A.; BOOM, R. M.; SCHUTYSER, M. A. I. Morphology development during single droplet drying of mixed component formulations and milk. *Food Research International*. n. 109, p. 448-454, 2018.

BRAGA, S. C. G. N.; OLIVEIRA, L. F.; HASHIMOTO, J. C.; SATO, M. R. G.; EFRAIM, P.; POPPI, R. J.; AUGUSTO, F. Study of volatile profile in cocoa nibs, cocoa liquor and chocolate on production process using GC x GC-QMS. *Microchemical Journal*, 141, 353,361, 2018.

BRASIL. Instrução Normativa n° 53 de 1° de outubro de 2018. Regulamento Técnico Mercosul de Identidade e Qualidade do Leite em Pó. *Diário Oficial da União*, Brasília, 1° out. 2018.

BRASIL. Instrução Normativa n° 68 de 12 de dezembro de 2006. Oficializa os Métodos Analíticos Oficiais Físico-Químicos, para Controle de Leite e Produtos Lácteos, em conformidade com o anexo desta Instrução Normativa, determinando que sejam utilizados nos Laboratórios Nacionais Agropecuários. *Diário Oficial da União*, Brasília, 14 dez. 2006. Seção 1, p. 8.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. RIISPOA. Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal. Decreto n° 10,468, de 18 de agosto de 2020. *Diário Oficial da União*, Brasília, DF, 2020.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade de Chocolate e Chocolate Branco. RDC n.264, de 22 de setembro de 2005. *Diário Oficial da União*, Brasília, DF, 2005.

BOMMEL, R. van.; STIEGER, M.; SCHILICH, P.; JAGER, G. Dutch consumers do not hesitate: capturing implicit ‘no dominance’ durations using Hold-down Temporal Dominance methodologies for sensations (TDS) and emotions (TDE). *Food Quality and Preference*. v. 71, p. 332-342, 2019.

BURGAIN, J.; PETIT, J.; SCHER, J.; RASCH, R.; BHANDARI, B.; GAIANI, C. Surface chemistry and microscopy of food powders. *Progress in Surface Science*, v. 92, p. 409-429, 2017.

CALAMARI, L.; GOBBI, L.; BANI, P. Improving the prediction ability of FT-MIR spectroscopy to assess titratable acidity in cow’s milk. *Food Chemistry*. v. 192, p. 477-484, 2016.

CALIGIANI, A. MARSEGLIA, A. PALLA, G. Cocoa: production, chemistry and use. *Encyclopedia of food and health*, 2016, p. 185-190

CAMPBELL-PLATT, G. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*. 1ª edição, Ed. Manole Ltda, 2015.

CAMPOS, J. R.; BUENDÍA, H. B. E.; RAMOS, S. M. C.; AVILA, I. O.; FLORES, E. J.; CERVANTES, E. L. Effect of fermentation time and drying temperature on volatile compounds in cocoa. *Food Chemistry*. n. 132, p. 277-288, 2012.

CAPAROSA, M. H.; HARTEL, R. W. Structure and properties of chocolate. *Encyclopedia of Food Chemistry*. p. 61-65, 2018.

CARNEIRO; A. P. de G.; FONTELES, T. V.; COSTA, M. G. M.; ROCHA, E. M. de F. F.; RODRIGUES, M. do C. P. Parâmetros de textura em barras de chocolate ao leite. *Alimentos e Nutrição Araraquara*. n 2, p. 259-264, 2011.

CARVALHO, B. M. A.; de CARVALHO, L. M.; COIMBRA, J. S. R.; MINIM, L. A.; BARCELLOS, E. S.; da SILVA JÚNIOR, W. F.; DETMANN, E.; de CARVALHO, G. G. P. Rapid detection of whey in milk powder samples by spectrophotom and multivariate calibration. *Food Chemistry*, v. 174, p. 1-7, 2015.

CASTRO, L. A. S. de. *Documento 93 - Processamento de amostras para microscopia eletrônica de varredura*, EMPRAPA, Pelotas, RS, nov. 2002.

CHEN, L.; OPARA, U. L. Texture measurement approaches in fresh and processed foods – A review. *Food Research International*, v. 51, p. 823-835, 2013.

CHENG, H.; ZHU, R.; ERICHSEN, H.; SOERENSEN, J.; PETERSEN, M. A.; SKIBSTED, L. H. High temperature storage of infant formula milk powder for prediction of storage stability at ambient conditions. *International Dairy Journal*. v. 73, p. 166-174, 2017.

CLAEYS, W.L., VERRAES, C.; CARDOEN, S.; BLOCK, J de.; HUYGHEBART, A.; RAES, K.; DEWETTINCK, K.; HERMAN, L. Consumption of raw or heated milk from different species: An evaluation of the nutritional and potential health benefits. *Food Control*. 24, 188-201, 2014.

CLARK, S. GARCIA, M. B. M. A 100-year review: Advances in goat milk research. *Journal of Dairy Science*. 100, 13287, 2017.

COHEN, K. O.; LUCCAS, V.; JACKIX, M.N.H. Revisão: Temperagem ou pré cristalização do chocolate. *Brazilian Journal of Food Technology*, v.7, p. 23-30, 2004.



- CRUZ, A. OLIVEIRA, C.; SÁ, P.; CORASSIN, C. H. *Química, bioquímica, análise sensorial e nutrição no processamento de leite e derivados – Coleção lácteos*, 1 ed. Elsevier, p. 179, 2016.
- CRUZ, A. OLIVEIRA, C.; SÁ, P.; CORASSIN, C. H. *Processamento de leite de consumo – Coleção lácteos*, v. 2, 1 ed. Elsevier, p. 107, 2017.
- DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L. *Química de Alimentos de Fennema*, 5 ed, Porto Alegre: Artmed, p. 179, 2018.
- DAND, R. *The International Cocoa Trade.*, Woodhead publishing. 3 ed. p. 23-64, 2011.
- DEBASTE, F.; KEGELAERS, Y.; LIÉGEOIS, S.; BEM AMOR, H.; HALLOIN, V. Contribution to the modelling of chocolate tempering process. *Journal of Food Engineering*. v. 88, p. 568-575, 2008.
- DOMINGO, E. C. Detecção de melamina em leite em pó por infravermelho próximo e espectrometria de massa. Lavras – MG: 2014, 84 p. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos).
- DRAKE, M. A. Invited Review: Sensory analysis of dairy foods. *Journal of Dairy Science*. v. 90, p. 4925-4937, 2007.
- DRUNKLER, D. A.; FARINA, L. O. de, KASKANTZIS NETO, G. Alergia ao leite de vaca e possíveis substitutos dietéticos. *Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes*. 65, pág 3-16, 2010.
- DUTCOSKY, S. D. *Análise Sensorial de Alimentos*, 5 ed. PUCPress, Curitiba, p. 276, 2019.
- EFRAIM, P.; ALVES, A. B., JARDIM, D. C. P. Revisão: Polifenóis em cacau e derivados: teores, fatores de variação e efeitos na saúde. *Brazilian Journal Food Technology*, v. 14, p. 181-201, 2011.
- EFRAIM, P.; PEZOA-GARCÍA, N. H.; JARDIM, D. C. P.; NISHIKAWA, A.; HADDAD, R.; EBERLIN, M. N. Influência da fermentação e secagem de amêndoas de cacau no teor de compostos fenólicos e na aceitação sensorial. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 30, p. 142-150, 2010.
- FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations. *Banco de dados FAOSTAT*. 2016. Disponível em: < <http://faostat3.fao.org/> >
- FAO, Food and Drug Administration. *Bacteriological Analytical Manual Online*, 2005. Disponível em: <http://www.cfsan.fda.gov/ebam/bam-5.html>

FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations. *Banco de dados FAOSTAT*. 2019. Disponível em: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QL/visualize>

FELLOWS, P. J. *Tecnologia do Processamento de Alimentos: Princípios e prática*, 4ª edição. Ed. Artmed, p. 199, 2018.

FERRÃO, S. P. B.; BORGES, M. V.; GONÇALVES, B. R. F.; ALVES, M. F.; SILVA, G. de J.; CONCEIÇÃO, D. G.; FERNANDES, S. A. A.; CHAVES, M. A. Propiedades y aspectos tecnológicos de leche em polvo de búfala. *Académica espoñla*, 2018.

FERREIRA, A. C. R.; AHNERT, D.; NETO, B. A. M.; MELLO, D. L. N. *Guia de Beneficiamento de Cacau de Qualidade*. Instituto Cabruca. Ilhéus/Bahia, 2013. 52p.

FERREIRA, A. C. R. *Beneficiamento de Cacau de Qualidade Superior*. Indicação de procedência Sul da Bahia. Ilhéus/Bahia, 2017.

FONSECA, C. R.; PORTO, E.; DIAS, C. T. S.; SUSIN, I. Qualidade do leite de cabra in natura e do produto pasteurizado armazenados por diferentes períodos. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 26, p. 944-949, 2010.

FOSCHIERA, J. L. Indústria de Laticínios: industrialização do leite, análises, produção de derivados. Porto Alegre: *Suliani Editografia Ltda*, p. 88, 2004.

FUC, E.; ZLOTKOWSKA, D.; STACHURSKA, E.; WROBLESWSKA, B. Immunoreactive properties of  $\alpha$ -casein and  $\kappa$ -casein: Ex vivo and in vivo studies. *Journal of Dairy Science*. 101, pág. 10703-10713, 2018.

GARCÍA, V.; ROVIRA, S.; BOUTOIAL, K.; LÓPEZ. Improvements in goat milk quality: A review. *Small Ruminant Research*. v. 121, p. 51-57, 2014.

GARTI, N.; ASERIN, A. Effect of emulsifiers on cocoa butter and chocolate rheology, polymorphism and bloom. *Cocoa Butter and Related Compounds*, p. 275-305, 2012.

GLICERINA, V.; BALESTRA, F.; ROSA, M. D.; ROMANI, S. Rheological, textural and calorimetric modifications of dark chocolate during process. *Journal of Food Engineering*. n. 119, p. 173-179, 2013.

GONÇALVES, B. R. F.; SILVA, G. J.; JESUS, J. C. de, CONCEIÇÃO, D. G.; SANTOS, L. S.; FERRÃO, A. P. B. Fast verification of buffalo's milk authenticity by mid-infrared

spectroscopy, analytical measurements and multivariate calibration. *Journal of the Brazilian Chemical Society*. 7. Pág 1453-1460, 2020.

GONÇALVES, B. R. F.; SILVA, G. de J.; CONCEIÇÃO, D. G.; EGITO, A. S. do; FERRÃO, S. P. B. Buffalo mozzarella chemical composition and authenticity assessment by electrophoretic profiling. *Semina: Ciências Agrárias*, Londrina, v. 38, n. 4, p. 1841-1852, 2017.

GORLA, G.; MESTRES, M.; BOQUE, R.; RIU, J.; SPANU, D.; GIUSSANI, B.; ATR-MIR spectroscopy to predict commercial milk major components: A comparison between a handheld and a benchtop instrument. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*. v. 200, p. 103995, 2020.

HAINES, P. J. *Thermal Methods of Analysis: Principles, Applications and Problems*. 1ed. Springer-science+business media, p. 1322, 1995.

HERMANDEZ, J. C. A.; ALBERTO, R. V.; KEBREAD, E.; APPUHAMY, J. A. D. R. N.; DOUGHERTY, H. C.; ORTEGA, O. C.; RONQUILLO, M. G. Effect of forage to concentrate ratio and fat supplementation on milk composition in dairy sheep: A meta-analysis. *Livestock Science*, v. 238, p. 104069, 2020.

HINNEHA, M.; ABOTSI, E. E.; WALLE, D. V. de; TZOMPA-SOSA, D. A.; WINNE, A. de; SIMONIS, J.; MESSENS, K.; DURME, J. V.; AFOAKWA, E. O.; COOMAN, LEC de; DEWETTINCK, K. Pod storage with roasting: A tool to diversifying the flavor profiles of dark chocolates produced from “bulk” cocoa beans? (part 1: aroma profiling of chocolates). *Food Research International*, v. 119, p. 84-98, 2019.

IEGGLI, C. V. S.; BOHRER, D.; NASCIMENTO, P. C.; CARVALHO, L. M. Determination of sodium potassium, calcium, magnesium, zinc and iron in emulsified chocolate samples by flame atomic absorption spectrometry. *Food Chemistry*, v. 124, p. 1189-1193, 2011.

IONASHIRO, M. *Giolito-Princípios básicos da termogravimetria e análise térmica diferencial/calorimetria exploratória diferencial*. São Paulo, Giz ed, p. 193, 2014.

JAEGER, S. R.; BERESFORD, M. K.; PAISLEY, A. G.; ANTÚNEZ, L.; VIDAL, L.; CADENA, R. S.; GIMÉNEZ, A.; ARES, G. Check-all-that-apply (CATA) questions for sensory product characterization by consumers: Investigations into the number of terms used in CATA questions. *Food Quality and Preference*. v. 42, p. 154-164, 2015.

JANUSZEWSKA, R.; GIRET, E.; CLEMENT, F.; LEUVEN, I. V.; GONÇALVES, C.; VLADISLAVLEVA, E.; PRADAL, P.; NABO, R.; LANDUYT, A.; D'HEER, G.; FROMMENWILER, S.; HAEFLIGER, H. Impact of vanilla origins on sensory characteristics of chocolate. *Food Research International*. 137, p. 109313, 2020.

JESUS, J. H. F. de; SZILÁGVI, I. M.; REGDON JR., G.; CAVALHEIRO, E. T. G. Thermal behavior of food preservative sorbic acid and its derivatives. *Food Chemistry*. v. 337, 127770, 2021.

JUNIOR, J. B. P.; FERNANDES, K. G.; MULLER, R. C. S.; NÓBREGA, J. A.; PALHETA, D. C. Determinação direta de Ca, Mg, Mn e Zn em amostras de leite de búfala da ilha de Marajó por espectroscopia de absorção atômica com chama (FAAS). *Revista Química Nova*, v. 32, n. 9, 2333-2335, 2009.

KALYANKAR, S. D.; KHEDKAR, C. D.; PATIL, A. M. Goat: Milk. *Encyclopedia of Food and Health*, 2016.

KAROUI, R.; DOWNEY, G.; BLECKER, C. Mid-infrared spectroscopy coupled with chemometrics: a tool for the analysis of intact food systems and the exploration of their molecular structure-quality relationships – a review. *Chemical Reviews*, v. 110, p. 6144-6168. 2010.

KESHANI, S.; DAUD, W. R. W.; NOUROUZI, M. M.; NAMVAR, F.; GHASEMI, M. Spray drying: An overview on wall deposition, process and modeling. *Journal of Food Engineering*. 146, 152-162, 2015.

KLANCNIK, G.; MEDVEDL, J. Differential thermal analysis (DTA) and differential scanning calorimetry (DSC) as a method of material investigation. *Materials and Geoenvironment*, 57, p. 127-42, 2010.

LAPCIKOVA, B.; LAPCIK, L.; SALEK, R.; VALENTA, T.; LORENCOVA, E.; VASINA, M. Physical characterization of the milk chocolate using whey powder. *LWT- Food Science and Technology*, v. 15, 112669, 2022.

LAWLESS, H. T.; HEYMANN, H. *Sensory Evaluation of Food – Principles and Practices*, 2<sup>a</sup> ed, Springer, p. 76, 2010.

- LLOBELL, F.; GIACALONE, D.; LABENNE, A.; QANNARI, E. M.; Assessment of the agreement and cluster analysis of the respondents in a CATA experiment. *Food Quality and Preference*. 77, p. 184-190, 2019.
- MARINHO, M. T.; BERSOT, L. dos S.; NOGUEIRA, A.; COLMAN, T. A. D.; SCHNITZLER, E. Antioxidant effect of dehydrated rosemary leaves in ripened semi-hard cheese: A study using coupled TG-DSC-FTIR (EGA). *LWT – Food Science and Technology*. 63, p. 1023-1028, 2015.
- MARQUES, E. C.; COSTA, S. R. R. da. Estudo da liofilização pela engenharia de produtos no processamento industrial de alimentos. *Acta Tecnológica*, 10, 44-52, 2015.
- MATIELLO, E. R.; BUENO, P. F.; BADIA, V.; POLMANN, G.; RIGO, E.; BAGATINI, L. Caracterização sensorial e físico-química do queijo tipo *petit suisse* elaborado a base de leite de ovelha com teor reduzido de lactose e diferentes concentrações de gordura e estabilizantes. *Revista do Congresso Sul brasileiro de Engenharia de Alimentos*. v. 2, n. 1, p. 1-10, 2016.
- MÉNARD, O.; AHMAD, S.; ROUSSEAU, F.; BRIARD-BION, V.; GAUCHERON, F.; LOPEZ, C. Buffalo vs. cow milk fat globules: Size distribution, zeta-potential, compositions in total fatty acids and in polar lipids from the milk fat globule membrane. *Food Chemistry*, 120, pág 544-551, 2010.
- MERLINDO, V. M.; MOTA-CUTIERREZ, J.; BORRA, D.; BRUN, F.; COCOLIN, L.; BLANC, S.; MASSAGLIA, S. Chocolate culture: Preferences, emotional implications and awareness of Italian consumers. *International Journal of Gastronomy and Food Science*, 25, p. 100374, 2021.
- MEYNERS, M.; CASTURA, J. C. The analysis of temporal check-all-that-apply (TCATA) data. *Food Quality and Preference*. v. 67, p. 67-76, 2018.
- MOATSOU, G.; SAKKAS, L. Sheep milk components: Focus on nutritional advantages and biofunctional potential. *Small Ruminant Research*. v. 180, p. 86-99, 2019.
- MOHAPATRA, A.; SHINDE, A. K.; SINGH, R. Sheep milk: A pertinent functional food. *Small Ruminant Research*, 181, 6-11, 2019.
- MOTAMAYOR, J. C.; LACHENAUD, P.; MOTA, J. W. da S. e; LOOR, R.; KUHN, D. N.; BROWN, J. S.; SCHNELL, R. J. Geographic and genetic population differentiation of the

Amazonian chocolate tree (*Theobroma cacao* L). *PloS ONE*, 3, 2008 e3311.

MUIR, R. *500 queijos, os melhores queijos do mundo em um único livro*. Marco Zero ed. China, 2012.

MUTALIB, M. A.; RHAMAN, M. A.; OTHMAN, M. H. D.; ISMAIL, A. F.; JAAFAR, J. Scanning electron microscopy (SEM) and Energy-dispersive X-ray (EDX) spectroscopy. *Membrane Characterization*. p. 161-179, 2017.

OLEGARIO, L. S.; MOHINO, A. G.; ESTÉVEZ, M.; MADRUGA, M. S.; VENTANAS, S. Impacts of 'free-from' and 'healthy choice' labeled versions of chocolate and coffee on temporal profile (multiple-intake TDS) and liking. *Food Research International*. v. 137, p. 109342, 2020.

OSTROWSKA-LIGEZA, E.; MARZEC, A.; GORSKA, A.; WIRKOWSKA-WOJDYLA, BRYN, J.; REJCH, A.; CZARKOWSKA, K. A comparative study of thermal and textural properties of milk, white and dark chocolates. *Thermochimica Acta*, v. 671, p. 60-69, 2018.

PAREDES, A. M.; Scanning Electron Microscopy. *National Center for Toxicological Research*, US Food and Drug Administration, v. 2, p. 1397-1406, 2014.

PARK, Y. W. Rheological characteristics of goat and sheep milk. *Small Ruminant Research*, v. 68, n.1, p. 73-87, 2007.

PAIVA, D. L., LAMPMAN, G. M., KRIZ, G. S., VYVYAN, J. R. *Introdução à Espectroscopia*. São Paulo. Cengage Learning, 2010. 716 p.

PAZ, L. I.; JANUSZEWSKA, R.; SCHOUTETEN, J. J.; IMPE, J. V. Challenges of pairing chocolates and nuts: Perceptions, interactions and dynamics of contrasting chocolates with nuts. *Food Research International*, 148, p. 110620, 2021.

PELSMAEKER, S. de.; CLERCQ, G. de; GELLYNCK, X.; SCHOUTETEN, J. J. Development of a sensory wheel and lexicon for chocolate. *Food Research International*. v. 116, p. 1183-1191, 2019.

PÉREZ, L. A. D.; BARRIENTOS, L. M. B.; CÓRDOVA, A. F. G.; MENDOZA, A. H.; CORDOBA, B. V. Artesanal cocoa bean fermentation: From cocoa bean proteins to bioactive peptides with potential health benefits. *Journal of Functional Foods*. 73, pag. 104134, 2020.

PINTO, F. A. *Método da espectroscopia no infravermelho para análise de soros de queijos de*

*minas padrão e prato*. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, v. 63, p. 1039-1042, 2011.

PIROUZIAN, H. R.; KONAR, N.; PALABIYIK, I.; OBA, S.; TOKER, O. S. Pre-crystallization process in chocolate: Mechanism, importance and novel aspects. *Food Chemistry*. v. 321, p. 126718, 2020.

QUAST, L. B.; LUCCAS, V.; DEMIATE, I. M.; SANTOS, R. D.; QUAST, E.; KIECKBUSCH, T. G. Avaliação de propriedades térmicas de manteiga de cacau e gorduras alternativas. *Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial*, v. 5, p. 387 – 397, 2011.

RAMACHANDRAN, V. S., PAROLLI, R. M., BEAUDOIN J. J., DELGADO, A. H. *Handbook of thermal analysis of construction materials*. Noyes Publications, New York, 2002.

RISCOOB, B. SHAKIR, M., SUNDAR, J. K., NATARAJAN, S., WAHAB, M. A., BHAGAVANNARAYANA, G., Synthesis, growth, crystal structure and characterization of a new organic material: glycine glutaric acid. *Spectrochimica Acta. Part A, Molecular and biomolecular spectroscopy*. 78, 543-8, 2011.

RIZZO, P. V.; HARWOOD, W. S.; DRAKE, M. A. Consumer desires and perceptions of lactose-free milk. *Journal of Dairy Science*. 103, pág 6950, 2020.

ROCHA, C.; RIBEIRO, J. C.; LIMA, R. C.; PRISTA, C.; RAYMUNDO, A.; PATTO, M. C. V.; CUNHA, L. M. Application of the CATA methodology with children: Qualitative approach on ballot development and product characterization of innovative products. *Food Quality and Preference*. 88, pag. 104083, 2021.

RODRIGUES, J. F.; SOUZA, V. R. de; LIMA, R. R.; CARNEIRO, J. de D. S.; NUNES, C. A.; PINHEIRO, A. C. M. Temporal dominance of sensations (TDS) panel behavior: A preliminary study with chocolate. *Food Quality and Preference*. v. 54, p. 51-57, 2016.

RONCADA, P.; PIRAS, C.; SOGGIU, A.; TURK, R.; URBANI, A.; BONIZZU, L. Farm animal milk proteomics. *Journal of Proteomics*, v. 75, p. 4259-4274, 2012.

ROSATI, A.; VAN VLECK, L. D. Estimation of genetic parameters for milk, fat, protein and mozzarella cheese production in the Italian river buffalo population. *Livestock Production Science*. V. 74, n. 2, p. 185-190, 2002.

- SACHETTI, G.; IOANNONE, F.; GRODORIO, M. de; MATTIA, C di; SERAFINI, M.; MASTROCOLA, D. Non enzymatic Browning during cocoa roasting as affected by processing time and temperature. *Journal of Food Engineering*. 169, p. 44-51, 2016.
- SANTO, E. F. do E.; LIMA, L. K. F. de; TORRES, A. P. C.; OLIVEIRA, G. de; PONSANO, E. H. G. Comparison between freeze and spray drying to obtain powder *Rubrivivax gelatinosus* biomass. *Food Science and Technology*. v. 33, p. 47-51, 2013.
- SANTOS, B. F.; SANTOS, F. F. J.; MELO, H. L.; LOPES, U. V.; GRAMACHO, K. P.; PIRES, J. L.; AHNERT, D. Variabilidade genética do cacaureiro com base no polimorfismo de homólogos de genes de resistência. *Agrotrópica*, v. 30, p. 93-100, 2018.
- SCHIMIDT, F. L.; BIASI, L. C. K.; EFRAIM, P.; FERREIRA, R. E. *Pré-processamento de frutas, hortaliças, café, cacau e cana-de-açúcar*. Elsevier, Rio de Janeiro, p. 121, 2016.
- SCHILICH, P. Temporal Dominance of Sensations (TDS): a new deal for temporal sensory analysis. *Current Opinion in Food Science*. v. 15, p. 38-42, 2017.
- SCHUCK, P. *Handbook of Food Powders*, Woodhead Publishing, 437-464, 2013.
- SGARBIERI, V. C. *Inovação nos processos de obtenção purificação e aplicação de componentes do leite bovino*. Atheneu, São Paulo, 2012.
- SILVA, T. L. T. da; GRIMALDI, R.; GONÇALVES, L. A. G.. Temperature, time and fat composition effect on fat bloom formation in dark chocolate. *Food Structure* v. 14, p. 68–75 , 2017.
- SILVA, G. de J.; GONÇALVES, B. R. F.; JESUS, J. C. de; VIDIGAL, M. C. T. R.; MINIM, L. A.; FERREIRA, S. O.; BONOMO, R. C. F.; FERRÃO, S. P. B. Study of the structural properties of goat's milk chocolates with different concentrations of cocoa mass. *Journal of Textura Studies*. 50, 1-9, 2019.
- SKOOG, D. A., HOLLER, F. J., NIEMAN, T. A. *Princípios de análises instrumental*. Madri: McGraw Hill, 2007, 1028 p.
- SOARES, L. V. *Curso básico de instrumentação para analistas de alimentos e fármacos*. Barueri: Manole, p. 337, 2006.



TADINI, C. C.; NIVOLETTI, V. R.; MEIRELLES, A. J. de A.; PESSOA FILHO, P. de A. *Operações Unitárias na Indústria de Alimentos*. 1ª edição, Ed. Gen/LTC, 1º, 2016.

TORRICO, D. D.; SHARMA, C.; DONG, W. FUENTES, S.; VIEJO, C. G.; DUNSHEA, F. R. Virtual reality environments on the sensory acceptability and emotional responses of no and full-sugar chocolate. *Food Science and Technology*, 137, p. 110383, 2021.

VERONESE, N.; DEMURTAS, J.; CELOTTO, S.; CARUSO, M. G.; MAGGI, S.; BOLZETTA, F.; FIRTH, J.; SMITH, L.; SCHOFIELD, P.; KOYANAGI, A.; YANG, L.; SOLMI, M.; STUBBS, B. Is chocolate consumption associated with health outcomes. An umbrella review of systematic reviews and meta-analyses. *Clinical Nutrition*. n. 6, p. 1-8, 2018.

WALTER, Peggy; CORNILLON, Paul. Lipid migration in two-phase chocolate systems investigated by NMR and DSC. *Food Research International* v. 35, n. 8, p. 761–767 , 2002.

WORCH, T.; FISZMAN, B. P.; Contributions to assess the reproducibility and the agreement of respondents in CATA tasks. *Food Quality and Preference*. v. 40, p. 137-146, 2015.

XIA, Y.; SONG, J.; LEE, P.; SHEN, H.; HOU, J.; YANG, J.; GAO, B.; ZHONG, F. Impact of consumption frequency on generations of sensory product profiles using CATA questions: Case studies with two drink categories. *Food Research International*. 137, pag. 109378, 2020.

ZHAO, Huanhuan; LI, Bing; JAMES, Bryony J. Structure-fracture relationships in chocolate systems. *LWT - Food Science and Technology* v. 96, n. May, p. 281–287 , 2018.

ZOUARI, A.; SCHUCK, P.; GAUCHERON, F.; TRIKI, M.; DELAPLACE, G.; GAUZELIN-GAIANI, C.; LOPEZ, C.; ATTIA, H.; AYADI, M. A. Microstructure and chemical composition of camel and cow milk powders' surface. *LWT - Food Science and Technology*. v. 117, p. 108693, 2020.

# Capítulo II

## **Objetivos**

## II - OBJETIVOS

### 2. Objetivo geral

Avaliar o efeito da adição de leite de diferentes espécies nas propriedades físicas, químicas, tecnológicas e sensoriais de chocolates ao leite.

#### 2.1 Objetivos específicos

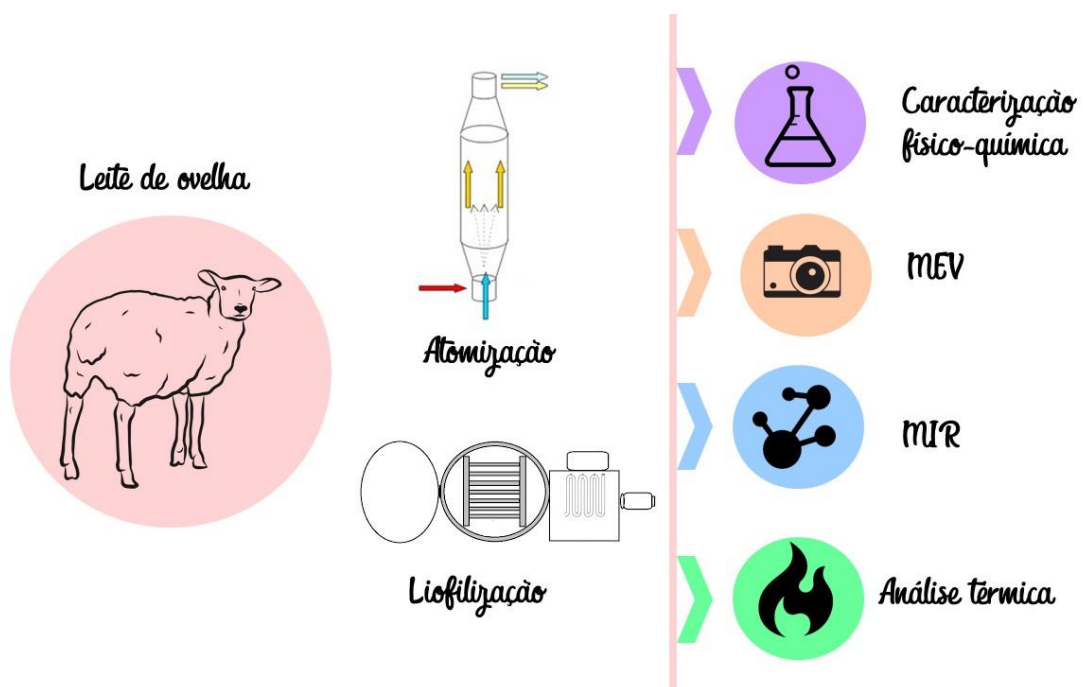
- Produzir leite em pó de ovelha integral e parcialmente desnatado por meio dos métodos de atomização e liofilização;
- Produzir pelo método de atomização o leite em pó de búfala integral;
- Avaliar as diferenças morfológicas, espectroscópicas e térmicas do leite em pó de ovelha produzido,
- Avaliar a composição dos leites em pó das diferentes espécies;
- Desenvolver formulações de chocolate ao leite de vaca, búfala, cabra e ovelha;
- Realizar análises físico-químicas, índice de brancura por meio de análise de cor e textura instrumental das diferentes espécies de chocolates;
- Quantificar o teor de metilxantinas e catequinas dos chocolates;
- Avaliar as propriedades de cristalização do chocolate por meio da análise de difração de raios -X (DRX),
- Avaliar o perfil sensorial dos chocolates por meio da análise de aceitação, intenção de compra, *Check-all-that-apply* (CATA) e *Temporal Dominance of Sensations* (TDS),
- Avaliar a viabilidade de produção dos chocolates obtidos.

# Capítulo III

## Influence of fat content and dehydration methods on physicochemical and spectroscopic characteristics of powdered sheep milk

Artigo submetido ao periódico *Journal of Food Science and Technology*, em 25 de janeiro de 2022

### Resumo gráfico



## **Influência do teor de gordura e métodos de desidratação nas características físico-químicas e espectroscópicas do leite em pó de ovelha**

Daniele Gomes Conceição <sup>a</sup>, Lucas Caiafa Cardoso Reis <sup>b</sup>, Ingrid Alves dos Santos <sup>a</sup>,  
Ermando da Silva Virgens <sup>b</sup>, Luciana Carolina Bauer <sup>a</sup>, Josane Cardim de Jesus <sup>a</sup>, Leandro  
Soares Santos <sup>a</sup>, Renata Cristina Ferreira Bonomo <sup>a</sup>, Sibelli Passini Barbosa Ferrão <sup>a 3</sup>

<sup>a</sup> Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos, Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (UESB), Rodovia BR 415, Km 03, s/n 45700-000 Itapetinga - BA, Brasil

<sup>b</sup> Laboratório de Processamento de Leite e Derivados, Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (UESB), Rodovia BR 415, Km 03, s/n 45700-000 Itapetinga - BA, Brasil

### **Resumo**

Objetivou-se avaliar as propriedades físico-químicas, microestruturais e térmicas do leite em pó de ovelha integral e parcialmente desnatado submetidos ao método de atomização e liofilização. As amostras foram caracterizadas por análise de composição química, espectroscopia de infravermelho médio (MIR), microscopia eletrônica de varredura (MEV) e por análise térmica TG/DTA. Os espectros obtidos por MIR indicaram semelhante modo de vibração associados a cada pico, entretanto com diferença na intensidade de absorção. De acordo com as imagens do MEV, os leites em pó obtidos pelo método de atomização apresentaram partículas de forma esférica e enrugada, enquanto que pelo método de liofilização as partículas apresentaram estrutura contínua. O termograma da análise térmica apresentou para os leites atomizados um pico endotérmico e quatro picos exotérmicos, enquanto que para os leites liofilizados um pico endotérmico e três picos exotérmicos. Os leites de ovelha em pó atomizado e liofilizado apresentaram parâmetros físico-químicos, espectroscópicos e térmicos

---

<sup>3</sup> E-mail: sibpass@yahoo.com.br

característicos de leite em pó integral e parcialmente desnatado. Com relação às características estruturais e morfológicas o leite em pó atomizado apresentou semelhança com o leite em pó comercial, mostrando-se o mais indicado para consumo, venda e desenvolvimento em grande escala, inclusive devido ao menor custo de produção.

**Palavras-chave:** derivado lácteo; secagem; calorimetria

## **1 Introdução**

A produção mundial de leite de ovelha em 2018 foi de aproximadamente 10,4 milhões de toneladas, sendo os principais produtores a Turquia, China e Grécia (FAO 2019; FAOSTAT 2018; Nudda et al. 2020; Smiddy et al. 2012). O leite de ovelha possui alto valor nutricional quando comparado com os animais de outras espécies (Balthazar et al. 2018). A gordura é o componente que mais pode variar, dependendo da dieta dos animais, raça e estágio de lactação, com teores mais altos de ácidos graxos insaturados, ácidos graxos de cadeia média e ácido linolênico quando comparado ao leite de vaca (Vianna et al. 2017; Smiddy et al. 2012). As micelas de caseína do leite de ovelha possuem maior mineralização e menor hidratação contribuindo para maior estabilidade térmica da caseína com relação ao leite de vaca. Além do leite desta espécie possuir menor quantidade de fração alfa-s1 caseína que contribui para o menor poder alergênico deste leite (Roy et al., 2020).

Devido ao alto valor nutricional a fabricação de derivados lácteos com leite de pequenos ruminantes vem ganhando destaque em todo o mundo, com produção principalmente de queijos como o pecorino, caciocavallo e feta, e produção de iogurte (Balthazar et al. 2017; FAO 2019). A ovelha possui um período de lactação médio de 150 dias, com produção de leite concentrada entre os meses de março a setembro (Cruz et al., 2016). Mesmo com técnicas de manejo este leite possui certa sazonalidade, problema este que pode ser resolvido com a obtenção do leite de ovelha em pó.

O leite em pó é obtido a partir da desidratação do leite, podendo apresentar-se sob a forma de pó ou grânulos. O comércio de leite em pó foi de 2,7 milhões de toneladas em 2020, um aumento das exportações de 1,9% quando comparado ao ano de 2018, resultado do aumento das exportações nas regiões do Oriente Médio e norte da África (FAO 2021).

O método tradicional para a obtenção do leite em pó é a secagem por atomização que transforma um produto líquido em partículas secas. As gotículas geradas pela pulverização são suspensas em um meio quente, que extrai a água de cada gota em um tempo muito curto (3 a 12 segundos) e em temperaturas relativamente baixas (o leite não ultrapassa 80°C) com a formação então do produto em pó (Jubaer et al. 2019; Ramos, Ubbink et al. 2019). O produto final tem estrutura fina sem os efeitos adversos das altas temperaturas, o processo é automatizado com controle total dos parâmetros de desidratação (Cruz et al. 2017).

A liofilização é o processo no qual a água do produto é sublimada em condições de pressão e temperatura reduzidas. Apesar da desnaturação ser menos acentuada com o processo de liofilização e o leite em pó obtido ser caracterizado por sua boa retenção de sabor e aroma, a solubilidade do pó não é muito boa em razão dos grupos hidrofóbicos estarem mais expostos na superfície do pó que dificulta a penetração da água na partícula de leite em pó (Pellicer et al. 2019).

A utilização de métodos instrumentais é importante para avaliar a qualidade de produtos submetidos ao processo de secagem por liofilização ou atomização, tais como microscopia eletrônica de varredura (MEV), calorimetria exploratória diferencial (DSC) e a espectroscopia por infravermelho médio (MIR). Por meio do MEV é possível visualizar a estrutura do pó e identificar o aspecto ou alterações da partícula em decorrência do método de secagem. Pelo DSC é possível medir a propriedades térmicas de um produto, como a temperatura de transição vítrea e o calor envolvido nas transições térmicas, podendo assim determinar, por exemplo, a temperatura que o produto pode ficar exposto sem alteração das suas propriedades (Balthazar

et al. 2017). O uso de MIR tem se mostrado como uma técnica mais rápida e de precisão, capaz de prever os principais componentes do alimento e fornecer informações sobre qualidade e adulteração do produto (Ferragina et al. 2017; Karoui et al. 2011).

Assim, objetivou-se com o presente trabalho avaliar o efeito do tipo de secagem (por atomização e liofilização) e o teor de gordura do leite de ovelha sobre os parâmetros físico-químicos, microestruturais, espectroscópicos e térmicos do leite em pó obtido.

## **2 Material e métodos**

### **2.1 Obtenção da matéria-prima e secagem do leite**

O leite de ovelha obtido foi ordenhado manualmente sob condições higiênicas satisfatórias de ovelhas sem raça definida, com período de lactação entre 30 e 50 dias, criadas soltas em área mista de pastagem nativa de cerrado e Capim Buffel Aridus (*Cenchrus ciliaries*). Foram ordenhadas cinco ovelhas durante 5 dias consecutivos para obter cerca de 15 litros de leite que foram congelados (-20°C). Antes da secagem o leite foi descongelado sob refrigeração (5°C) e submetido à pasteurização lenta (63 – 65°C/30 minutos). Cerca de 7,5 litros de leite com teor de gordura 6,64 %, foram submetidos ao desnate parcial até teor de gordura de 3%, realizando na amostra acondicionada em temperatura de refrigeração (5°C) por 12 horas e retirada manualmente a nata, com verificação do teor de gordura por meio da análise de Gerber (BRASIL 2014). Foram analisados os teores de gordura, proteína, lactose, sólidos totais e densidade do leite integral e semidesnatado em equipamento DairySpec FT, *Fourier Transform Spectrometer* – FTIR (Bentley Instrumente, Inc., Estados Unidos) (Gonçalves et al. 2020).

A secagem das amostras de leite de ovelha integral e semidesnatado foi realizada por dois métodos: i) atomização em mini spray drier modelo MSD 3.0 (LABMAQ Brasil, LTDA) em ciclo paralelo, com temperatura de ar de entrada do secador de 140°C e de saída de 80°C, bico



injetor de 1 mm, vazão do ar de 40 L.min<sup>-1</sup>, vazão do ar de secagem de 2,8 m<sup>3</sup>.min<sup>-1</sup> e vazão da bomba de 1,04 L.h<sup>-1</sup>, de acordo com (Borges et al. 2017); ii) liofilização por 48 horas em liofilizador (TERRONE FAUVEL modelo L2000, Brasil), das amostras previamente congeladas a -80°C em ultra freezer (ColdLab modelo CL 91-80, Brasil) por 48 horas.

As amostras de leite em pó integral e parcialmente desnatado obtidas foram embaladas em seladora à vácuo modelo BS320 (R.BAIÃO Brasil, LTDA) em embalagens de película laminadas (Incoplast, Grupo Copobras, Brasil) e estocadas a temperatura ambiente ( $\pm 25^{\circ}\text{C}$ ) até o momento das análises.

## **2.2 Análises do leite em pó**

### **2.2.1. Características físico-químicas**

As análises físico-químicas foram realizadas em triplicata para os teores de umidade (IOCC 927.05), proteína (IOCC 930.29) com fator de correção de 6,38, cinzas (IOCC 930.30), gordura (IOCC 932.06) e acidez (IOCC 945.49) (AOAC, 2016). A atividade de água foi determinada em analisador de atividade de água de bancada, modelo Aqualab 4TE, marca Decagon Devices (Brasil), com temperatura a 25°C. O teor de lactose foi estimado pela fórmula (BRASIL, 2003):

$$\text{Teor de lactose (\%)} = 100 - (\% \text{ proteína} + \% \text{ gordura} + \% \text{ cinzas} + \% \text{ umidade})$$

### **2.2.2. Espectroscopia no Infravermelho Médio (MIR)**

Os espectros foram obtidos em equipamento de infravermelho médio, FTIR-ATR (Cary 630 FTIR, Agilent Technologies Inc., Santa Clara, CA, USA), equipado com célula de reflectância total atenuada (ATR). Antes de cada coleta foi realizada uma leitura do espectro de fundo (background). Em seguida 0,5g das amostras foi colocada individualmente sobre o compartimento do equipamento onde incidem os raios na faixa do infravermelho (cristal de diamante), sendo obtidos os espectros no modo de absorbância. Durante a análise, a temperatura no ambiente foi mantida em torno de 18°C. Todas as análises foram avaliadas na região

espectral com número de onda de  $4000\text{cm}^{-1}$  a  $600\text{cm}^{-1}$ . Três medidas foram adquiridas para cada amostra (triplicata) e a média destes espectros foi usada para a obtenção do gráfico (Gonçalves et al. 2020).

### **2.2.3 Microscopia Eletrônica de Varredura - MEV**

Microscopia eletrônica de varredura foi utilizada para investigação da microestrutura do leite em pó. As amostras de leites foram colocados em fita dupla-fase de carbono (Ted Pella, INC. 12 mm OD) que foram fixadas em suporte metálico (stubs) e analisados no equipamento modelo Phenom Pure (Phenom World, Países Baixos). Imagens microscópicas foram realizadas com ampliação de 900 vezes.

### **2.2.4. Análise Térmica**

As análises térmicas (DTA, TG e DSC) das amostras foram realizadas em equipamento STA PT-1000 (Linseis, Alemanha). Aproximadamente 20mg de cada amostra foi colocada em cadinho de porcelana aberto sob atmosfera de ar. As amostras de leites em pó e a referência (cadinho de porcelana sem a amostra) foram aquecidas a temperatura de aproximadamente  $20^{\circ}\text{C}$  até  $700^{\circ}\text{C}$  a uma taxa de aquecimento de  $2^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ . A partir dos termogramas adquiridos foram determinadas a perda de massa, temperaturas características dos eventos térmicos e as entalpias de cada amostra.

## **2.3. Delineamento experimental**

O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado (DIC), com três repetições (cada secagem do leite integral e parcialmente desnatado foi considerada uma repetição) e as análises realizadas em triplicata. Os dados instrumentais do leite em pó foram analisados por meio de análise unidirecional de variância (ANOVA). Nos experimentos com leite em pó foi utilizado esquema fatorial  $2 \times 2$  (gordura x secagem), e foi utilizado nível de

significância de 5,0%. A análise estatística foi realizada utilizando o programa estatístico *Statistical Analysis System (SAS)® Studenty* (Wicklin 2010).

### **3 Resultados e discussão**

#### **3.1 Características físico-químicas do leite fluido e do leite em pó de ovelha**

A média das características físico-químicas do leite fluido de ovelha integral e semi desnatado foram 6,64% e 3,09% de gordura; 1,0395 g.mL<sup>-1</sup> e 1,0401 g.mL<sup>-1</sup> de densidade; 11,42% e 10,03% de extrato seco desengordurado; 4,18% e 3,97% de proteína; 6,27% e 6,16% de lactose, respectivamente.

Com o desnate, a densidade tende a aumentar. A gordura é o componente mais variável no leite, para o leite de ovelha este valor pode variar de 4,93% a 7,04% (Junior et al. 2015). A gordura tem influência direta na densidade, pois de todos os compostos sólidos do leite, a gordura é a única que apresenta densidade inferior (0,927 g.mL<sup>-1</sup>) à densidade da água a 15°C (0,9991 g.mL<sup>-1</sup>). A proteína do leite de ovelha é considerada de alto valor biológico por possuir aminoácidos essenciais que são importantes para a alimentação humana e alimentação do cordeiro. Com teor variando de 4,5% a 7,0% (Claeys et al. 2014), este leite também possui uma quantidade maior de proteínas solúveis que facilita em cerca de duas vezes a digestão do leite ovino quando comparado com leite de vaca (Mohapatra et al. 2019). Considerando a importância da composição no rendimento do leite em pó, os valores médios dos parâmetros físico-químicos do leite em pó obtidos pelos métodos de atomização e liofilização do leite integral e parcialmente desnatado são mostrados na Tabela 1.

Tabela 1. Média das características físico-químicas de leite em pó de ovelha integral e parcialmente desnatado obtidos por atomização e liofilização

Parâmetros	Leite atomizado		Leite liofilizado	
	Integral	Parcialmente desnatado	Integral	Parcialmente desnatado
Gordura (%)	34,27 ± 0,134 <sup>aA</sup>	23,23 ± 0,807 <sup>bB</sup>	30,77 ± 0,219 <sup>cC</sup>	21,10 ± 0,353 <sup>dD</sup>
Proteína (%)	32,72 ± 0,275 <sup>aA</sup>	36,78 ± 0,427 <sup>aA</sup>	31,72 ± 0,120 <sup>aA</sup>	36,66 ± 0,332 <sup>aA</sup>
Lactose (%)	23,17 ± 0,294 <sup>dD</sup>	28,80 ± 0,245 <sup>aB</sup>	28,13 ± 0,353 <sup>cC</sup>	32,12 ± 0,276 <sup>aA</sup>
Umidade (%)	4,00 ± 0,435 <sup>aB</sup>	4,51 ± 0,588 <sup>aA</sup>	3,39 ± 0,523 <sup>aD</sup>	3,47 ± 0,332 <sup>aC</sup>
Cinzas (%)	5,66 ± 0,015 <sup>cD</sup>	6,67 ± 0,030 <sup>aA</sup>	6,01 ± 0,049 <sup>bC</sup>	6,64 ± 0,021 <sup>bB</sup>
Acidez (%)*	0,90 ± 0,033 <sup>cC</sup>	1,29 ± 0,016 <sup>bB</sup>	0,86 ± 0,141 <sup>cD</sup>	1,62 ± 0,176 <sup>aA</sup>
aw	0,38 ± 0,018 <sup>aA</sup>	0,36 ± 0,012 <sup>bB</sup>	0,13 ± 0,003 <sup>cC</sup>	0,11 ± 0,004 <sup>dD</sup>

\* percentual de ácido láctico (m/m); aw – atividade de água. <sup>a,b,c,d,A,B,C,D</sup> Médias seguidas de mesma letra minúscula não diferem entre si (P>0,05) no teor de gordura e médias seguidas de mesma letra maiúscula não diferem entre si (P>0,05) pelo método de secagem pelo teste F.

Houve diferença significativa do método de secagem e teor de gordura para os parâmetros de gordura, cinzas, lactose, acidez e atividade de água; com diferença significativa para o teor de gordura apenas para o parâmetro umidade (Tabela 1). Com base no teor de gordura, o leite em pó pode ser classificado como integral (teor de gordura maior ou igual a 26%); parcialmente desnatado (teor de gordura entre 1,5 a 25,9%); ou desnatado (teor de gordura menor do que 1,5%) (FAO 2011). De acordo com essa classificação os leites em pó obtidos foram classificados como leite em pó integral e leite em pó parcialmente desnatado (Tabela 1), mostrando que o desnate realizado foi eficiente para redução do teor de gordura, característica desejada por alguns consumidores.

A desidratação é um método de conservação utilizado no processamento do leite em pó, com característica de redução da umidade e da atividade de água do produto, tornando-o assim microbiologicamente mais estável (Ferrão et al. 2017). Os resultados demonstraram que houve um menor teor de umidade e de atividade de água para o leite em pó liofilizado pode estar relacionado ao fato deste processo de secagem eliminar a água livre do alimento (etapa primária da secagem) e certa quantidade de água ligada (etapa secundária da secagem), enquanto que o processo por atomização elimina apenas a água livre (Tadini et al., 2016). De acordo com Schuck et al., (2005) o leite desnatado submetido à atomização possui a temperatura de transição vítrea de 92°C, porém se o leite desnatado entra em contato com o ar quente (140°C) e úmido existe maior dificuldade de evaporar a água, ficando o leite com teor de umidade maior do que 4,4%, o que explica o maior teor de umidade para este leite em pó (Tabela 1).

Leite em pó com atividade de água menor que 0,2 é considerado com baixo teor de umidade, como observado para as amostras obtidas por liofilização, tendo a caseína como principal responsável pela absorção de água, enquanto que atividade de água entre 0,2 e 0,6 (leite em pó atomizado) tem a mudança do estado da lactose de metaestável para estável como o principal componente de absorção de água (Schuck e France 2009). O leite em pó de ovelha parcialmente desnatado liofilizado apresentou maior teor de lactose, quando comparado com as demais amostras.

Não há legislação vigente para o teor de umidade para leite em pó de ovelha, mas segundo Brasil (2018), o teor de umidade para o leite em pó deve ser no máximo de 5%, estando assim todas as amostras estudadas dentro deste limite. (Tabela 1). A acidez do leite está relacionada ao teor de proteína, visto que as caseínas titulam de modo semelhante aos radicais acídicos (Cruz et al., 2016).

### **3.2. Propriedades morfológicas e estruturais**

A MEV foi utilizada para obter dados sobre os efeitos do método de secagem na microestrutura do leite em pó (Fig. 1), a microestrutura pode ser definida como a maneira pela qual seus componentes químicos são distribuídos e conectados (Er et al. 2019; Schuck e France 2009).

As partículas de leite em pó desidratado por atomização apresentaram-se esféricas e enrugadas. Na temperatura de secagem, em torno de 145°C, a partícula permanece úmida por mais tempo devido à lenta evaporação da água e com a diferença de temperatura entre o ar de entrada e o ar de saída na superfície da partícula do leite em pó é formada uma crosta, o que explica o formato esférico das partículas. A aparência enrugada das partículas de leite em pó (Fig. 1 a-b), pode ser atribuída à interação que ocorre entre as proteínas do leite e a lactose e o encolhimento da caseína durante a secagem (Borges et al. 2017; Both et al. 2018; Mistry et al. 1992; Schuck e France 2009).

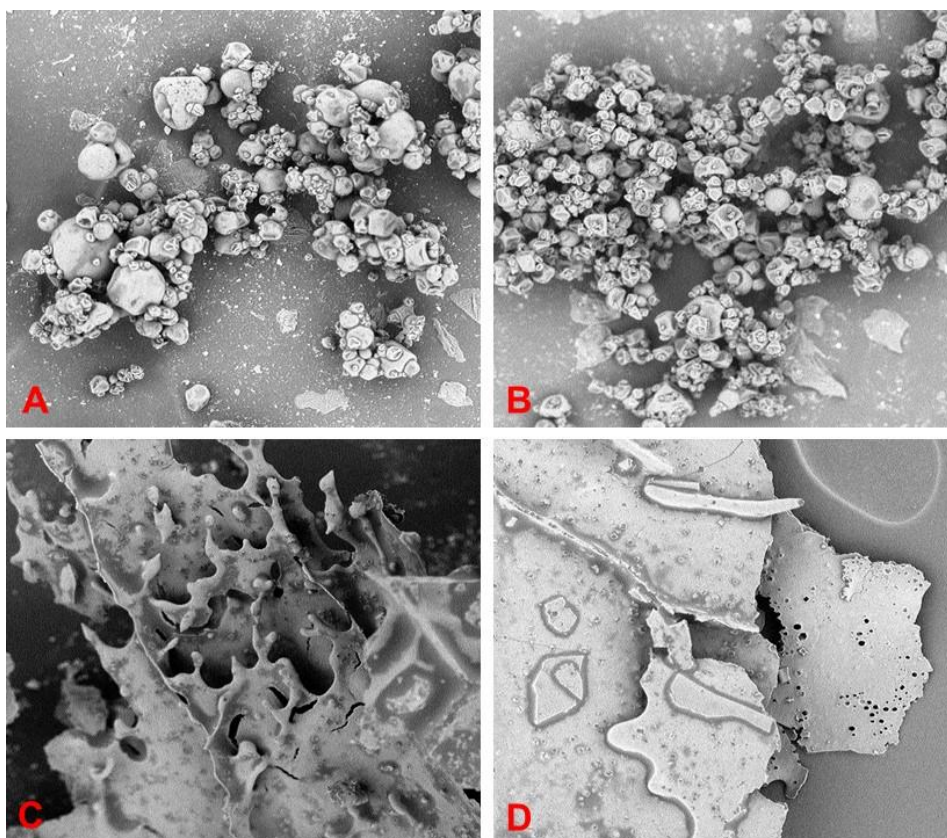


Figura 1. Micrografia eletrônica de varredura (940 x) de leite de ovelha: A) integral atomizado; (B) parcialmente desnatado atomizado; (C) integral liofilizado; (D) parcialmente desnatado liofilizado

Um leite em pó de boa qualidade deve apresentar partículas grandes, irregulares e de alta porosidade, favorecendo a molhabilidade e a dispersão, característico do processo de atomização. A aglomeração do leite em pó pode estar relacionada com a migração da gordura, proteína e minerais para a superfície do pó devido à mudança do estado da lactose de amorfo para cristalino. A maior aglomeração ocorreu no leite em pó parcialmente desnatado, com maior número de partículas de menor diâmetro, o que pode ser explicado pela temperatura de transição vítrea do leite (Borges et al. 2017). A presença de gordura na superfície do pó além de causar aglomeração, que influencia na propriedade de solubilidade do pó, pode provocar oxidação e o desenvolvimento de ranço no leite em pó (Cruz et al. 2017).

Diferente do leite em pó atomizado que formou esferas, o leite em pó liofilizado apresentou-se como uma estrutura contínua. A porosidade (evidenciada na Figura D) do pó facilita a solubilização, e esta alta porosidade pode estar relacionada ao processo de congelamento que o leite é submetido antes do processo de secagem. Durante o congelamento, em temperatura muito baixa ( $-80^{\circ}\text{C}$ ) a água é congelada dentro da célula e pequenos cristais são formados nesse local, e posteriormente quando o produto é desidratado, ocorre a formação de grande quantidade de poros microscópicos que é resultado da sublimação desses pequenos cristais que contribuem para o maior fluxo de massa durante a reconstituição (Fig. 1. c-d) (Çopur et al. 2019; Walstra et al. 2001).

### **3.3 Características dos espectros obtidos no MIR**

Os leites em pó de ovelha integral e parcialmente desnatado obtidos por atomização e liofilização foram analisados por espectroscopia MIR, os espectros obtidos (Fig. 2) evidenciaram 10 bandas principais de absorção que estão associadas a grupos funcionais que variaram de intensidade de acordo com o método de secagem e teor de gordura das amostras.

Os espectros se caracterizaram por apresentar bandas de absorção nas regiões de 2747, 2451, 2393, 1740, 1629, 1537, 1450, 1235, 1152 e  $1017\text{ cm}^{-1}$ . Não houve alteração na intensidade das

bandas associada a gordura do grupo funcional CH<sub>2</sub> (estiramento simétrico) na região 2451 cm<sup>-1</sup> e 2393 cm<sup>-1</sup> e do grupo funcional C=O (estiramento simétrico) na região 1740 cm<sup>-1</sup> independente do teor de gordura e do tratamento aplicado as amostras. Na análise físico-química (Tabela 1) houve diferença quantitativa no teor de gordura das amostras, entretanto pelo MIR não houve alteração na intensidade dessas bandas associado ao grupo funcional da gordura, isto pode ter acontecido devido o equipamento identificar as bandas que são associadas ao grupo funcional do composto.

Houve alteração das bandas na região 2747cm<sup>-1</sup>, correspondente a grupos funcionais CH<sub>2</sub> (estiramento simétrico) e na região 1450 cm<sup>-1</sup>, correspondente ao grupo CH (deformação angular) associados a gordura (sinalizadas em vermelho); -C=O (estiramento) na região 1629 cm<sup>-1</sup> da amida I, -N-H (deformação angular no plano) na região 1537 cm<sup>-1</sup>; -C-N (alongamento simétrico) na região 1235 cm<sup>-1</sup> da amida II (sinalizadas em azul); das bandas associadas a lactose (sinalizadas em verde) dos grupos funcionais -C-C (estiramento) na região 1152 cm<sup>-1</sup> e C-O-C (estiramento) na região 1017 cm<sup>-1</sup> para as amostras com diferenças no teor de gordura e métodos de secagem (Ho et al. 2019; Markoska et al. 2019; Nicolaou et al. 2010; Pappas et al. 2008).



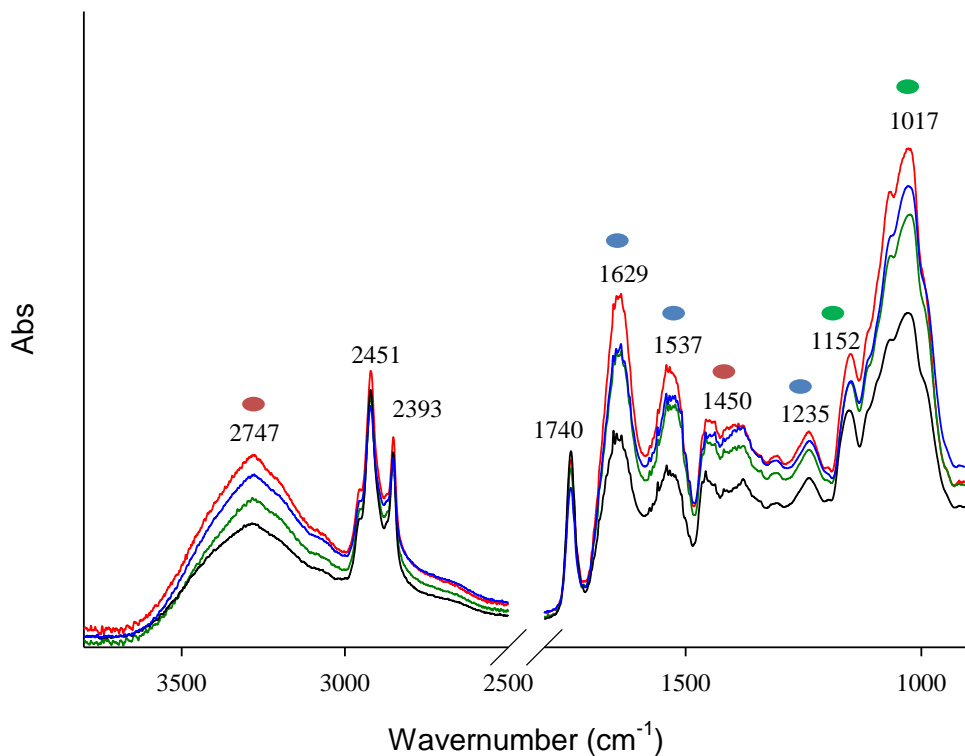


Figura 2. Espectro do leite em pó de ovelha (Vermelho: integral atomizado; Verde: parcialmente desnatado atomizado; Azul: integral liofilizado; Preto: parcialmente desnatado liofilizado)

Observou-se perfil similar entre os leites em pó estudados, com diferença na intensidade de absorção das bandas, relacionadas a grupos funcionais associados aos constituintes do leite (proteína, gordura e lactose) (Gonçalves et al. 2020). As amostras de leite em pó de ovelha integral (atomizada e liofilizada) apresentaram maiores absorbâncias ao longo da região do número de onda (Fig. 2), quando comparadas com as amostras parcialmente desnatadas (atomizada e liofilizada) o que pode estar relacionado ao maior teor de constituintes no leite integral do que no leite parcialmente desnatado, influenciando assim nas absorbâncias no espectro.

### 3.4 Análise Térmica

Na Figura 3 estão apresentados os termogramas para as 4 amostras de leite em pó de ovelha estudadas, os resultados da análise térmica estão apresentados na Tabela 3. A análise de TG é importante pois determina as mudanças que podem ocorrer na matriz do alimento com relação

a perda e ganho de massa, resultante de desidratação ou oxidação da amostra (Er et al. 2019). Enquanto que nas análises de DTA e DSC é possível observar eventos térmicos que podem estar ligados a processos como a transição vítrea, reações de oxidação, polimerização e reações catalíticas. Para eventos de primeira ordem um pico voltado para baixo, geralmente, representa uma característica endotérmica, que acontece quando ocorre a absorção de calor, e picos voltados para cima representam uma característica exotérmica, ou seja, quando ocorre a liberação de energia na forma de calor causando o aumento da temperatura e decomposição térmica do material (Farrah et al. 2018).

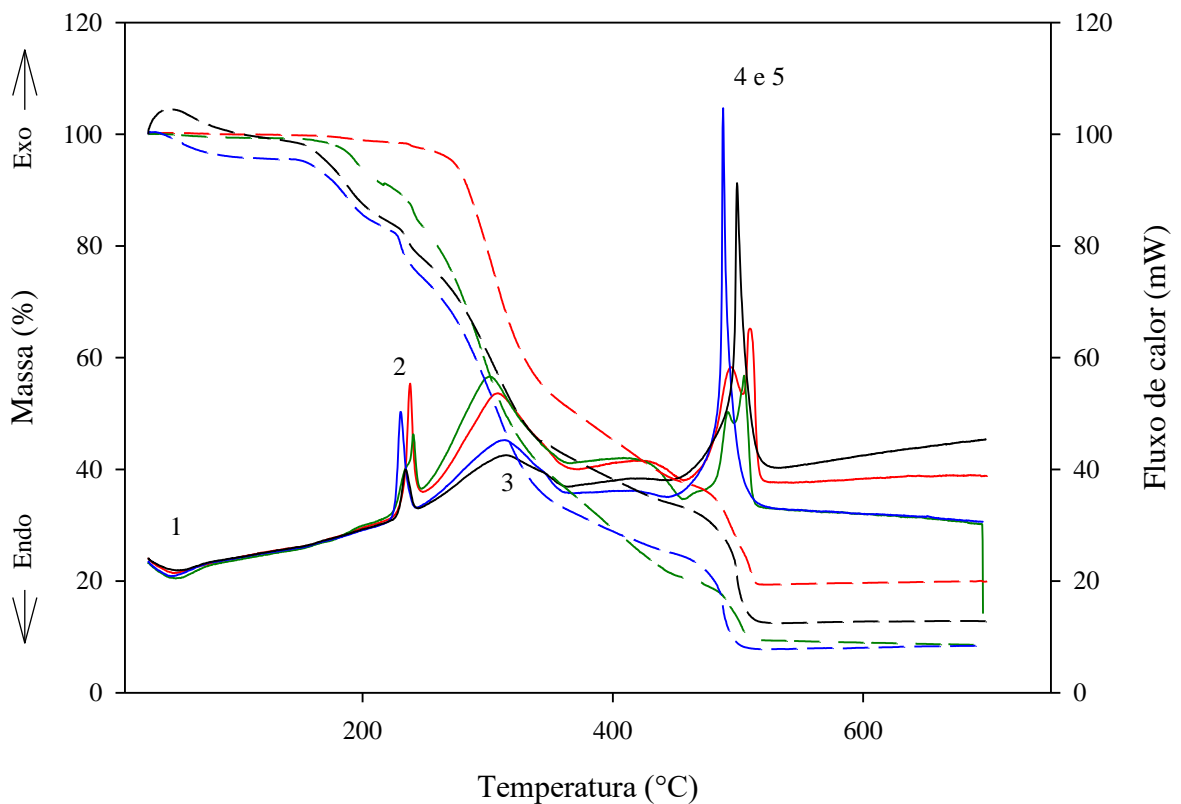


Figura 3. Curvas TG (---) e DTA/DSC (\_\_\_) do leite em pó de ovelha (Vermelho: integral atomizado; Verde: parcialmente desnatado atomizado; Azul: integral liofilizado; Preto: parcialmente desnatado liofilizado)

As curvas de TG das amostras de leite em pó atomizadas revelam que a perda de massa começa a acontecer em torno de 160°C para as amostras liofilizadas, enquanto que para as amostras atomizadas a perda de massa começa a 187°C para o leite parcialmente desnatado e 240°C para

o leite integral (Fig. 3). De acordo com Vuataz et al. (2010) em alimentos com proteína, gordura e carboidrato a umidade não é totalmente removida antes das reações químicas ocorrerem, e a liberação das moléculas geradas nestas reações ocorre no momento de inflexão da curva, portanto a menor temperatura de perda de massa para as amostras liofilizadas pode estar relacionada ao menor teor de umidade dessas amostras, liofilizado integral 3,39% e liofilizado parcialmente desnatado 3,47% e portanto maior interação entre a água e as demais moléculas (Fig. 3).

A completa degradação das amostras ocorreu em temperaturas acima de 500°C, com perda de massa de 80% para o leite atomizado integral e perda maior de 85% para as demais amostras (Fig. 3). Em temperaturas acima de 500°C os resíduos resultam na formação de carbono e cinzas (Er et al. 2019). Entretanto, pela análise físico-química (Tabela 1), houve maior teor de cinzas o leite em pó de ovelha liofilizadas e atomizada parcialmente desnatada.

Nas curvas de DTA/DSC observou-se a presença de uma transição vítrea, um pico endotérmico e três picos exotérmicos para as amostras liofilizadas e quatro picos exotérmicos para as amostras atomizadas. Nas temperaturas entre 29°C e 80°C estão ocorrendo três eventos simultâneos: as reações que envolvem gordura, lactose e as proteínas do soro. A temperatura de fusão cristalina da gordura compreende a temperatura de 48 – 55°C (Fig. 3) que corresponde ao processo endotérmico.

A ampla faixa de temperatura para o início e fim do evento endotérmico (29 a 76°C) pode estar relacionada com a lactose, proteínas do soro e à grande quantidade de ácidos graxos e triglicerídeos de tamanho de cadeia diferentes e ao polimorfismo desses triglicerídeos presentes no leite de ovelha. Na temperatura entre 38°C e 70°C acontece o início da transição vítrea da lactose e entre 25°C a 50°C acontece o início da desnaturação das proteínas do soro (Hu et al. 2009; Rahman et al. 2012; Ramos e Juarez 2011; Szulc et al. 2016; Vincenzetti et al. 2018).

Verificou-se que a temperatura de início da variação de fluxo de energia endotérmica variou entre 48,8°C e 54,8°C para os leites em pó estudados. Estas podem ser associadas a temperatura

de transição vítrea ( $T_g$ ) devido à presença de lactose amorfa, que por ter sido gerada durante o processo de desidratação do leite. A variação da  $T_g$  pode ser devido à variação da  $a_w$  e da quantidade de gordura presente nos leites, que podem influenciar no grau de mobilidade das moléculas de lactose devido às interações formadas. Variações nos valores da  $T_g$  da lactose tem sido verificadas. Pugliese et al. (2016) e Vuataz (2002) encontraram a temperatura de transição vítrea da lactose entre  $42^\circ\text{C}$  e  $58^\circ\text{C}$  e  $41^\circ\text{C}$  e  $52^\circ\text{C}$ , respectivamente. Habtegebriel et al. (2018) estudando leite de camela desidratado por spray dryer encontraram valores de  $T_g$  entre  $37,8^\circ\text{C}$  e  $40,45^\circ\text{C}$ , resultados estes variando com a quantidade de água presente no leite, ou seja, menor quantidade de água correspondia à maior  $T_g$ .

Na temperatura de  $135^\circ\text{C}$  a  $210^\circ\text{C}$ , geralmente, ocorre o derretimento de sólidos sem gordura e em temperaturas acima de  $200^\circ\text{C}$  ocorre a formação de uma estrutura ordenada resultante da reação de Maillard e caramelização, uma vez que o leite é um alimento protéico e possui grande quantidade de açúcar redutor (Ho et al. 2019; Raemy et al. 1983; Schmitz-Schug et al. 2013; Schuck 2009; Szulc et al. 2016). Portanto, a temperatura correspondente a  $229 - 248^\circ\text{C}$  (Fig. 3) pode estar relacionada ao derretimento da lactose e formação de produtos proveniente da reação de Maillard e caramelização (Szulc et al. 2016).

De acordo com Tan et al., (2019) em temperaturas superiores a  $300^\circ\text{C}$  pode estar acontecendo a degradação da proteína. Este evento pode ser correlacionado a temperatura entre  $261$  a  $357^\circ\text{C}$  (Fig. 3). A maior temperatura de decomposição para as amostras de leite de ovelha liofilizadas ( $316 - 317^\circ\text{C}$ ), pode estar relacionada à atividade de água menor que  $0,2$ , uma vez que alimentos com esta atividade de água possuem ligações mais fortes do grupo amina  $\text{NH}_3^+$  e carboxílico  $\text{COO}^-$  que são os grupos de proteína, com isso maior temperatura foi necessária para ocorrer a degradação deste composto (Tabela 2) (Schuck 2017).

A temperatura entre  $484$  e  $514^\circ\text{C}$  (Fig. 3) pode estar associada à queima completa dos compostos orgânicos e formação de cinzas, visto que após  $500^\circ\text{C}$  o peso das amostras ficou

constante, com 20% e menos de 12% do peso inicial para o leite integral atomizado e demais amostras, respectivamente (Er et al. 2019).

Pelo fato do leite ser uma mistura dos componentes, (gordura, lactose, proteína e outros constituintes menores), é difícil atribuir as características térmicas exatas para cada um dos componentes do leite em pó de ovelha (Ho et al. 2019; Schuck 2009).

A maior temperatura de pico pode indicar maior estabilidade térmica da amostra, enquanto que para a entalpia do evento exotérmico, quanto maior a energia absorvida necessária para realizar este processo, maior a estabilidade da amostra (Tabela 2). Portanto pode-se inferir que o leite em pó de ovelha obtido pelo método de atomização possui maior estabilidade térmica, já que foi possível observar que a entalpia foi maior para essas amostras.

Tabela 2. Valores de temperatura de pico e entalpia de transição para as amostras analisadas.

		Amostras de leite			
		Atomizado		Liofilizado	
		Integral	Parcialmente desnatado	Integral	Parcialmente desnatado
<b>Pico 1</b>	T_onset (°C)	29,6	35	32,8	29,6
	T_peak (°C)	48,8	54,8	50,8	53,3
	T_offset (°C)	75,2	76,2	69,4	70,5
	$\Delta H$ (J.g <sup>-1</sup> )	-2,2597	-3,2445	-3,0738	-2,0400
<b>Pico 2</b>	T_onset (°C)	233,7	238,8	229,5	230,0
	T_peak (°C)	238,0	244,9	234,4	235,4
	T_offset (°C)	242,2	248,6	239,4	240,3
	$\Delta H$ (J.g <sup>-1</sup> )	8,9062	8,6074	10,9042	7,0829
<b>Pico 3</b>	T_onset (°C)	269,2	264,3	266,4	261,5
	T_peak (°C)	308,2	307,2	317,6	316,5
	T_offset (°C)	356,5	343,5	357,1	355,3
	$\Delta H$ (J.g <sup>-1</sup> )	103,8950	104,0882	100,7285	86,5849
<b>Pico 4</b>	T_onset (°C)	484	490,7	489,4	497
	T_peak (°C)	494,5	496,1	492,4	501,2
	T_offset (°C)	502,8	500,6	494,5	507,1
	$\Delta H$ (J.g <sup>-1</sup> )	220,3097	111,6904	3272,6630	2957,4910
<b>Pico 5</b>	T_onset (°C)	506,2	500,3		
	T_peak (°C)	509,6	509,4		
	T_offset (°C)	514,6	514,5		
	$\Delta H$ (J.g <sup>-1</sup> )	389,7209	1413,6890		

T: temperatura e  $\Delta H$ : entalpia

#### 4 Conclusão

Os leites em pó de ovelha integral e parcialmente desnatado obtidos pelo método de atomização e liofilização apresentaram valores de composição satisfatório quando comparado com leite em pó de vaca. Os perfis espectrais obtidos por MIR foram semelhantes entre os tratamentos. As partículas do leite em pó atomizado apresentaram estrutura esférica e enrugada, enquanto que o leite obtido pelo método de liofilização apresentou estrutura contínua, caracterizando de cada método de secagem. A análise térmica apresentou picos endotérmicos e exotérmicos e diferença nas curvas de TG e DTA/DSC entre os métodos de secagem, sendo o leite em pó atomizado mais estável. O leite em pó de ovelha atomizado pode ser uma alternativa viável para o mercado.

#### 5 Referências

Alichanidis E, Oatsou G, Polychroniadou A (2016) Composition na properties of non-cow milk and products. Non-Bovine milk and milk products. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803361-6.00005-3>

AOAC. Association of Official Analytical Chemists. (2016). Official Methods of Analysis. (18<sup>th</sup> ed.), Washigton: AOAC.

Balthazar CF, Silva HIA, Vieira AH, Neto RPC, Cappato LP, Coimbra PT, Moraes J, Andrade MM, Calado VMA, Granato D, Freitas MQ, Tavares MIB, Raices RSL, Silva MC, Cruz AG (2017) Assessing the effects of diferente prebiotic dietary oligosacharides in sheep milk ice cream, Food Res. Int. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.11.008>

Balthazar CF, Silva HLA, Esmerino EA, Rocha RS, Moraes J, Carmo MAV, Azevedo L, Camps I, Abud YKD, Sant'anna C, Franco RM, Freitas MQ, Silva MC, Raices RSL, Escher GB, Granato D, Ranadheera S, Nazarro F, Cruz AG (2018) The addition og inulin and *Lactobacillus casei* 01 in sheep milk ice cream, Food Chem. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.12.002>

Borges MV, Alves MF, Chaves MA, Egito AS, Gross E, Ferrão SPB (2017) Chemical, structural and proteomic profile of buffalo milk powder produced in mini spray dryer. *Rev Mex Ing Quim* 1: 67-76.

Both EM, Nuzzo M, Millqvist-Fureby A, Boom RM, Schutyser MAI (2018) Morphology development during single droplet drying of mixed component formulations and milk, *Food Res Int*. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.04.043>

RASIL, Regulamento Técnico sobre Rotulagem Nutricional de Alimentos Embalados. *Diário Oficial da República Federativa do Brasil*, Brasília, DF, 26/12/2003, seção 1, p. 28.

BRASIL. Laboratório Nacional Agropecuário – Lanagro/RS. Determinação de lipídios em leite e produtos lácteos pelo método butirométrico. 17 de setembro de 2014.

BRASIL. Instrução Normativa nº 53 de 1º de outubro de 2018. Regulamento Técnico Mercosul de Identidade e Qualidade do Leite em Pó. *Diário Oficial da União*, Brasília, 1º out. 2018.

Claeys WL, Verraes C, Cardoen S, Block J de, Huyghebaert A, Raes K, Dewettinck K, Herman L (2014) Consumption of raw or heated milk from different species: An evaluation of the nutritional and potential health benefits, *Food Control*. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.01.045>

Çopur O, Incedayi B, Karabacak AO (2019) Technology and nutritional value of powdered drinks, *Production and Management of Beverages*. 1: 47-83.

Cruz AG, Zacarchenco PB, Oliveira CAF, Corassin CH (2017) *Processamento de leite de consumo*, vol. 2. Elsevier, Rio de Janeiro.

Er B, Sert D, Mercan E (2019) Production of skim milk powder by spray-drying from transglutaminase treated milk concentrates: Effects on physicochemical, powder flow, thermal and microstructural characteristics, *Int. Dairy J*. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2019.104544>

FAO. 2021 Dairy Market Review: Overview of global dairy market developments in 2020. Rome.

FAOSTAT. Livestock Primary. Production of milk, whole fresh sheep in world + (total) 2018. Data de acesso 07.07.2020. <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QL/visualize>

FAO. 2021 Dairy Market review – Overview of global dairy market developments in 2020, Rome.

Farah JS, Silva MC, Cruz AG, Calado V (2018) Differential calorimetry scanning: current background and application in authenticity of dairy products. *Curr. Opin. Food Sci.* <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2018.02.006>

Ferragina A, Cipolat-Gotet C, Cecchinato A, Pazzola M, Dettori ML, Vacca GM, Bittante G (2017) Prediction and repeatability of milk coagulation properties and curd-firming modeling parameters of ovine milk using Fourier-transform infrared spectroscopy and Bayesian models. *J. Dairy Sci.* <https://doi.org/10.3168/jds.2016-12226>

Ferrão SPB, Borgues MV, Gonçalves BRF, Alves MF, Silva G de J, Conceição DG, Fernandes SAA, Chaves MA (2017) Propiedades y aspectos tecnológicos de leche em polvo de búfala. *Académica española*.

Gonçalves BRF, Silva GJ, Jesus JC, Conceição DG, Santos LS, Ferrão SPB (2020) Fast verification of buffalo's milk authenticity by mid-infrared spectroscopy, analytical measurements and multivariate calibration. *J. Braz. Chem. Soc.* <http://dx.doi.org/10.21577/0103-5053.20200030>

Habtegebriel H, Edward D, Wawire M, Sila D, Seifu E (2018) Effect of operating parameters on the surface and physico-chemical properties of spray-dried camel milk powders. *Food bioprod process.* <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2018.09.010>



- Ho TM, Chan S, Yago AJE, Shravya R, Bhandari BR, Bansal N. (2019) Changes in physicochemical properties of spray-dried camel milk powder over accelerated storage, *Food Chem.* <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.05.122>
- Hu J, Sari O, Eicher S, Rija Rakotozanakajy A (2009) Determination of specific heat of milk at different fat contents between 1°C and 59°C using micro DSC. *J. Food Eng.* <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2008.07.009>
- Jubaer H, Xiao J, Chen XD, Selomulya C, Woo MW (2019) Identification of regions in a dryer susceptible to forced agglomeration by CFC simulations, *Power Technol.* <https://doi.org/10.1016/j.powtec.2019.01.088>
- Junior IAM, Costa RG, Costa LG, Ludovico A, Rego FC de A, Alegro LCA, Santana EHW de (2015) Ovinocultura leiteira no Brasil: Aspectos e fatores relacionados à composição, ao consumo e à legislação. *Colloquium Agrariae*. 11: 38-53.
- Karoui R, Hammami M, Rouissi H, Blecker C (2011) Mid infrared and fluorescence spectroscopies coupled with factorial discriminant analysis technique to identify sheep milk from different feeding systems. *Food Chem.* <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.12.135>
- Markoska T, Huppertz T, Grewal MK, Vasijevic T (2019) FTIR analysis of physicochemical changes in raw skim milk upon concentration, *LWT – Food Sci Technol.* <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.12.011>
- Mistry VV, Hanssan HN, Robison DJ (1992) Effect of lactose and protein on the microstructure of dried milk. *Food Struct.* 11: 73-82.
- Mohapatra A, Shinde AK, Singh R (2019) Sheep milk: a pertinent functional food. *Small Ruminant Res.* <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2019.10.002>
- Nicolaou N, Xu Y, Goodacre R (2010) Fourier transform infrared spectroscopy and multivariate analysis for the detection and quantification of different milk species, *J Dairy Sci.* <https://doi.org/10.3168/jds.2010-3619>

Nudda A, Atzori AS, Correddu F, Battacone G, Lunesu MF, Cannas A, Pulina G (2020) Effects of nutrition on main components of sheep milk, *Small Rumin. Res.* <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2019.11.001>

Pappas CS, Tarantilis PA, Moschopoulou E, Moatsou G, Kandarakis I, Polissiou MG (2008) Identification and differentiation of goat and sheep milk based on diffuse reflectance infrared Fourier transform spectroscopy (DRIFTS) using cluster analysis. *Food Chem.* <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.07.034>

Pellicer JA, Fortea MI, Trabal J, Rodríguez-López MI, Gabaldón JA, Nùñez-Delicado E (2019) Stability of microencapsulated strawberry flavour by spray drying, freeze drying and fluid bed, *Powder Technol.* <https://doi.org/10.1016/j.powtec.2019.03.010>

Pugliese A, Paciulli M, Chiavaro E, Mucchetti G (2016) Characterization of commercial dried milk and some of its derivatives by differential scanning calorimetry. *J. Therm Anal Calorim.* 123: 2583-2590.

R. Wicklin *Statistical programming with SAS/IML® Software*; SAS Institute Inc.: Cary, 2010.

Raemy A, Hurrell RF, Löliger J (1983) Thermal behaviour of milk powders studied by differential thermal analysis and heat flow calorimetry. *Thermochim Acta.* [https://doi.org/10.1016/0040-6031\(83\)80010-0](https://doi.org/10.1016/0040-6031(83)80010-0)

Rahman MS, Al-Hakmani H, Al-Alawi A, Al-Marhubi I (2012) Thermal characteristics of freeze-dried camel milk and its major components. *Thermochim. Acta.* <https://doi.org/10.1016/j.tca.2012.09.005>

Ramos F de M, Ubbink J, Júnior VS, Prata AS (2019) Drying of Maltodextrin solution in a vacuum spray dryer, *Chem Eng Res Des.* <https://doi.org/10.1016/j.cherd.2019.03.036>

- Ramos M, Juarez M (2011) Sheep Milk. Encyclopedia of Dairy Sciences, second ed., <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374407-4.00314-9>
- Roy D, Ye A, Moughan PJ, Singh H (2020) Composition, structure and digestive dynamics of milk from different species – A review. *Frontiers in nutrition*. <https://doi.org/10.3389/fnut.2020.577759>
- Schmitz-Schug I, Gianfrancesco A, Kulozik U, Foerst P (2013) Physical state, molecular mobility and chemical stability of powdered dairy formulations. *Food Res Int*. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.05.003>
- Schuck P, Blanchard E, Dolivete A, Méjean S, Onillon E, Jeantet R (2005) Water activity and glass transition in dairy ingredients. *Lait*. <https://doi.org/10.1051/lait:2005020>
- Schuck P (2017) Implications of non-equilibrium states and glass transition in dairy powders. *Non-Equilibrium states and glass transitions in foods*. <https://doi.org/10.1016/b978-0-08-100309-1.00016-x>
- Schuck P, France INRA (2009) Understanding the factors affecting spray-dried dairy powder properties and behavior, *Dairy-Derived Ingredients*, 24-50. <https://doi.org/10.1533/9781845697198.1.24>
- Smiddy MA, Huppertz T, Van Ruth SM (2012) Triacylglycerol and melting profiles of milk fat from several species, *Int. Dairy J*. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2011.07.001>
- Szulc K, Nazarko J, Ostrowska-Ligeza E, Lenart A (2016) Effect of fat replacement on flow and thermal properties of dairy powders, *LWT - Food Sci Technol*. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.12.060>
- Tan S, Ebrahimi A, Langrish T (2019) Smart release-control of microencapsulated ingredients from milk protein tablets using spray drying and heating, *Food Hydrocoll*. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.02.006>

Tadini, C. C.; Nivoletti, V. R.; Meirelles, A. J. de A.; Pessoa Filho, P. de A. (2016) Operações Unitárias na Indústria de Alimentos. 1ª edição, Ed. Gen/LTC, Rio de Janeiro.

Vianna FS, Canto ACVCS, Costa-Lima BRC da, Salim APAAA, Costa MP, Balthazar CF, Oliveira BR, Rachid RP, Franco RM, Conte-Junior CA, Silva ACO (2017) Development of new probiotic yoghurt with a mixture of cow and sheep milk: effects on physicochemical, textural and sensory analysis, *Small Rumin. Res.* <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2017.02.013>

Vincenzetti A, Cecchi T, Perinelli DR, Pucciarelli S, Polzonetti V, Bonacucina G, Ariani A, Parrocchia L, Spera DM, Ferretti E, Vallesi P, Polidori P (2018) Effects of freeze-drying and spray-drying on donkey milk volatile compounds and whey proteins stability, *LWT - Food Sci Technol.* <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.10.019>

Vuataz G (2002) The phase diagram of milk: a new tool for optimising the drying process. *Lait* 82: 485-500.

Vuataz G, Meunier , Andrieux JC (2010) TG-DTA approach for designing reference methods for moisture content determination in food powders. *Food Chemistry.* <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.05.066>

Walstra P, Geurts TJ, Noomen A, Jellema A, Van Boekel MAJS (2001) *Ciencia de la leche y tecnologia de los productos lácteos.* Acribia.

## **6 Agradecimento**

Ao Assentamento Bela Vista, localizado no Vale do Ioió/Canabrava, Malhada-BA, ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos – UESB, ao Grupo de Estudos em Leite (GEL - UESB), à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível

Superior (Capes) e a Bolsa de estudo concedida pela Fundação de Amparo à Pesquisa da Bahia (FAPESB).

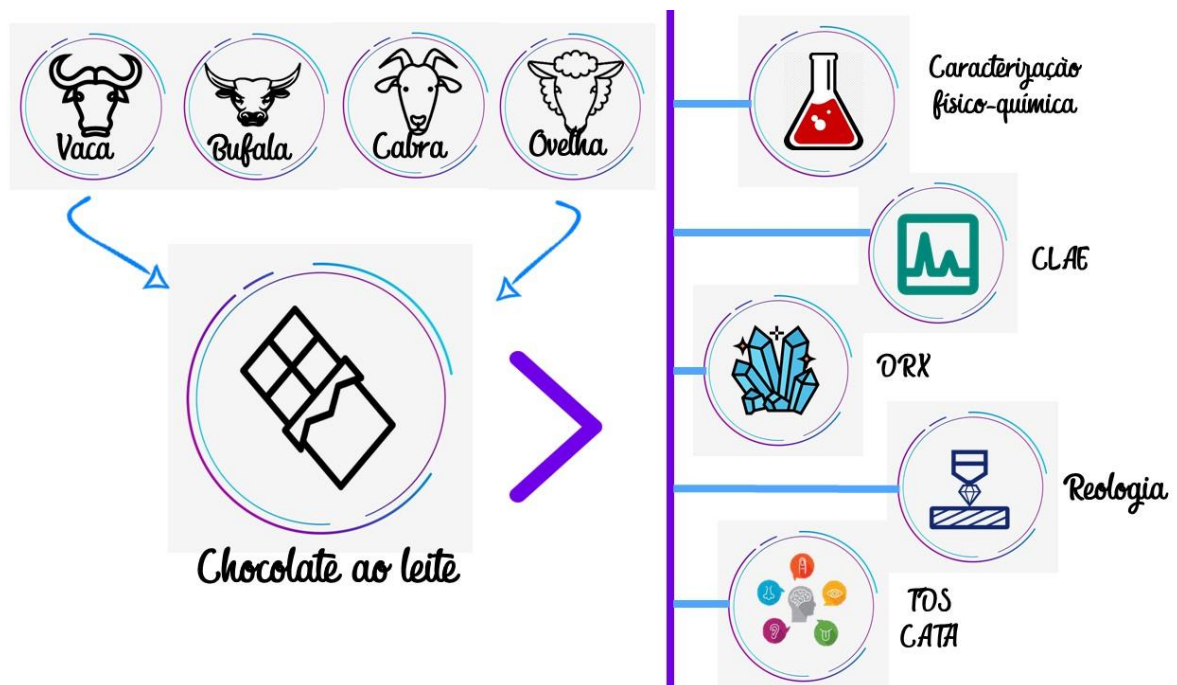
## **7 Financiamento**

Esta pesquisa não recebeu qualquer subversão específica de agência de financiamento no público, comercial ou setores não-para-lucro.

# Capítulo IV

## Chocolates ao leite de vaca, búfala, cabra e ovelha: caracterização física, química e perfil sensorial

Resumo gráfico



# Chocolates ao leite de vaca, búfala, cabra e ovelha: caracterização física, química e perfil sensorial

Daniele Gomes Conceição<sup>1</sup>, Isabel Cristina de Santana Alves<sup>1</sup>, Rebeca Rodrigues Vieira Onelli<sup>1</sup>, Grazielly de Jesus Silva<sup>1</sup>, Modesto Antônio Chaves<sup>1</sup>, Renata Cristina Ferreira Bonomo<sup>1</sup>, Leandro Soares Santos<sup>1</sup>, Sibelli Passini Barbosa Ferrão<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos, Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (UESB), Rodovia BR 415, Km 03, s/n 45700-000 Itapetinga – BA, Brasil

## Resumo

Objetivou-se avaliar o efeito da utilização de leite de diferentes espécies sobre a composição química, características físico-químicas, polimorfismo e perfil sensorial de chocolates ao leite. Foram produzidos chocolates ao leite com 50% de massa de cacau e 15% de leite em pó (variando a espécie), 0,4% de lecitina de soja, 6,0% de manteiga de cacau e 29,6% de açúcar, totalizando 4 formulações com 3 repetições. As amostras de chocolate foram caracterizadas por análises físico-químicas (gordura, proteína, umidade, resíduo mineral fixo, acidez, pH, atividade de água, cor no sistema L\*, a\*, b\* e tamanho médio de partícula), quantificação de metilxantinas (teobromina e cafeína), fenólicos ((+) catequina e (-) epicatequina) por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), perfil de textura (dureza), acompanhamento da vida de prateleira (índice de brancura e polimorfismo), e análises sensoriais (testes de aceitação, intenção de compra, *Temporal Dominance of Sensations* -TDS e *Check-All-That-Apply* - CATA). Houve diferença significativa para os teores de proteína, umidade, resíduo mineral fixo, acidez, pH, parâmetros de cor a\*, b\* e dureza entre os chocolates. Para o índice de brancura não foi observado *fat bloom* ao longo de 90 dias de armazenamento e pelo polimorfismo não houve alteração dos cristais durante 12 meses de armazenamento. Pela análise de TDS foi possível observar que houve diferença para a dominância de sensações entre

os julgadores para os chocolates ao leite de vaca (sabor chocolate e rancidez), búfala (cremosidade, acidez e sabor amargo) e ovelha (sabor doce e amargo). A análise CATA comprovou que o chocolate está associado a fuga de sentimentos desagradáveis e prazer no consumo e os testes de aceitação e intenção de compra mostraram que os chocolates ao leite de vaca, búfala e ovelha foram os mais aceitos. Os chocolates obtidos apresentaram parâmetros de qualidade em conformidade em relação a legislação vigente para as análises físico-químicas, perfil de textura, índice de brancura e polimorfismo, e na análise sensorial os chocolates foram os mais aceitos. Os chocolates ao leite de diferentes espécies apresentam-se como uma alternativa viável para o mercado de lácteos e chocolates.

**Palavras-chave:** leite em pó, cacau, polimorfismo.

## 1 Introdução

O mercado de chocolate movimentou cerca de US\$ 130,56 bilhões em 2019 e deve crescer próximo a 4,6% entre 2020 a 2027, sendo os maiores consumidores os europeus e americanos. Dentro dessa perspectiva, os chocolates finos ou “bean to bar” são mercados que merecem destaque e tem apresentado evidente crescimento (Leite, 2018; Grand View Research, 2020). O consumo de chocolate pode ser benéfico para a saúde, em decorrência da quantidade de polifenóis e metilxantinas que estão associadas ao efeito antioxidante e sensação de bem-estar (Alves et al., 2021).

O chocolate é uma dispersão semi-sólida composta por sólidos de cacau (*Theobroma cacao* L.), manteiga de cacau e açúcar, podendo ser acrescentado de leite, frutas e nozes (Nascimento et al., 2020). A quantidade de cada ingrediente depende do tipo de chocolate a ser produzido, sendo os principais os chocolates intenso, meio intenso, branco e ao leite. De acordo com Codex (2016) chocolate ao leite deverá conter no mínimo 25% de extrato seco de cacau, e ao menos 14% de leite (incluindo no mínimo 2,5% a 13,5% de gordura láctea). O leite é



adicionado ao chocolate na forma de pó a fim de evitar que a água destrua as propriedades de fluxo do chocolate. A princípio o leite em pó de qualquer espécie pode ser adicionada a formulação de chocolates, entretanto o leite de vaca é o mais empregado em razão da disponibilidade, da produção mundial e do preço (Yurchenko et al., 2018, FAO, 2021).

O leite de todas as espécies contém lactose, proteína, lipídeos, vitaminas, sais minerais e água. O que difere um leite de uma espécie para outra é a quantidade desses nutrientes e o perfil de aminoácidos e de ácidos graxos. Esta diferença de composição entre os leites influencia no rendimento, textura e aroma dos derivados lácteos (Yurchenko et al., 2018).

As principais espécies comerciais de leite são bovinas, bubalinas, caprinas e ovinas. O leite de cabra é o que mais se assemelha ao leite de vaca com relação à quantidade de nutrientes, entretanto é distinto no perfil de ácidos graxos e aminoácidos (Mohapatra et al., 2019). O leite de cabra tem maior digestibilidade devido ao menor tamanho do glóbulo de gordura, e maior conteúdo de ácidos graxos de cadeia média e curta, principalmente os ácidos graxos caproico, caprílico e cáprico que são importantes no sabor e aroma típicos dos produtos feitos com leite de cabra (Lopez et al., 2011; Yurchenko et al., 2018). Este leite possui menor quantidade da fração  $\alpha_1$ -caseína, o que pode favorecer o consumo deste leite e de seus derivados para alergênicos à proteína do leite de vaca (Fuc et al., 2018).

Quando se fala em rendimento industrial e teor de gordura e proteína os leite de búfala e ovelha são semelhantes. O leite de búfala é um leite com coloração mais branca, os glóbulos de gordura são maiores, tem maior quantidade de ácidos graxos saturados e cerca de 25,5% a maior de aminoácidos essenciais quando comparado com o leite de vaca (Abesingle et al., 2020). O leite de ovelha possui maiores teores de ácido linolêico, aminoácidos essenciais, vitaminas, caseínas e cálcio quando comparado com o leite de vaca. Possui maiores teores de ácidos graxos de cadeia média e curta que pode favorecer o consumo deste leite para pessoas que têm dificuldade de absorver lipídeos de cadeia longa (Lopez et al., 2011; Vianna et al., 2017).

A utilização do leite de diferentes espécies para o desenvolvimento de chocolate seria uma alternativa para a indústria oferecer ao mercado um produto diferenciado e inovador, devido as características do leite de cada espécie que pode originar novos sabores e textura ao chocolate, também inovação para o setor lácteo com a produção de leite em pó de búfala e ovelha. Para verificar a qualidade nutricional, física e sensorial destes chocolates análises de composição, perfil de textura, índice de brancura (controle de *fat bloom*) e testes sensoriais devem ser aplicados, como teste de aceitação, intenção de compra e métodos descritivos.

Conhecer a aceitabilidade, os atributos relevantes durante o processo de mastigação e deglutição do chocolate é importante na definição dos parâmetros de qualidade, bem como as sensações e emoções percebidas que levam o consumidor a comprar e escolher o produto. Para tal se faz necessário o emprego de técnicas descritivas temporais e atemporais, além dos teste afetivos.

Objetivou-se desenvolver chocolates ao leite de vaca, búfala, cabra e ovelha e avaliar o efeito dessas adições quanto à composição química, perfil de textura, índice de brancura, acompanhamento da vida de prateleira e perfil sensorial.

## **2 Material e métodos**

### **2.1. Obtenção da matéria-prima para elaboração do chocolate**

#### **2.1.1 Obtenção dos leites em pó**

Por não existir disponibilidade comercial de leite em pó de ovelha e búfala, os leites foram submetidos à secagem por atomização. O leite de ovelha de animais sem raça definida e o leite de búfala da raça Murrah foram obtidos em dias consecutivos, por ordenha manual, sob condições higiênico sanitárias satisfatórias. Antes da secagem os leites foram submetidos à pasteurização lenta (65°C por 30 minutos) e em decorrência das condições de processamento, houve a necessidade de padronizar para 3% o teor de gordura do leite de ovelha devido a dificuldade da secagem. Em seguida os leites foram submetidos à atomização, em equipamento

mini *spray drier* modelo MSD 3.0 (LABMAQ Brasil LTDA) em ciclo co-corrente, com temperatura do ar de entrada de 140°C e do ar de saída de 80°C, bico injetor de 1,0 mm com vazão de ar no bico de 40 L.min<sup>-1</sup>, vazão do ar de secagem 2,8 m<sup>3</sup>.min<sup>-1</sup> e vazão da bomba 1,04 L.h<sup>-1</sup>. A produção foi realizada em três repetições. As amostras foram embaladas em seladoras à vácuo modelo BS320 (R. BAIÃO Brasil LTDA), com solda de 3,5 e vácuo de 1,5 em embalagem laminada e armazenadas à temperatura ambiente (25°C) por no máximo 45 dias até o momento da fabricação do chocolate.

O leite de cabra em pó integral (Caprilat, Nova Friburgo, Rio de Janeiro, Brasil) e leite de vaca integral (Ninho – Nestlé, Várzea de Baixo, São Paulo, Brasil) foram obtidos no mercado local.

### **2.1.2 Obtenção da amêndoa de cacau, manteiga de cacau, lecitina e açúcar**

O *blend* (diferentes variedades) de amêndoas de cacau (índice de fermentação 95% e pH 4,92) foram torradas a 120°C em torrador circular (JAF Inox Ind. De Máquinas de Chocolate Ltda., Tambaú, SP, Brasil) por 45 minutos. Após a torrefação foram obtidos os nibs, estes foram triturados em moinho de facas (JAF Inox Ind. De Máquinas de Chocolate Ltda., Tambaú, SP, Brasil) para a obtenção da massa de cacau que foi utilizada para a produção dos chocolates. Foram obtidos no mercado a manteiga de cacau desodorizada (Tradal Brazil Camp. Imp. e Exp. Ltda, São Paulo, Brasil), lecitina de soja (Tradal Brazil Camp. Imp. e Exp. Ltda, São Paulo, Brasil), açúcar refinado (União, Araquari, Santa Catarina, Brasil).

## **2.2 Formulações e preparação dos chocolates**

As formulações e processamento dos chocolates ao leite foram realizadas segundo Silva et al. (2019). Foram produzidas três repetições de cada formulação de chocolates preparados com 50% de massa de cacau, 15% de leite em pó (variando a espécie), 0,4% de lecitina de soja, 6,0% de manteiga de cacau e 29,6% de açúcar. A massa de cacau, o açúcar, o leite em pó de

cada espécie e a manteiga de cacau foram transferidos para equipamentos de múltiplas funções Melanger (Spectra 11, Coimbatore, TN, India). Neste equipamento foram realizadas as etapas de mistura, refino e conchagem. A massa de chocolate foi refinada por 2h, em seguida o leite em pó e metade da manteiga de cacau foram adicionados à massa e neste momento foi iniciado o processo de mistura e refino que durou 6h. Após este tempo o açúcar e a metade da manteiga de cacau restante foram adicionados à massa que foi refinada e misturada por 16h. Após este período a lecitina foi adicionada e iniciou-se o processo de conchagem por 2h.

O processo de temperagem foi realizado em temperadeira (Mini Chocomachine – Finamac, São Paulo, Brasil) em que o chocolate foi mantido em constante agitação. Primeiramente houve o resfriamento da massa até a temperatura de 45°C e mantida nesta temperatura por 30 minutos, posteriormente a massa foi resfriada até 28°C. O chocolate foi transferido para formas de policarbonato (formas de 3,0g e de 10g), e as mesmas agitadas manualmente para evitar a formação de bolhas de ar na superfície dos chocolates. As formas com os chocolates foram refrigeradas a temperatura de 5°C por 4 horas para solidificação do chocolate e os mesmos foram embalados com papel laminado (Packpel -Mauá, Brasil) e armazenados sob refrigeração (7°C) até o momento das análises.

### **2.3 Análise do leite em pó**

As análises de composição do leite em pó de vaca, búfala, cabra e ovelha foram realizadas em triplicata conforme metodologias descritas pela AOAC (2016) para os teores de umidade (IOCC 927,05), proteína (IOCC 930,29), com fator de correção 6,38, resíduo mineral fixo (IOCC 930,30) e gordura (IOCC 932,06).

### **2.4 Análises do chocolate**

#### **2.4.1 Composição química e caracterização físico-química**

Foram realizadas as análises de proteína (IOCC 970.22), pH (IOCC 970.21), umidade (IOCC 931.04), resíduo mineral fixo (IOCC 972.15) e gordura (IOCC 963.15), de acordo com metodologias descritas pela AOAC (2016). A atividade de água foi determinada pelo aparelho analisador de atividade de água de bancada, modelo Aqualab 4TE, marca Decagon Devices (Brasil), com temperatura a 25°C. A acidez titulável foi determinada por meio do método potenciométrico e o titulante foi o NaOH (0,1 mol/L), cor no sistema CIELAB L\* a\* b\* realizada em equipamento MiniScan EZ by HunterLab (Virginia – EUA) e tamanho médio de partícula realizada em micrômetro digital (Mitutoyo Corporation, Kawasaki, Japão).

#### **2.4.2 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)**

Para a quantificação de (-) epicatequina, (+) catequina, cafeína e teobromina as amostras foram pesadas (0,02g de cada chocolate), adicionado 5 mL de solução extratora (85% de água acidificada com 0,3% de ácido acético, e 15% de metanol) (Vetec, Duque de Caxias, Rio de Janeiro) em tubos de ensaio e mantidos sob agitação por 15 min em banho ultrassônico (Sanders medical, SoniClean 6, Brasil). Em seguida, os tubos foram colocados em banho termostático (Tecnal, Te-2005, Piracicaba, Brasil) a 60°C por 10 min. e centrifugados (SP Labor, Sp-701, Presidente Prudente, Brasil) a 3000g por 15 min. para separação. O extrato foi filtrado com filtros estéreis (Filtrilo, Colombo, Paraná) de 0,22µm e submetidos ao CLAE.

A análise de CLAE foi realizado em coluna RP-LC (Zorbax SB-C<sub>18</sub>, 4,6 mm ID x 250 mm, 5µm e coluna de guarda Zorbax SB-C 18, 4,6mm ID x 12,5mm, 5µm) usando um sistema HP Agilent 1260 Infinity II. A fase móvel consistia em 2,5% de ácido acético (vetec, Duque de Caxias, Rio de Janeiro) (solvente A) e acetonitrila (Dinâmica Química Contemporânea Ltda., Indaiatuba, São Paulo) (solvente B) a uma taxa de fluxo de 1 mL/min. o gradiente de eluição do solvente B foi o seguinte: 0-13min. 3%; 13-18min. 9%; 18-25min. 11%; 25-45min. 18%; 45-50min. 30% e em 50min. 3%. Os cromatogramas foram registrados a 274 e 280nm. A identificação dos compostos foi obtida comparando seus espectros de UV e tempos de retenção

dos picos separados com os tempos de retenção dos padrões. Os compostos fenólicos foram quantificados baseada na área do pico. As curvas de calibração dos padrões foram preparadas diluindo os padrões (Sigma-Aldrich, San Luis, Missouri, Estados Unidos) de estoque com a solução extratora, sendo composta por 8 pontos (1 a 128 µg/mL) de (-)-epicatequina, (+)-catequina, cafeína e teobromina.

#### 2.4.3 Perfil de textura

A análise de textura instrumental foi conduzida em um analisador de textura modelo TA.HD plus (Stable Micro Systems, UK). O ensaio realizado foi um corte simples utilizando a probe (Extended Craft Knif A/ECB), taxa de deformação de 2 mm.s<sup>-1</sup>, distância de compreensão de 5 mm e gatinho de 0,09N. A coleta de dados foi realizada por meio do programa computacional Texture Expert for Windows 1.20 (stable Micro Systems, UK). O parâmetro dureza foi avaliado em chocolate com medições (46mm de diâmetro e 4mm de altura), para a obtenção de uma boa estimativa da avaliação foram realizados 8 medições para cada repetição (Silva et al., 2019).

#### 2.4.4. Determinação da vida de prateleira (índice de brancura e polimorfismo)

Para a análise de índice de brancura foram utilizados os parâmetros obtidos no sistema CIELAB L\*, a\* e b\* com cinco medidas sob a superfície dos mesmos chocolates, nos tempos 0, 8, 15, 30, 45, 60, 75 e 90 dias de armazenamento em refrigeração a 7°C. Os resultados foram expressos em termos de índice de brancura – *Whiteness index* (WI), segundo Buscato et al. (2018) aplicando Equação 1.

$$WI = 100 - [(100 - L^*)^2 + a^{*2} + b^{*2}]^{1/2} \quad \text{Equação 1}$$

Para a análise de polimorfismo foi utilizada a técnica de difração de raios-X (DRX) foi realizada em difratômetro D2 Phaser (Bruker, Karlsruhe, Alemanha) equipado com radiação

Cu-K $\alpha$  ( $k = 1,54184 \text{ \AA}$ , voltagem 30 kV e corrente 10 mA) à temperatura ambiente ( $25^{\circ}\text{C} \pm 2$ ). As amostras foram analisadas em ângulos de  $2\theta$  de  $5^{\circ}$  a  $40^{\circ}$  com uma taxa de varredura de  $1,5^{\circ}/\text{min}$ . A análise de DRX foi realizada nos tempos 0, 3, 6, 9 e 12 meses de armazenamento em refrigeração a  $7^{\circ}\text{C}$ . A preparação das amostras foi realizada de acordo com Biswas et al. (2017).

#### **2.4.5 Análise microbiológica e perfil sensorial**

Para garantir a qualidade microbiológica das amostras foram realizadas análises para *Salmonella* sp. e Enterobacteriaceae (*E. coli*) de acordo com metodologia descrita por FDA (2005).

Antes da realização dos testes sensoriais, o presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UESB – CEP/UESB - (Certificado de Apresentação para Apreciação Ética – CAAE: 07111018.1.0000.005). Para cada voluntário participante foram entregues duas vias do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) para serem assinados declarando que não possuem alergia a nenhum dos componentes do chocolate, que concordavam em participar do estudo e que estavam cientes dos riscos relacionados à pesquisa.

Os testes sensoriais foram realizados após 15 dias de fabricação. Os chocolates foram retirados da refrigeração ( $7^{\circ}\text{C}$ ) vinte minutos antes das análises. Os testes foram realizados em cabines individuais iluminadas com luz branca e temperatura ambiente de  $24^{\circ}\text{C}$ . Em todas as análises foi utilizado o chocolate de 3,0g, apresentação monádica (uma amostra por vez) em recipiente âmbar, identificados com número de três dígitos e devidamente aleatorizadas. Foram servidos água à temperatura ambiente ( $25^{\circ}\text{C} \pm 2$ ) e biscoito de água e sal para limpeza da cavidade oral juntamente com cada amostra (Lawless e Heymann, 2010; Silva et al., 2020).

#### **2.4.6 Perfil sensorial – Grupo de foco**

Antes da realização das análises TDS e CATA, 15 julgadores (5 homens e 7 mulheres) foram divididos em dois grupos (grupo de foco) os julgadores recebiam uma amostra por vez para o levantamento dos atributos percebidos durante a degustação do chocolate. Posteriormente, as listas foram discutidas entre os participantes do grupo para a definição dos termos que foram utilizados na análise TDS e para o levantamento dos atributos, sensações e frases que remetessem ao chocolate, para posteriormente serem utilizados para elaboração da ficha da análise CATA. A reunião foi gravada durante a discussão dos participantes (Monaco et al., 2014).

#### **2.4.7. *Temporal Dominance of Sensations* (TDS)**

Para a análise TDS os 15 julgadores foram treinados para uso do programa *SensoMaker* versão 1.91. Os atributos/termos que foram levantados pelos julgadores (cremosidade, rancidez, acidez, sabor de leite, sabor de chocolate, gosto amargo e gosto doce) foram aleatorizados no programa para cada repetição. Foi definido o tempo de 3 segundos para o início do teste (tempo que o julgador colocava o chocolate na boca e clicava no botão iniciar do programa) e 60 segundos para a realização do teste (Nunes e Pinheiro, 2012).

Durante os 60 segundos o julgador identificou os atributos percebidos como dominantes naquele momento, registrado um atributo como dominante até que outro atributo fosse selecionado. Cada julgador realizou a análise 2 vezes (4 amostras e 2 repetições) em dias distintos, totalizando 30 observações (2 repetições e 15 julgadores) (Nunes e Pinheiro, 2012; Monaco et al., 2014).

#### **2.4.8. Teste de aceitação e *Check-All-That-Apply* (CATA)**

O teste sensorial de aceitação (escala hedônica estruturada de 9 pontos), intenção de compra (escala de atitude de 5 pontos) e CATA foram realizados no mesmo momento com 115



provadores não treinados, com idade entre 22 e 50 anos de ambos os sexos. A eles foram oferecidas as amostras e os mesmos marcaram na ficha os 14 atributos, 16 frases e 16 sensações que estavam sentindo no momento do consumo dos chocolates. As frases, atributos e sensações dos chocolates na ficha da análise CATA foram aleatorizados para cada amostra apresentada ao provador para não haver interferência no momento da marcação das sensações (Ares et al., 2015).

## **2.5 Delineamento experimental**

Os resultados das análises químicas do leite em pó, físico-químicas, quantificação de teobromina, epicatequina, cafeína e catequina e perfil de textura dos chocolates foram analisados por meio de Delineamento Inteiramente Casualizado (DIC) e o teste de comparação das médias foi realizada pelo teste de Tukey, com nível de significância de 5,0%.

O teste de aceitação foi analisadas por meio de Delineamento em Bloco Casualizado (DBC). A aceitação foi caracterizada em 115 unidades experimentais (blocos – julgadores) a 5% de significância. Foi realizado o Mapa de Preferência Interno com os dados da análise de aceitação.

O teste qui-quadrado foi usado para determinar se os atributos, palavras e frases selecionadas pelos provadores para o CATA diferiram com o tipo de leite usado no chocolate. A análise de correspondência, baseada na distância qui-quadrado, foi usada para visualizar as associações entre os termos CATA e os chocolates ao leite.

As análises estatísticas foram realizadas utilizando o programa estatístico *Statistical Analysis System (SAS)® Studenty* (Wicklin, 2010). Os dados obtidos na análise de TDS e Mapa de Preferência Interno foram realizadas utilizando o programa *SensoMaker* versão 1.91 (Pinheiro et al., 2013).

## **3 Resultados e Discussão**

### **3.1 Composição do leite em pó**

Os resultados de composição do leite em pó de vaca, búfala, cabra e ovelha são mostrados na Tabela 1. Para as variáveis gordura, proteína e resíduo mineral fixo houve diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ) entre as espécies.

Tabela 1. Média  $\pm$  DP de parâmetros químicos do leite em pó

Variáveis	Leite em pó			
	Vaca*	Búfala	Cabra*	Ovelha
Gordura (%)	26,05 <sup>c</sup> $\pm$ 0,08	36,83 <sup>a</sup> $\pm$ 0,76	28 <sup>b</sup> $\pm$ 0,38	23,23 <sup>d</sup> $\pm$ 0,80
Proteína (%)	23,73 <sup>b</sup> $\pm$ 0,17	28,22 <sup>ab</sup> $\pm$ 0,35	25,25 <sup>b</sup> $\pm$ 0,14	36,78 <sup>a</sup> $\pm$ 0,42
Umidade (%)	4,89 <sup>a</sup> $\pm$ 0,59	4,34 <sup>a</sup> $\pm$ 0,08	4,63 <sup>a</sup> $\pm$ 0,30	4,51 <sup>a</sup> $\pm$ 0,58
Resíduo mineral fixo (%)	6,99 <sup>a</sup> $\pm$ 0,06	4,61 <sup>d</sup> $\pm$ 0,05	6,81 <sup>b</sup> $\pm$ 0,04	6,67 <sup>c</sup> $\pm$ 0,03

DP = desvio padrão. <sup>a,b,c</sup> Médias de mesma letra não diferem entre si ( $p > 0,05$ ) pelo teste Tukey.

\*Leite em pó obtidos no comércio.

Visto que não existe legislação nacional para leite em pó de búfala, cabra e ovelha o Brasil (2018) foi utilizada como comparativo para os parâmetros de qualidade do leite em pó de vaca, que preconiza valores para teor de gordura, umidade e proteína para leite em pó. Os leites em pó obtidos foram classificados como integral para as amostras de leite em pó de vaca, búfala e cabra, visto que o teor de gordura foi maior do que 26%, e classificado como parcialmente desnatado para o leite em pó de ovelha, teor de gordura entre 1,5% a 25,9%.

Para teor de umidade os leites obtidos apresentaram-se de acordo com Brasil (2018) que preconiza valores máximos de 5%. Borges et al., (2017) produziram leite em pó de búfala e obtiveram valor para proteína de 21,51%. Silva et al., (2019) analisaram a composição do leite em pó de cabra comercial e encontram teor de proteína de 24,21%. Valores inferiores ao encontrado neste trabalho, enquanto que Zouari et al., (2020) encontraram teor de proteína para leite em pó de vaca de 27,8%.

A composição dos leites em pó estudados apresentou diferenças significativas entre espécies e a variação com os demais trabalhos pode estar relacionada a possíveis diferenças

entre as condições de manejo, alimentação e período de lactação dos animais e condições de processamento, como exemplo, a padronização da gordura do leite fluido.

### 3.2 Caracterização do chocolate ao leite de vaca, búfala, cabra e ovelha

Os resultados dos chocolates ao leite de vaca, búfala, cabra e ovelha para as características físico-químicas, quantificação de (-) epicatequina, (+) catequina, cafeína e teobromina e perfil de textura são mostrados na Tabela 2.

Tabela 2. Média  $\pm$  DP da caracterização físico-químicas, quantificação de (-) epicatequina, (+) catequina, cafeína e teobromina e perfil de textura dos chocolates ao leite de vaca, búfala, cabra e ovelha

Variáveis	Chocolate ao leite			
	Vaca	Búfala	Cabra	Ovelha
Gordura (%)	40,39 <sup>a</sup> $\pm$ 0,00	42,84 <sup>a</sup> $\pm$ 0,00	41,66 <sup>a</sup> $\pm$ 0,00	42,11 <sup>a</sup> $\pm$ 0,04
Proteína (%)	10,47 <sup>b</sup> $\pm$ 0,00	10,43 <sup>b</sup> $\pm$ 0,00	10,52 <sup>b</sup> $\pm$ 0,00	12,18 <sup>a</sup> $\pm$ 0,00
Umidade (%)	2,17 <sup>b</sup> $\pm$ 0,00	2,35 <sup>ab</sup> $\pm$ 0,00	2,41 <sup>ab</sup> $\pm$ 0,00	2,91 <sup>a</sup> $\pm$ 0,00
Resíduo mineral fixo (%)	2,56 <sup>a</sup> $\pm$ 0,00	2,18 <sup>c</sup> $\pm$ 0,00	2,41 <sup>b</sup> $\pm$ 0,00	2,50 <sup>ab</sup> $\pm$ 0,00
aw	0,15 <sup>a</sup> $\pm$ 0,00	0,15 <sup>a</sup> $\pm$ 0,00	0,17 <sup>a</sup> $\pm$ 0,00	0,17 <sup>a</sup> $\pm$ 0,02
Acidez (%)	3,54 <sup>b</sup> $\pm$ 0,92	4,57 <sup>ab</sup> $\pm$ 0,25	5,58 <sup>a</sup> $\pm$ 0,73	5,54 <sup>a</sup> $\pm$ 0,29
pH	5,91 <sup>a</sup> $\pm$ 0,09	5,55 <sup>bc</sup> $\pm$ 0,03	5,45 <sup>c</sup> $\pm$ 0,11	5,68 <sup>b</sup> $\pm$ 0,05
L*	25,41 <sup>a</sup> $\pm$ 1,97	25,19 <sup>a</sup> $\pm$ 0,98	25,18 <sup>a</sup> $\pm$ 0,80	24,88 <sup>a</sup> $\pm$ 1,37
a*	8,79 <sup>a</sup> $\pm$ 0,18	6,74 <sup>b</sup> $\pm$ 0,51	8,46 <sup>a</sup> $\pm$ 0,85	7,36 <sup>ab</sup> $\pm$ 0,56
b*	7,62 <sup>a</sup> $\pm$ 0,47	4,26 <sup>b</sup> $\pm$ 1,04	7,00 <sup>a</sup> $\pm$ 1,34	5,40 <sup>ab</sup> $\pm$ 1,14
Tamanho de partícula ( $\mu$ m)	21,00 <sup>a</sup> $\pm$ 0,00	17,00 <sup>a</sup> $\pm$ 0,00	19,00 <sup>a</sup> $\pm$ 0,00	21,00 <sup>a</sup> $\pm$ 0,00
Teobromina (mg/100g)	45,25 <sup>a</sup> $\pm$ 2,83	50,32 <sup>a</sup> $\pm$ 6,20	50,17 <sup>a</sup> $\pm$ 4,22	46,12 <sup>a</sup> $\pm$ 5,80
Catequina (mg/100g)	4,35 <sup>a</sup> $\pm$ 0,73	4,01 <sup>a</sup> $\pm$ 1,15	4,43 <sup>a</sup> $\pm$ 0,63	5,20 <sup>a</sup> $\pm$ 0,65
Cafeína (mg/100g)	5,91 <sup>a</sup> $\pm$ 0,43	5,87 <sup>a</sup> $\pm$ 6,20	6,14 <sup>a</sup> $\pm$ 4,22	5,84 <sup>a</sup> $\pm$ 0,45
Epicatequina (mg/100g)	13,35 <sup>a</sup> $\pm$ 7,11	13,59 <sup>a</sup> $\pm$ 3,98	17,49 <sup>a</sup> $\pm$ 4,19	14,08 <sup>a</sup> $\pm$ 3,82
Dureza (N)	36,27 <sup>a</sup> $\pm$ 1,20	24,34 <sup>b</sup> $\pm$ 5,04	31,70 <sup>ab</sup> $\pm$ 1,61	27,17 <sup>ab</sup> $\pm$ 4,87

DP = desvio padrão. <sup>a,b,c</sup>Médias de mesma letra não diferem entre si ( $p > 0,05$ ) pelo teste Tukey.

Para as variáveis físico-químicas proteína, umidade, resíduo mineral fixo, acidez, pH, coordenadas a\* e b\* houve diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ) entre as amostras.

O teor de gordura dos chocolates variou de 40,39% a 42,84%. Teor de gordura, umidade e tamanho de partícula influenciam nos aspectos sensoriais (derretimento) e liberação de sabor no chocolate (Efraim et al., 2013). A gordura no chocolate tem a função de cobrir todas as outras partículas e assim permitir o fluxo para a moldagem. Quando o chocolate está em contato com a temperatura da cavidade bucal, a gordura derrete e o torna com aspecto cremoso devido à função de cobrir as demais partículas (Beckett et al., 2011; Metin et al., 2012). Os diferentes teores de gordura no leite em pó não influenciaram no teor de gordura do chocolate.

O teor de proteína para chocolate ao leite de ovelha (12,18%) foi maior quando comparado os chocolates das outras espécies (Tabela 2). A proteína do leite tem influência no sabor e na cremosidade do chocolate, e junto com a lecitina age como um agente emulsificante, fazendo com que as partículas de açúcar sejam envolvidas pela gordura, e assim o chocolate possa apresentar boas características de textura (Beckett et al., 2011; Afoakwa, 2016).

A umidade também interfere nas propriedades de textura do chocolate (Aidoo et al., 2014). Para esta variável houve diferença significativa ( $p > 0,05$ ) entre as amostras, sendo o chocolate ao leite de ovelha com maior valor (2,91%) e o chocolate ao leite de vaca com o menor valor (2,17%). Todos os chocolates atenderam aos parâmetros legais com teor de umidade inferior a 3,0% (Brasil, 2005). Um chocolate com elevado teor de umidade favorece o defeito chamado *sugar bloom*, pois a alta umidade dissolve o açúcar à medida que a água evapora e os cristais de açúcar permanecem na superfície, tornando-a branca (Gibson et al., 2018).

A atividade de água é um dos parâmetros mais importantes para determinar a estabilidade de um produto, pois em atividade menor que 0,6 nenhum micro-organismo é capaz de se multiplicar. A  $a_w$  no chocolate pode ser influenciada pelas condições da matéria-prima,

temperatura e umidade durante o refino e a conchagem (Winkler et al., 2014; Toker et al., 2018). Todos os chocolates estudados podem ser considerados microbiologicamente estáveis, visto que  $a_w$  variou entre 0,15 e 0,17.

Geralmente chocolates com elevada acidez apresentam uma quantidade elevada de ácidos orgânicos, principalmente ácido acético. O pH de 5,7 é considerado ideal para um chocolate (Brito e Narain, 2003; Afoakwa, 2016). No presente estudo o pH variou de 5,91 (chocolate ao leite de vaca) a 5,45 (chocolate ao leite de cabra). Esta variação observada entre os diferentes chocolates pode ter ocorrido devido aos leites das diferentes espécies utilizados nas formulações ou condições de processamento, visto que a umidade do ar influencia na volatinização destes ácidos presentes no nibs.

A cor é a propriedade dos materiais em absorver e refletir luz, e para qualquer alimento é um dos parâmetros que exerce influência na aceitação do produto pelo consumidor. A cor de um alimento pode ser influenciada pela textura, tamanho da amostra e luminosidade em torno da mesma, e por ser um parâmetro subjetivo também é influenciado pelo observador.

O sistema CIE  $L^*a^*b^*$  é definido em três eixos perpendiculares, o eixo  $L^*$  varia de 0 (preto) a 100 (branco) e os eixos referentes à cromaticidade  $a^*$  varia do verde (-) ao vermelho (+) e à cromaticidade  $b^*$  do azul (-) ao amarelo (+) (MacDougall, 2001). O parâmetro  $L^*$  indica luminosidade, ou seja, quanto menor o valor de  $L^*$  mais escura a amostra. No chocolate a caramelização e a reação de Maillard são responsáveis pela cor escura (Aidoo et al., 2014). Para este parâmetro não houve diferença significativa, com valores entre as amostras variando de 24,88 a 25,18.

Os chocolates apresentaram valores positivos para as coordenadas  $a^*$  (vermelho) e  $b^*$  (amarelo) e de acordo com Silva et al., (2019) a combinação das coordenadas positivos de  $a^*$  e  $b^*$  resultam na coloração marrom, cor característica do chocolate.

O tamanho de partícula influencia diretamente no comportamento reológico e na percepção sensorial. Os chocolates produzidos com leite de vaca, búfala, cabra e ovelha

apresentaram tamanho de partícula variando entre 17 a 21 $\mu$ m, não apresentando diferença significativa ( $p > 0,05$ ) entre as amostras.

De acordo com Toker et al. (2018) chocolate consiste em uma mistura de componentes com tamanho de partículas variando de 1 a 50 $\mu$ m. Entretanto, chocolates com tamanho de partícula maior do que 25 $\mu$ m levam à sensação de arenosidade, que é a sensação de partículas ásperas após o chocolate ser derretido na boca (Bohme et al., 2016).

Para Luccas (2014), chocolates com tamanho de partícula menor que 20 $\mu$ m podem elevar a viscosidade do chocolate, pois a maior área de contato das partículas aumenta a tensão superficial entre elas e Gibson et al. (2018) relataram que os suíços e alemães tendem a refinar o chocolate para tamanho de partícula menor do que 20 $\mu$ m. Desta forma, os chocolates ao leite produzidos apresentam tamanho de partícula compatíveis com padrões de qualidade preconizados em todo o mundo.

### **3.3 Teores de teobromina, cafeína, (+) catequina e (-) epicatequina nos chocolates**

É possível observar (Tabela 2) que não houve diferença significativa ( $p > 0,05$ ) para os teores de teobromina, cafeína, (+) catequina e (-) epicatequina nos chocolates produzidos. Os compostos fenólicos (+) catequina e (-) epicatequina possuem capacidade antioxidante e conferem o sabor amargo ao chocolate, e sua concentração no chocolate está relacionada com as reações de polimerização durante o processo de fabricação, variedade e genética do cacau, porcentagem de massa de cacau no chocolate, a temperatura no processo de torra das amêndoas e o processo de alcalinização do cacau (Alanon et al., 2016; Mudenuiti et al., 2018).

A concentração de (+) catequina variou de 4,01 mg/100g (chocolate ao leite de búfala) a 5,20 mg/100g (chocolate ao leite de ovelha), e a concentração de (-) epicatequina variou de 13,35 mg/100g (chocolate ao leite de vaca) a 17,49 mg/100g (chocolate ao leite de cabra). Todorovic et al. (2015) estudando os teores de polifenóis, metilxantinas e capacidade antioxidantes de chocolates ao leite produzidos na Serbia, encontraram valores de (+) catequina

variante entre as amostras de 1,0 a 7,7 mg/100g e de (-) epicatequina variando entre 13,6 a 14,7 mg/100g valores em consonância quando comparado com este trabalho.

A concentração de teobromina entre as amostras estudadas variou de 45,25 mg/100g a 50,32 mg/100g, e para a cafeína a concentração variou de 5,84 mg/100g a 6,14 mg/100g. De acordo com Franco et al. (2013), o teor de teobromina e cafeína no chocolate ao leite é de 1,004 mg/100g e 0,056 mg/100g, respectivamente. Enquanto que Silva et al (2021) para chocolate ao leite de búfala encontraram valores que variaram de 432,28-599,70 mg/100g para teobromina e 74,28-97,95 mg/100g para cafeína.

A teobromina é o principal alcaloide do cacau, seguido da cafeína. Essas metilxantinas estão relacionadas com benefícios à saúde, melhora do humor, relaxamento muscular e redução da pressão arterial (Alves et al., 2021). Assim como os compostos fenólicos, os teores de metilxantinas são dependentes da variedade, e condições de pós-colheita do cacau e processamento do chocolate (Gil et al., 2021).

### **3.4 Textura dos chocolates**

Os valores de dureza variaram de 36,27N (chocolate ao leite de vaca) a 24,34N (chocolate ao leite de búfala) (Tabela 2). Houve diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ) entre as amostras.

A textura é um dos parâmetros importantes para ser avaliado em chocolates, pois está diretamente associado à aceitação deste produto. Uma das características que o consumidor espera no chocolate é que ele seja firme ao quebrar na boca, e fatores associados à matéria-prima (qualidade do cacau, quantidade e tipo de gordura, tipo do açúcar) e etapas de processamento (mistura dos ingredientes, temperatura de conchagem, refino e resfriamento) influenciam diretamente na textura do chocolate (Ligeza et al., 2018; Toker et al., 2019).

A manteiga de cacau é o principal responsável pela dureza no chocolate devido ao seu perfil de ácidos graxos que contém cerca de 57% de triacilgliceróis do tipo palmítico-oleico-

esteárico (33,7%), esteárico-oleico-esteárico (23,3%) e palmítico-oleico-palmítico (14,4%) (Luccas et al., 2014, Metin et al., 2012).

No entanto, chocolates ao leite possuem uma textura mais macia devido à presença da gordura láctea. Os cristais são formados no chocolate devido à manteiga de cacau que torna a estrutura do chocolate compacta. Se a formulação do chocolate apresentar leite, a gordura láctea participa desta compactação, por isso o chocolate ao leite tende a ter textura mais macia. Este fenômeno é chamado de gordura eutética, e acontece quando duas gorduras (triglicerídeos de médio ponto de fusão da gordura do leite; e triglicerídeos de alto ponto de fusão da manteiga de cacau) são adicionadas, tornando a mistura mais macia (Lonchamp et al., 2004; Beckett et al., 2011; Metin et al., 2012; Luccas et al., 2014).

Os chocolates ao leite de búfala, cabra e ovelha apresentaram menores valores para dureza (Tabela 2), sendo, portanto, mais macio. A gordura do leite de búfala e ovelha é composto por 33% e 34% de ácidos graxos insaturados, respectivamente (Cruz et al., 2016), e cerca de 33,3% da gordura do leite de cabra é composto por ácidos graxos de cadeia curta (Silva et al., 2015). Independente do teor de gordura do chocolate ao leite, o perfil de ácidos graxos da gordura do leite de cada espécie pode ter contribuído para a maciez dos chocolates ao leite de búfala, cabra e ovelha.

Silva et al. (2019) aplicando a análise multivariada para correlação entre medidas analíticas e perfil sensorial de chocolate ao leite de cabra encontraram valores de dureza de 45,77N para chocolate com 60% de derivados de cacau e 7% de leite em pó de cabra. Enquanto que Lapcikova et al. (2022) encontraram valor de 73N para chocolate com 40% de derivados de cacau e 26% de leite desnatado. Valores esses maiores do que o encontrado neste trabalho.

#### **4.5 Determinação do tempo de parteleira através do índice de brancura e polimorfismo**

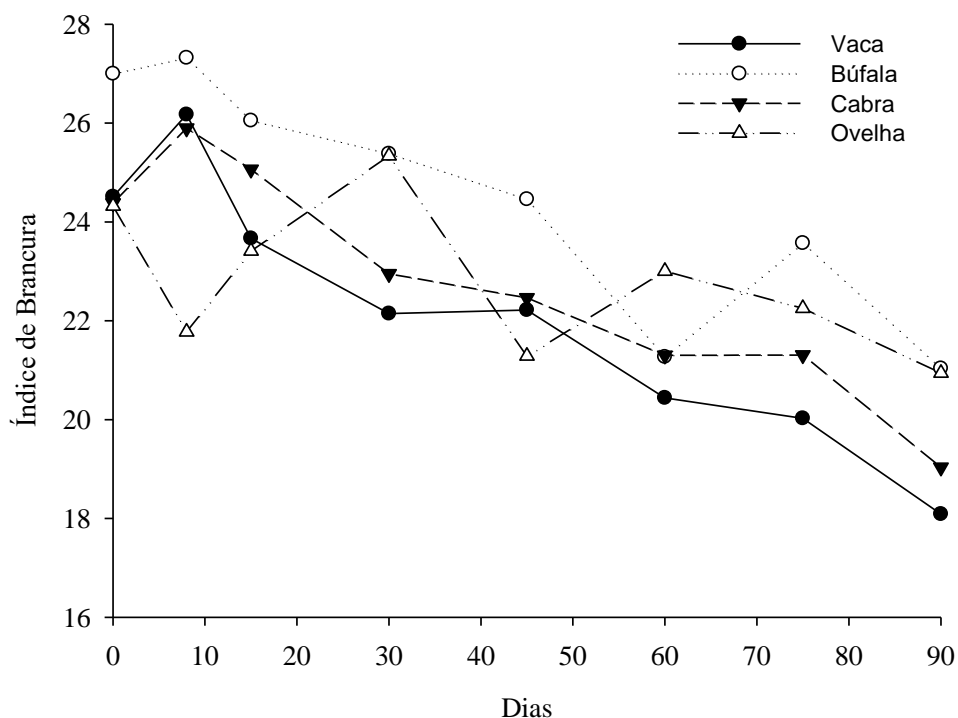
A análise de índice de brancura pode ser correlacionada com o fenômeno *fat bloom*, que é a migração da gordura da manteiga de cacau para a superfície do chocolate, tornando a



superfície esbranquiçada e influenciando nas propriedades mecânicas, aparência, qualidade e comercialização do chocolate (Toker et al., 2018). O índice de brancura foi avaliado durante 90 dias (Figura 1) e foi possível observar uma diminuição deste parâmetro ao longo do tempo e menor que 30 para todas as amostras, comportamento semelhante encontrado por Buscato et al. (2018) em chocolate intenso.

Este baixo valor pode estar relacionado à temperatura de armazenamento do chocolate que foi de 7°C, uma vez que temperaturas de armazenamento inferiores a 25°C por curto período de tempo não afetam a microestrutura do chocolate (Beckett, 2011). De acordo com Son et al., (2018) com valores acima de 35 para índice de brancura é possível visualizar a gordura na superfície do chocolate.

Figura 1. Índice de brancura de chocolates ao leite de vaca, búfala, cabra e ovelha durante o tempo de armazenamento de 90 dias a 7°C



Uma das causas para a ocorrência do *fat bloom* são a temperagem e temperatura de armazenamento. Durante a temperagem é formada uma grande quantidade de pequenos cristais de gordura com alto ponto de fusão, e após o resfriamento, o chocolate passa a apresentar um aspecto sólido, homogêneo, gordura cristalina e estável ao calor. Quando a temperatura e tempo

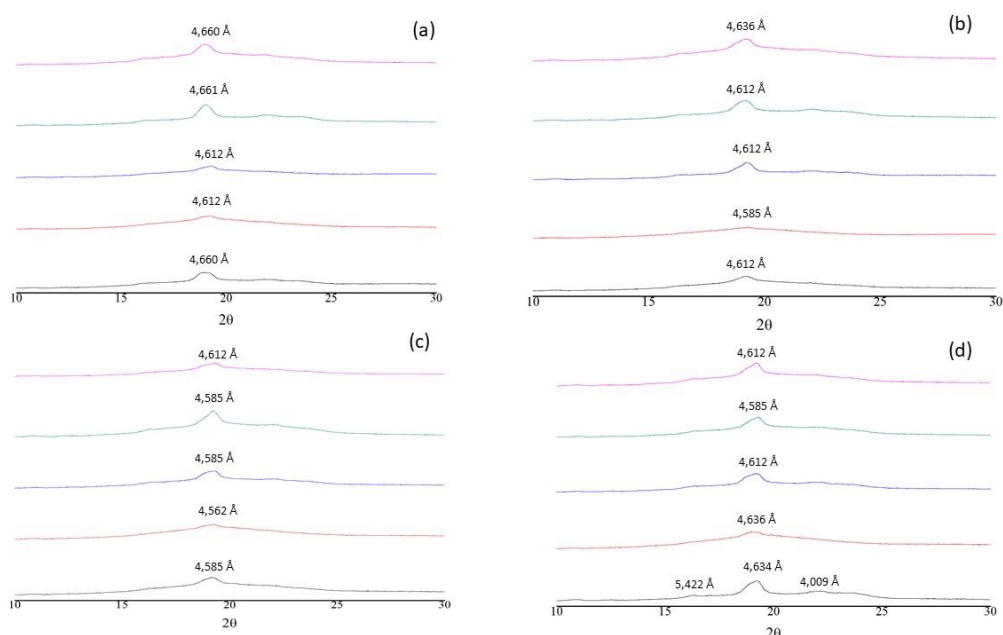
da temperagem não são bem controlados ocorre a formação de cristais instáveis que possuem ponto de fusão menor do que os cristais estáveis, assim, mudança de temperatura durante o armazenamento funde os cristais instáveis e ocorre migração desses cristais de gordura e a sua recristalização na superfície, tornando assim a superfície do chocolate esbranquiçada (Afoakwa et al., 2007; Garti et al., 2012; Metin et al., 2012; Toker et al., 2018).

Para ocorrer a formação de *fat bloom* é preciso que o cristal tenha tamanho e formato para refletir a luz e ocorrer a mudança na aparência da superfície do chocolate (Metin et al., 2012). A gordura do leite retarda o processo de *fat bloom*, uma vez que é líquida a 38°C, esta gordura migra através do chocolate e empurra parte da gordura para a superfície onde se cristaliza. Isto reduz a probabilidade da manteiga de cacau mudar o seu estado cristalino para forma instável, e assim retarda a formação do *fat bloom*. Assim, quanto maior a quantidade de gordura do leite no chocolate, mais efeito anti *fat bloom* o mesmo terá (Nunes et al., 2010; Metin et al., 2012; Luccas et al., 2014; Beckett et al., 2019; Toker et al., 2020). Portanto, os chocolates analisados não formaram *fat bloom* durante 90 dias de armazenamento a 7°C.

A manteiga de cacau pode existir em seis formas polimórficas (I, II, III, IV, V,IV) em ordem crescente de ponto de fusão (Afowaka, 2016). Por meio da técnica de DRX é possível determinar a mudança na distribuição dos cristais de gordura do chocolate e consequente formação de *fat bloom* (Son et al., 2018).

A forma dos cristais da manteiga de cacau dos chocolates ao leite de vaca, búfala, cabra e ovelha foi avaliado por difração de raios-X na faixa de  $2\theta$  de 10-30 , variando o tempo em 0, 3, 6, 9 e 12 meses de armazenamento a 7°C (Figura 2).

Figura 2. Difratomogramas de difração de raios-X para chocolates ao leite de (a) vaca; (b) búfala; (c) cabra; (d) ovelha.



Legenda: Linha preta: tempo 0; vermelha: 3 meses; azul: 6 meses; verde: 9 meses; rosa: 12 meses de armazenamento.

Para as amostras de chocolate ao leite de vaca (a), búfala (b) e cabra (c) foi possível observar uma linha de difração em cada amostra com intensidades variando de 4,565 Å a 4,661 Å para todos os tempos de armazenamento. No primeiro dia de armazenamento do chocolate ao leite de ovelha (d) foi possível observar a presença de três intensidades 5,422 Å, 4,634 Å e 4,009 Å e a presença de uma linha de difração para os demais tempos.

De acordo com Biswas et al. (2017) linhas de difração em torno de 4,5 Å a 4,6 Å estão relacionados à forma polimórfica V dos cristais de manteiga de cacau. A forma V é a mais desejável pois indica que o chocolate foi bem temperado, conferindo uma aparência brilhante, bom snap e desmoldam facilmente (Li et al., 2019).

É possível observar que não houve alteração significativa nas linhas de difração nas amostras (Figura 2) indicando que os chocolates se mantiveram estáveis durante 12 meses a 7°C.

A análise de DRX foi utilizada para avaliar o efeito da temperatura, tempo e composição de gordura na alteração dos cristais de gordura no chocolate intenso por Silva et al. (2017), a pesquisa mostrou que chocolates armazenados a 20°C por 100 dias não houve alteração polimórfica dos cristais da manteiga de cacau, com linha de difração em torno de 4,6 Å, ou seja, cristais de gordura na forma polimórfica V. De acordo com Caparosa et al. (2018), quando o chocolate é bem temperado e não ocorre oscilações na temperatura de armazenado essas etapas retardam o processo de alteração da microestrutura dos cristais da manteiga de cacau.

### **3.6 Análises Microbiológicas**

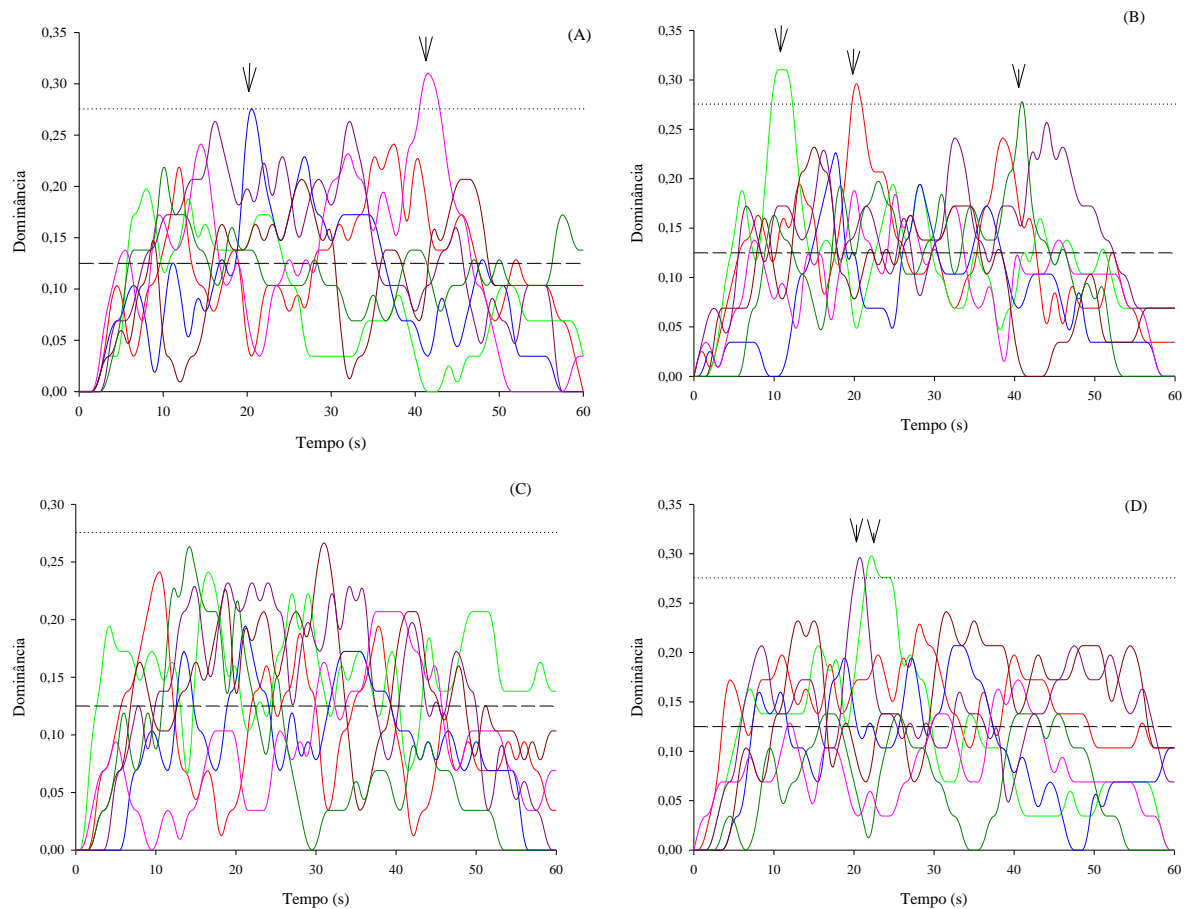
Brasil, (2019) estabelece que para chocolates a tolerância para a bactéria Enterobacteriaceae (*Escherichia coli*) é de 10 NMP.g<sup>-1</sup> e ausência de *Salmonella* sp em 25g de produto. Os chocolates analisados apresentaram para *Escherichia coli* contagem menor que 3,0 NMP.g<sup>-1</sup> para os chocolates ao leite de vaca, búfala e ovelha, e contagem de 3,6 NMP.g<sup>-1</sup> para o chocolate ao leite de cabra. Para análise de *Salmonella* sp. os resultados foram ausentes para todos os chocolates. Verificou-se que todos os parâmetros estavam de acordo com o estabelecido pela Legislação, indicando que o processamento dos chocolates foi realizados em boas condições higiênico-sanitárias, sendo possível a realização das análises sensoriais, sem risco para a saúde dos provadores.

### **3.7. Análise sensorial**

#### **3.7.1. *Temporal Dominance of Sensations* - TDS**

Para a análise de TDS os atributos acidez, cremosidade, sabor de chocolate, rancidez, sabor de leite, amargo e doce foram analisados. As curvas TDS mostram as taxas de dominância e o tempo para cada amostra (Figura 3). Quanto maior a taxa de dominância, maior é a concordância entre os julgadores. A linha “nível de significância” é o valor mínimo para ser considerada a dominância significativa ( $p \leq 0,05$ ), enquanto que a linha “nível do acaso” é a taxa de dominância que um atributo pode obter ao acaso (Pneau et al., 2009).

Figura 3. Dominância Temporal das Sensações dos chocolates ao leite de vaca (A), búfala (B), cabra (C) e ovelha (D).



Legenda: Linha nível de significância (--) e nível de acaso (...). (Vermelho: acidez, Verde claro: cremosidade, Azul: sabor chocolate, Rosa: rancidez, Vermelho escuro: sabor leite, Verde escuro: amargo, Rosa escuro: sabor doce)

De acordo com os dados obtidos (Figura 3), os atributos sabor de chocolate e rancidez foi dominante para o chocolate ao leite de vaca, com dominância de 1,4 seg. e 2,2 seg., respectivamente. Para o chocolate ao leite de búfala os atributos cremosidade, acidez e amargo foram dominantes, com tempo de dominância da sensação de 2,4 seg, 1,4 seg. e 0,9 seg., respectivamente. Os atributos dominantes para o chocolate ao leite de ovelha foram doce e cremosidade com tempo de dominância de 1,4 seg. e 3,4 seg., respectivamente.

A cremosidade do chocolate é influenciada pelos sólidos de leite e tamanho de partícula. A dominância da sensação de cremosidade nos chocolates ao leite de búfala e ovelha pode estar relacionado ao maior teor da fração beta caseína, quando comparada com os demais leites. A beta-caseína tem maior poder surfactante devido à sua região N-terminal polar e região C-

terminal apolar. Quando a proteína tem maior capacidade surfactante, tem maior poder de formação de película e adsorção na interface dos outros componentes do chocolate, proporcionando assim a maior sensação de cremosidade. O maior tempo de duração desta cremosidade no leite de ovelha pode estar relacionada à maior quantidade da fração beta-caseína neste leite (Sgarbieri, 2012; Domadaran, 2018).

O sabor de chocolate foi dominante no chocolate ao leite de vaca. A massa de cacau é o ingrediente responsável pelo sabor característico do chocolate, sendo a torra a etapa principal para a formação deste sabor. Notas frutais (cítricas, secas, tropicas, entre outros), caramelos, laticínios, terrosos, especiarias, flores, podem ser atribuídas ao sabor de chocolate (Engeseth e Pangan, 2018). Possivelmente por ser o chocolate mais comum no mercado, os julgadores associaram o chocolate ao leite de vaca ao sabor chocolate.

Para o chocolate ao leite de búfala o sabor amargo e a acidez foram as sensações dominantes. O sabor amargor pode ser em decorrência do rápido derretimento deste chocolate, e assim os precursores do amargor foram rapidamente percebidos pelos provadores.

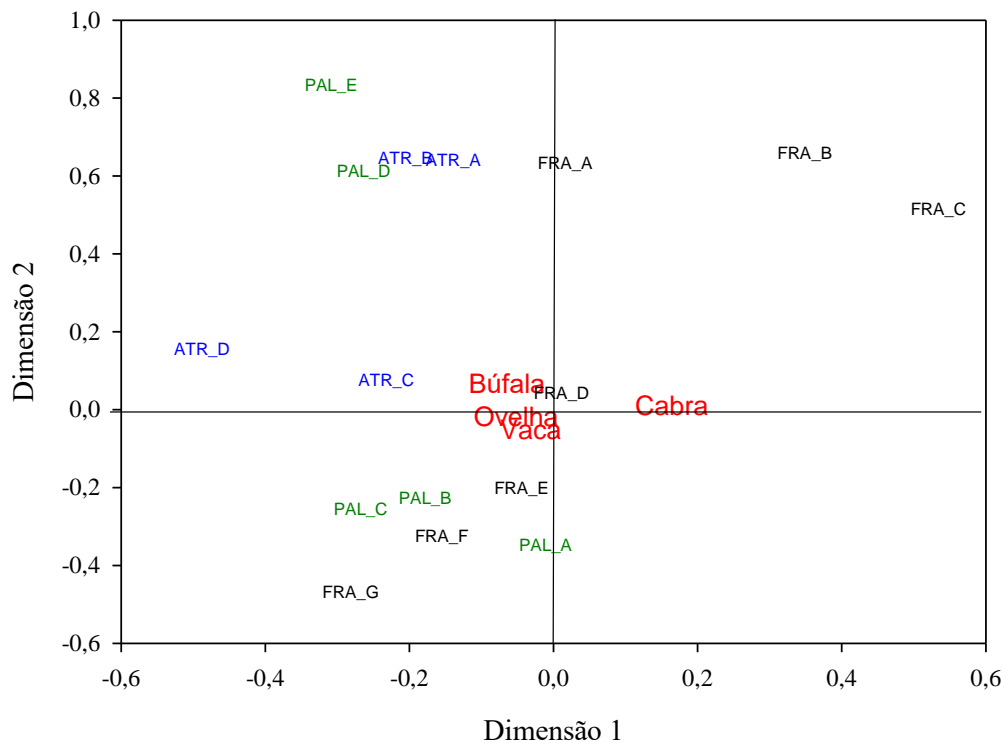
#### ***4.7.2 Check-All-That-Apply - CATA***

A partir do resultado do qui-quadrado, considerando um nível de significância de 5% com grau de liberdade de 135, obteve-se uma probabilidade de erro correspondente a 0,01. Com esse resultado, pode-se afirmar que existiu associação entre os chocolates ao leite de vaca, búfala, cabra e ovelha e os atributos, palavras e frases obtidas na ficha CATA.

As variáveis foram agrupadas graficamente em dois eixos (dimensão 1 e dimensão 2) (Figura 4), é possível observar que as frases e palavras presentes no quadrante inferior esquerdo (relaxamente, saboroso, quando estou estressado, chocolate é uma explosão de sabores, chocolate vicia e chocolate amargo é melhor que muita gente) são associados ao chocolate ao leite de vaca e ovelha. As frases chocolate prazeroso e chocolate é uma pedida excelente para um dia cheio estão associados ao chocolate ao leite de cabra. Os atributos, frases e palavras

presentes no quadrante superior esquerdo (amo chocolate, hum, bom derretimento, cor de chocolate, amargo, aroma de chocolate, cremosidade ideal, infância e quando estou de TPM) foram associado ao chocolate ao leite de búfala. O atributo cremosidade do chocolate ao leite de búfala percebido durante a análise CATA foi um dos atributos dominantes na análise TDS.

Figura 4. Análise de Correspondência dos atributos, palavras e frases associados aos chocolates ao leite de vaca, búfala, cabra e ovelha obtidos pelo método CATA



Legenda: FRA\_A: amo chocolate; FRA\_B: chocolate é prazeroso; FRA\_C: chocolate é uma pedida excelente após um dia cheio; FRA\_D: hum; FRA\_E: chocolate é uma explosão de sabores; FRA\_F: chocolate vicia; FRA\_G: chocolate amargo é melhor que muita gente, ATR\_A: bom derretimento; ATR\_B: cor de chocolate amargo; ATR\_C: aroma de chocolate; ATR\_D: cremosidade ideal; PAL\_A: quando estou estressado; PAL\_B: saboroso; PAL\_C: relaxamento; PAL\_D: quando estou com TPM; PAL\_E: infância.

Com relação às palavras e frases marcadas pelos provadores no CATA pode-se decorrer o chocolate é considerado um dos alimentos mais desejados, devido ao gosto, sensação de prazer, lembrança da infância e a sensação de felicidade após o consumo. O consumo moderado pode auxiliar na redução de emoções negativas, e o consumo de chocolate pode ser benéfico para a saúde, devido aos altos níveis de polifenóis, o chocolate possui efeitos antioxidantes e cardioprotetores (Aprotosoia et al., 2016; Meier et al., 2017; Allgrove et al., 2018).

A teobromina, cafeína, doçura e a gordura estão associadas ao desejo do consumo de chocolate. A combinação de gordura e açúcar contribui para a liberação das substâncias no corpo como dopamina e dinorfina que contribuem para o gosto da comida (Nasser et al., 2011). Por isso muitas frases e palavras (Figura 4) associadas ao desejo de comer mais chocolate, sensação de prazer e a fuga de sensações desagradáveis foram marcadas pelos provadores.

### 3.7.3. Teste de aceitação e intenção de compra

Para a análise sensorial as notas médias obtidos no teste de aceitação do chocolate ao leite de vaca, búfala, cabra e ovelha, avaliando os atributos cor, aroma, sabor, textura e impressão global são mostrados na Tabela 3. Houve diferença ( $p \leq 0,05$ ) para os atributos aroma, sabor e impressão global entre os chocolates.

Tabela 3. Média das notas obtidas no teste de aceitação para os chocolates ao leite de vaca, búfala, cabra e ovelha

Chocolates ao leite	Atributos				
	Cor	Aroma	Sabor	Textura	Impressão global
Vaca	8,20 <sup>a</sup>	7,56 <sup>a</sup>	7,00 <sup>a</sup>	7,60 <sup>a</sup>	7,40 <sup>a</sup>
Búfala	8,20 <sup>a</sup>	7,30 <sup>ab</sup>	7,07 <sup>a</sup>	7,70 <sup>a</sup>	7,36 <sup>a</sup>
Cabra	8,19 <sup>a</sup>	6,97 <sup>b</sup>	5,90 <sup>b</sup>	7,57 <sup>a</sup>	6,62 <sup>b</sup>
Ovelha	8,28 <sup>a</sup>	7,37 <sup>ab</sup>	7,12 <sup>a</sup>	7,54 <sup>a</sup>	7,35 <sup>a</sup>

<sup>a,b</sup>Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si ( $p > 0,05$ ) pelo teste Tukey.

A cor influencia nas características sensoriais do chocolate e este atributo obteve uma média de 8, que corresponde ao “gostei muito”. Com relação ao aroma houve diferença estatística ( $p \leq 0,05$ ) para o chocolate ao leite de ovelha e alguns comentários sobre o aroma foram citados: “O aroma do chocolate está bem baixo, logo promove uma acidez alta também” e “Não gostei do aroma”.

Entre os atributos sensoriais responsáveis pela aceitação do chocolate o sabor é considerado o principal (Hinne et al., 2020). O chocolate ao leite de cabra foi o menos aceito,



com nota 5,90, o que pode está relacionado a alta concentração dos ácidos graxos caproico, caprílico e cáprico que dão sabor e aroma característicos ao leite e que possivelmente influenciou na aceitação dos chocolates (Silva et al., 2015).

Para o sabor os comentários relatados para o chocolate ao leite de cabra foram que “o sabor do leite mascara todos os outros sabores”, e para os chocolates ao leite de vaca, búfala e ovelha os comentários com relação ao “sabor mais amargo do chocolate quando comparado ao chocolate ao leite presente no mercado” e a “sensação de acidez nos chocolates” foram citados.

Mais de 600 compostos voláteis já foram identificados no chocolate, tornando este alimento mais complexo em sabores. A qualidade das amêndoas, fermentação, torrefação, conchagem, e presença de açúcar e leite influenciam no sabor do chocolate (Kongor et al., 2016; Ascrizzi et al., 2017).

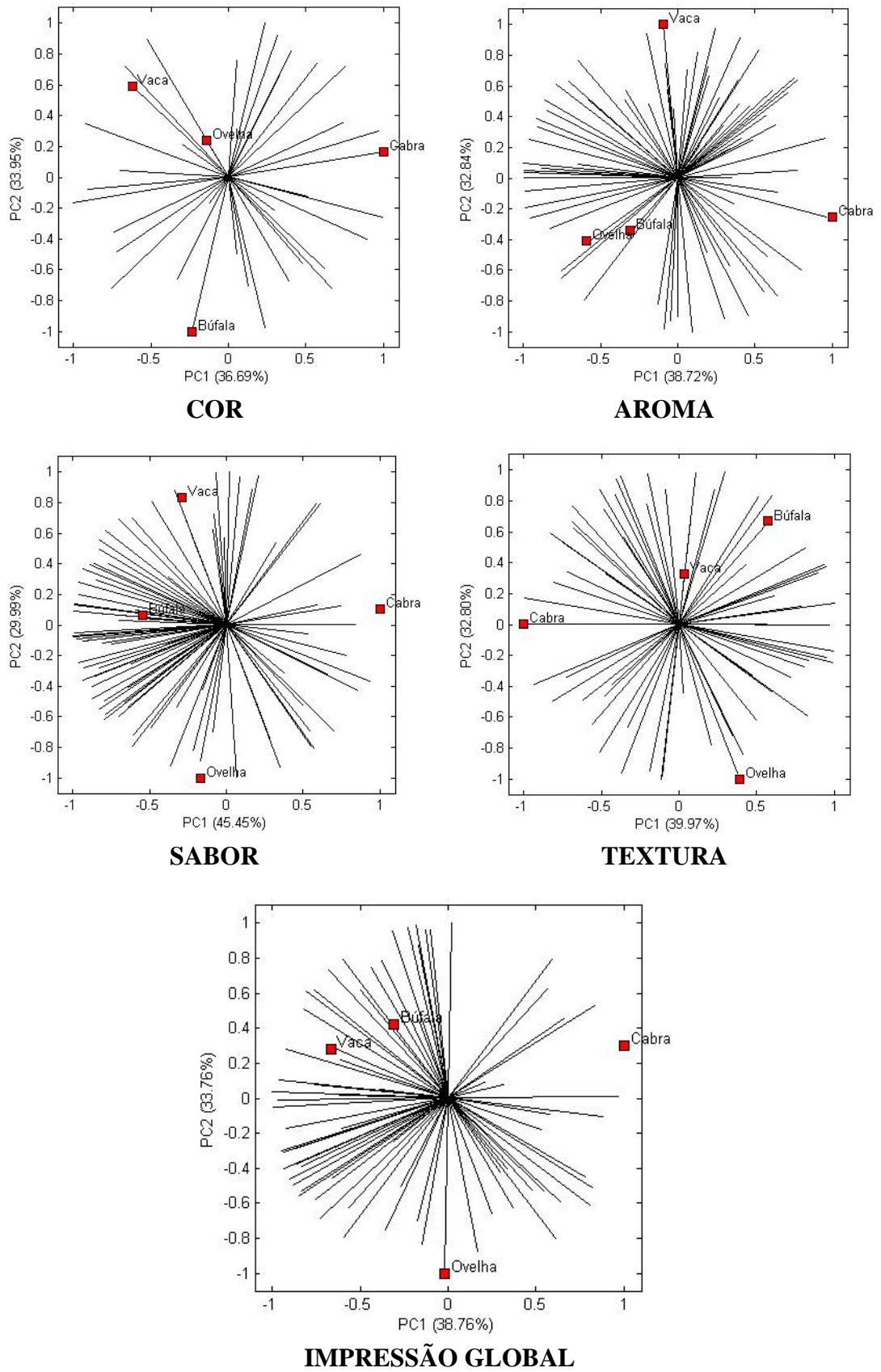
O leite contribui para o leve sabor caramelo e isto depende da velocidade com os quais os componentes do sabor alcançam os receptores da boca e do nariz, estando diretamente relacionado com a viscosidade do chocolate. Durante a conchagem, a massa de chocolate é mantida aquecida por mais de 24 horas, com isso quando a gordura do leite é aquecida são gerados componentes importantes para o sabor como metil, cetonas e lactonas e durante o aquecimento as proteínas participam da reação de Maillard, contribuindo para o sabor do chocolate (Beckett et al., 2019; Gibson et al., 2018, Toker et al., 2019; Toker et al., 2020).

Para textura não houve diferença significativa entre as amostras de chocolates ( $p > 0,05$ ), e o comentário “derretimento rápido” foi citado para todos os chocolates. O processo de temperagem interfere nas características de brilho, dureza e derretimento do chocolate. A manteiga de cacau é sólida em temperatura ambiente, entretanto na temperatura próxima do palato ( $37^{\circ}\text{C}$ ), a manteiga tem a capacidade de derreter completamente quando os cristais formados estão na forma V, indicando um bom processo de temperagem do chocolate (Afoakwa et al., 2016; Caparosa et al., 2019; Silva et al., 2019). Portanto, o processo de temperagem e a manteiga de cacau podem estar relacionados com o derretimento rápido para todas as amostras.

O mapa de preferência interno dos chocolates ao leite foi construído de forma a considerar as preferências individuais de cada provador. Cada provador é representado por um vetor na interseção do ponto zero, apontando na direção de melhor preferência da amostra (Figura 5). É possível observar que para os atributos cor, aroma, sabor, textura e impressão global as duas primeiras dimensões (CP1 e CP2) explicam mais de 70% da variabilidade entre os indivíduos com relação as diferentes amostras, mostrando que as amostras diferem entre si (Lawless e Heymann, 2010).

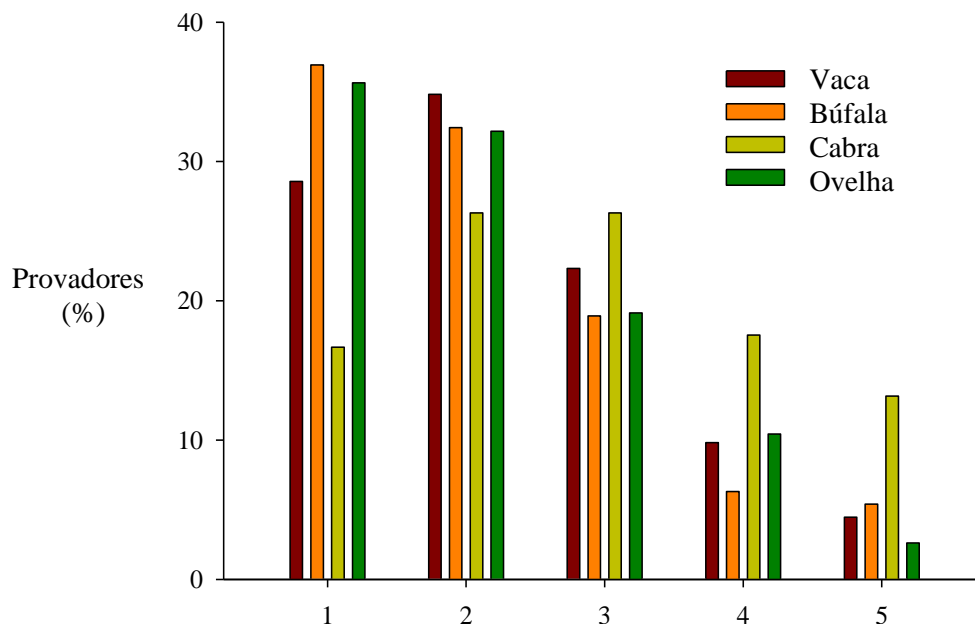
É possível observar por meio do eixo da CP1 que a amostra de chocolate ao leite de cabra é diferente das demais para todos os atributos. Para o atributo cor é possível observar que as amostras de chocolate ao leite de vaca e ovelha são parecidas devido a proximidade dessas amostras no gráfico, o mesmo acontece com chocolate ao leite de búfala e ovelha para o atributo aroma, chocolate ao leite de vaca e búfala para o atributo textura, e chocolate ao leite de búfala e vaca para o atributo impressão global. A maior concentração de vetores na direção das amostras indica maior preferência, este comportamento acontece com chocolate ao leite de búfala para o atributo sabor e para os chocolates ao leite de vaca e búfala para o atributo impressão global, em contrapartida uma pequena quantidade de vetores direcionadas para o chocolate ao leite de cabra para os atributos aroma, sabor e impressão global indica ser a menos aceita.

Figura 5. Mapa de preferência interno para as amostras de chocolate ao leite de vaca, búfala, cabra e ovelha.



A análise de intenção de compra fornece informações sobre a atitude do consumidor caso este produto esteja disponível no mercado. Foi possível observar (Figura 6) que o número de provadores que “certamente não comprariam o produto” foi maior para o chocolate ao leite de cabra. Os chocolates ao leite de búfala e ovelha foram os chocolates com maior porcentagem de “certamente compraria o produto” e para o chocolate ao leite de vaca maior porcentagem para o “possivelmente compraria o produto”.

Figura 6. Intenção de compra dos chocolates ao leite de vaca, búfala, cabra e ovelha



- 1- Certamente compraria o produto; 2 – Possivelmente compraria o produto; 3 – Talvez compraria/Talvez não compraria; 4 – Possivelmente compraria o produto; 5 – Certamente não compraria o produto.

## 5 Conclusão

Os diferentes leites utilizados para produção dos chocolates impactaram nos teores de proteína, umidade, resíduo mineral fixo, acidez, pH,  $a^*$ ,  $b^*$  e dureza que permaneceram estáveis durante a vida de prateleira. Houve diferença na dominância dos atributos entre os julgadores

para os chocolates ao leite de vaca, búfala e ovelha, verificado pelo teste TDS. A análise CATA mostrou que o chocolate está associado ao desejo de consumo e de fuga dos sentimentos desagradáveis. Pela análise de aceitação e intenção de compra o chocolate ao leite de vaca, búfala e ovelha foram os mais aceitos. Portanto, a produção de chocolate ao leite de búfala, cabra e ovelha seria mais uma opção de consumo de chocolate, trazendo características distintas em consequência da particularidade de cada espécie.

## 6 Referências

- Abesinghe, A.M.N.I.; Vidanarachchi, J. K.; Islam, N.; Prakash, S.; Silva, K. F. S. T.; Bhandari, B.; Karim, M. A. Effects of ultrasonication on the physicochemical properties of milk fat globules of *Bubalus bubalis* (water buffalo) under processing conditions: A comparison with shear-homogenization. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 59, 102237, 2020.
- Afoakwa, E. O. *Chocolate Science and Technology*. segunda. Gana: Wiley-Blasckwell. 2016.
- Afoakwa, E. O.; Paterson, A.; Fowler, M. Factors influencing rheological and textural qualities in chocolate – a review. *Trends in Food Science & Technology*. 18, 290-298, 2007.
- Aidoo, R. P.; Afoakwa, E. O.; Dewettinck, K. Rheological properties, melting behaviours and physical quality characteristics of sugar-free chocolates processend using inulin/polydextrose bulking misterues sweetened with stevia and thaumatin extracts. *LWT – Food Science and Technology*. 62. 1-6, 2014.
- Alanon, M. E.; Castle, S. M.; Siswanto, P. J.; Cifuentes-Gómez, T.; Spencer, J. P. E. Assessment of flavanol stereoisomers and caffeine and theobromine content in commercial chocolates. *Food Chemistry*. 208, p. 177-184, 2016.
- Allgrove, J.; Davison, G. Chocolate/cocoa polyphenols and oxidative stress. *Polyphenols: Mechanisms of Action in Human Health and Disease*, 2<sup>a</sup> ed, Academic Press, 207-219, 2018.

AOAC. Association of Official Analytical Chemists. (2016). Official Methods of Analysis. (18<sup>th</sup> ed.), Washington: AOAC.

Aprotosoiaie, A. C.; Luca, S. V.; Miron, A. Flavor chemistry of cocoa and cocoa products – na overview. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 15, 73-91, 2016.

Ares, G.; Andrade, J. C. de; Antúnez, L.; Alcaire, F.; Swaney-Stueve, M.; Gordon, S.; Jaeger, S. R.; Hedonic product optimisation: CATA questions as alternatives to JAR scales. *Food Quality and Preference*. 55, 67-78, 2017.

Ares, G.; Reis, F.; Oliveira, D.; Antúnez, L.; Vidal, L.; Giménez, A.; Chheang, S. L.; Hunter, D. C.; Kam, K.; Roigard, C. M.; Paisley, A. G.; Beresford, M. K.; Jin, D.; Jaeger, S. R. Recommendations for use of balanced presentation order of terms in CATA questions. *Food Quality and Preference*, 46, 137-141, 2015.

Ascrizzi, R.; Flamini, G.; Tessieri, C.; Pistelli, L. From the raw seed to chocolate: Volatile profile of *Blanco de Criollo* in different phases of the processing chain. *Microchemical Journal*. 133, 474-479, 2017.

Beckett, S. T. Chocolate, function of milk. *Encyclopedia of Dairy Sciences*. 444-449, 2011.

Biswas, N.; Cheow, Y. L.; Tan, C. P.; Siow, L. F. Physical, rheological and sensorial properties, and bloom formation of dark chocolate made with cocoa butter substitute (CBS). *LWT – Food Science and Technology*. 82, p. 420-428, 2017.

Bohme, B., Symmank, C.; Rohm, H. Physical and sensory properties of chocolate made with lecithin of different origin. *European Journal of Lipid Science and Technology*. v. 118, 1839-1845, 2016.

Bommel, R. van; Stieger, M.; Schlich, P.; Jager, G. Duth consumers do not hesitate: Capturing implicit “no dominance” durations using Hold-down Temporal Dominance methodologies for sensations (TDS) and emotions (TDE). *Food Quality and Preference*. 71, 332-342, 2019.

Borges, M. V.; Alves, M. F.; Chaves, M. A.; Egito, A. S.; Gross, E.; Ferrão, S. P. B. Chemical, structural and proteomic profile of buffalo milk powder produced in mini spray dryer. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*. 16, 67-76, 2017.

Brasil, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Instrução Normativa nº 60, de 23 de dezembro de 2019 que “estabelece as listas de padrões microbiológicos para alimentos”, *Diário Oficial da União*. Brasília 26 de dezembro de 2019.

Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade de Chocolate e Chocolate Branco. RDC n.264, de 22 de setembro de 2005. *Diário Oficial da União*, Brasília, DF, 2005.

Brasil, Instrução Normativa nº 53, Regulamento Técnico Mercosul de Identidade e Qualidade do Leite em Pó. *Diário Oficial da União*, 1º outubro 2018.

Brito, E. S. de, Narain, N. Effect of pH and distillate volume on monitoring aroma quality of bittersweet chocolate. *Food Quality and Preference*. 14, 2019-226, 2003.

Buscato, M. H. M.; Hara, L. M.; Bonomi, E. C.; Calligaris, G. de A.; Cardoso, L. P.; Grimaldi, R.; Kieckbusch, T. G. Delaying fat bloom formation in dark chocolate by adding sorbitan monostearate or cocoa butter stearin. *Food Control*. 256, 390-396, 2018.

Caparosa, M. H.; Hartel, R. W. Structure and properties of chocolate. *Encyclopedia of Food Chemistry*. p. 61-65, 2018.

CODEX. Norma para el chocolate y los productos del chocolate código stan 87-1981. Codex Alimentarius – Normas Internacionales de los alimentos, 2016.

Cruz, A. Oliveira, C.; Sá, P.; Corassin, C. H. *Química, bioquímica, análise sensorial e nutrição no processamento de leite e derivados – Coleção lácteos*, 1 ed. Elsevier, p. 179, 2016.

Damodaran, S.; Parkin, K. L. *Química de Alimentos de Fennema*, 5 ed, Porto Alegre: Artmed, p. 179, 2018.

Dand, R. The International Cocoa Trade. 3 ed, Woodhead publishing. p. 23-64, 2011.

Efrain, P.; Pires, J. L.; Garcia, A. de O.; Grimaldi, R.; Luccas, V.; Garcia, N. H. P. Characteristics of cocoa butter and chocolates obtained from cocoa varieties grown in Bahia, Brazil. *European Food Research and Technology*. 237, 419-428, 2013.

Engeseth, N.; Pangan, M. F. Ac. Current context on chocolate flavor development – a review. *Current Opinion in Food Science*, 21, 84-91, 2018.

Eskin, N. A. M.; Shahidi, F. *Bioquímica de Alimentos*, 3 ed, Rio de Janeiro: Campus, p. 382, 2015.

Franco, R.; Onatibia-Astiba, A.; Martinez-Pinilla, E. Health benefits of methylxanthines in cocoa and chocolate. *Nutrients*, 5, p. 4159-4173, 2013.

Fuc, E.; Zlotkowska, D.; Stachurska, E.; Wroblewska, B. Immunoreactive properties of  $\alpha$ -casein and  $\kappa$ -casein: Ex vivo and in vivo studies. *Journal of Dairy Science*. 101, pág. 10703-10713, 2018.

Garcia, V.; Rovira, S.; Boutorial, K.; López, M. B. Improvements in goat milk quality: A review. *Small Ruminant Research*. 121, 51-57, 2014.

Garti, N.; Aserin, A. Effect of emulsifiers on cocoa butter and chocolate rheology, polymorphism and bloom. *Cocoa Butter and Related Compounds*. Aocs Press ed. 275-305, 2012.

Gibson, M.; Newsham, P. Chapter 17 – chocolate/cacao. *Food Science and the Culinary Arts*. Academic Press, 341-352, 2018.

Gil, M.; Uribe, D.; Gallego, V.; Bedoya, C.; Arango-Varela, S. Traceability of polyphenols in cocoa during the postharvest and industrialization processes and their biological antioxidant potential. *Heliyon*, 7, p. 7738, 2021.

Grand View Research. Chocolate market size, share & trends analysis report by product (tradicional artificial), by distribution channel (supermarket & hypermarket, convenience store, online), by region, and segment forecasts, 2020-2027, 2020. Acesso dia – 02 de outubro de 2020. Disponível em: <https://www.grandviewresearch.com/industry-analysis/chocolate>



Hinne, M.; Abotsi, E. E.; Van de Walle, D.; Tzompa-Sosa, D. A.; Winne, A. de; Simonis, J.; Messens, K.; Durme, J. V.; Afoakwa, E. O.; Cooman, L. D.; Dewettinck, K. Pod storage with roasting: a tool to diversifying the flavor profiles of dark chocolates produced from 'bulk' cocoa beans? (part II: quality and sensory profiling of chocolates). *Food Research International*. 2020, v. 132, 109116.

Kongor, J. E.; Hinneh, M.; Van de Walle, D.; Afoakwa, E. O.; Boeckx, P.; Dewettinck, K. Factors influencing quality variation in cocoa (*Theobroma cacao*) bean flavour profile – a review. *Food Research International*. 82, 44-45, 2016.

Lapcikawa, B.; Lapcik, L.; Salek, R.; Valenta, T.; Lorencova, E.; Vasina, M. Physical characterization of the milk chocolate using whey powder. *LWT – Food Science and Technology*, 154, p. 112669, 2022.

Lawless, H. L.; Heymann, H. *Sensory Evaluation of Food – Principles and Practices*, Second ed. Springer, London, 2010.

Leite, L. R. C. *Estudo de competitividade do cacau e chocolate no Brasil: Desafios na produção e comércio global*. 2018 – Unesco

Li, L.; Liu, G. Corn oil-based oleogels with different gelation mechanisms as novel cocoa butter alternatives in dark chocolate. *Journal of Food Engineering*, 263, p. 114-122, 2019.

Ligeza, E. O.; Marzec, A.; Górska, A.; Wojdyla, M. W.; Brys, J.; Rejch, A.; Czarkowska, K. A comparative study of thermal and textural properties of milk, white and dark chocolates. *Thermochimica Acta*, 671, 60-69, 2019.

Lonchamp, P.; Hartel, R. W. Fat bloom in chocolate and compound coatings. *European Journal of Lipid Science and Technology*. 106, 241-274, 2004.

Lopez, C. Milk fat globules enveloped by their biological membrane: Unique colloidal assemblies with a specific composition and structure. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*. 16, 391-404, 2011.

- Luccas, V.; Bonomi, E. C.; Kieckbusche, T. G. Caracterização comparativa entre chocolates ao leite formulados com gordura de leite anidra e com estearina de gordura de leite. *Brazilian Journal of Food Technology*. 17, 130-138, 2014.
- MacDougall, D. B. Principles of colour measurement for food. *Instrumentation and Sensors for the Food Industry*. 2 ed. 63-84, 2001.
- Meier, B. P.; Noll, S. W.; Molokwu, O. J. The sweet life: The eddect of mindful chocolate consumption on mood. *Appetite*. 108, 21-27, 2017.
- Metin, S.; Hartel, R. W. Milk fat and cocoa butter. *Cocoa Butter and Related Compounds*. Aocs Press ed. 365-392, 2012.
- Mohapatra, A.; Shinde, A. K.; Singh, R. Sheep milk: A pertinente functional food. *Small Ruminant Research*. 181, 6-11, 2019.
- Monaco, R. Di.; Su, C.; Mais, P.; Cavella, S. Temporal Dominance of Sensations: a review. *Trends in Food Science & Techology*. 38, 104-112, 2014.
- Mudenuti, N. V. de R.; Camargo, A. C. de; Shahidi, F.; Madeira, T. B.; Hirroka, E. Y.; Grossmann, M. V. E. Soluble and insoluble-bound fractions of phenolics and alkaloids and their antioxidant activities in raw and traditional chocolate: A comparative study. *Journal of Functional Foods*. 50, p 164-171, 2018.
- Nascimento, M. M.; Santos, H. M.; Coutinho, J. P.; Lôbo, I. P.; Silva Junior, A. L. S. da; Santos, A. G.; Jesus, R. M. de. Optimization of chromatographic separation and classification of artesanal and fine chocolate based on its bioactive compound contend thorough multivariate statistical techniques. *Microchemical Journal*, n 152, 2020, p. 104342.
- Nasser, J. A.; Bradley, L. E.; Leitzsch, J. B.; Chohan, O.; Fasulo, K.; Haller, J.; Jaeger, K.; Szulanczyk, B.; Parigi, A. D.; Psychoactive effects of tasting chocolate and desire for more chocolate. *Physiology & Behavior*. 104, 117-121, 2011.
- Nunes, C. A.; Pinheiro, A. C. M. SensoMaker. Version 1.8. Lavras: UFLA, 2012.

Nunes, G. F. M.; Paula, A. V. de.; Castro, H. F. de. Modificação bioquímica da gordura do leite. *Química Nova*, 33, 431-437, 2010.

Pinheiro, A. C. M.; Nunes, C. A., Viotoris, V. Sensomaker: A tool for sensorial characterization of food products. *Ciência e Agrotecnologia*. 37, 199-201, 2013.

Rodrigues, J. F.; Souza, V. R. de; Lima, R. R.; Carneiro, J. de D. S.; Nunes, C. A.; Pinheiro, A. C. M. Temporal dominance of sensations (TDS) panel behavior: A preliminary study with chocolate. *Food Quality and Preference*. 54, 51-57, 2016.

Santos, I. A.; Conceição, D. G.; Vianna, M. B.; Silva, G. de J.; Santos, L. S.; Ferrão, S. P. B. MIR and NIR spectroscopy for quick detection of the adulteration of cocoa content in chocolates. *Food Chemistry*. 349, p. 129095, 2021.

Sgarbieri, V. C. *Inovação nos processos de obtenção purificação e aplicação de componentes do leite bovino*. Atheneu, São Paulo, 2012.

Silva, G. de J.; Golçalves, B. R. F.; Conceição, D. G.; Pontes, S. F. O.; Ferrão, S. P. B. Perfil de ácidos graxos e frações proteicas do leite de cabra. *Revista Instituição Laticínios Cândido Tostes*, 70, p. 338-348, 2015.

Silva, G. de J.; Gonçalves, B. R. F.; Conceição, D. G.; Fontan, G. C. R.; Santos, L. S.; Ferrão, S. P. B. Multivariate analysis applied for correlations between analytical measures and sensory profile of goat milk chocolate. *Journal of Food Scientists & Technologists*. 57, 444-453, 2020.

Silva, G. de J.; Gonçalves, B. R. F.; Jesus, J. C. de; Vidigal, M. C. T. R.; Minim, L. A.; Ferreira, S. O.; Bonomo, R. C. F.; Ferrão, S. P. B. Study of the structural properties of goat's milk chocolates with different concentrations of cocoa mass. *Journal of Textura Studies*. 50, 1-9, 2019.

Silva, P. H. F. da; Oliveira, V. C. D.; Perin, L. M. Cow's milk protein allergy and lactose intolerance. *Raw Milk – Balance Between Hazards and Benefits*, 295-309, 2019.

Son, Y. J. Choi, S. Y, Yoo, K. M, Lee, K. W.; Lee, S. M.; Hwang, I. K.; Kim, S. Anti-blooming effect of maltitol and tagatose as sugar substitutes for chocolate making. *LWT – Food Science and Technology*. 88, p. 87-94, 2018.

Todorovic, V.; Redovnikovic, I. R.; Todorovic, Z.; Jankovic, G.; Dodesvka, M.; Sobajic, S. Polyphenols, methyxanthines, and antioxidant capacity of chocolates produced in Serbia. *Journal of Food Composition and Analysis*. 41, p. 137-143, 2015.

Toker, O. S.; Konar, N.; Palabiyik, I.; Pirouzian, H. R.; Oba, S.; Polat, D. G.; Poyrazoglu, E. S.; Sagdic, O. Formulation of dark chocolate as a carrier to deliver eicosapentaenoic docosahexaenoic acids: Effects on product quality. *Food Chemistry*. 254, 224-231, 2018.

Toker, O. S.; Palabiyik, I.; Konar, N. Chocolate quality and conching. *Trends in Food Science & Technology*. 91, 446-453, 2019.

Toker, O. S.; Palabiyik, I.; Pirouzian, H. R.; Aktar, T. Chocolate aroma: Factors, importance and analysis. *Trends in Food Science & Technology*. 99, 580-592, 2020.

Vianna, F. S.; Canto, A. C. V. C. S.; Costa-Lima, B. R. C. da; Salim, A. P. A. A.; Costa, M. P.; Balthazar, C. F.; Oliveira, B. R.; Rachid, R. P.; Franco, R. M.; Conte-Junior, C. A.; Silva, A. C. O. Development of new probiotic yoghurt with a mixture of cow and sheep milk: effects on physicochemical, textural and sensory analysis. *Small Ruminant Research*. 149, p. 154-162, 2017.

Vidal, L.; Ares, G.; Hedderley, D. I.; Meyners, M.; Jaeger, S. R. Comparison of rate-all-that-apply (RATA) and Check-all-that-apply (CATA) questions across seven consumer studies. *Food Quality and Preference*. 67, 49-58, 2018.

Wicklin, R. Statistical programming with SAS/IML® Software; SAS Institute Inc.: Cary, 2010.

Winkler, A. Coffee, cocoa and derived products (e.g. chocolate). *Food Safety Management – A practical guide for the food industry*. Academic Press ed. 251-282, 2014.

Yurchenko, S.; Sats, A.; Tatar, V.; Kaart, T.; Mootse, H.; Joudu. Fatty acid profile of milk from Saanen and Swedish Landrace goats. *Food Chemistry*. 254, 326-332, 2018.

Zouari, A.; Schuck, P.; Gaucheron, F.; Triki, M.; Delaplace, G.; Gauzelin-Gaiani, C.; Lopez, C.; Attia, H.; Ayadi, M. A. Microstructure and chemical composition of camel and cow milk powders' surface. *LWT - Food Science and Technology*, 117, p. 108693, 2020.

## **7 Agradecimento**

Agradecer ao Assentamento Bela Vista, localizado no Vale do Ioio/Canabrava, Malhada-BA, à Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos – UESB, ao Grupo de Estudos em Leite (GEL - UESB), aos participantes da análise sensorial, a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes) e a Bolsa de estudo concedida pela Fundação de Amparo à Pesquisa da Bahia (FAPESB).

## **8 Financiamento**

Esta pesquisa não recebeu qualquer subversão específica de agência de financiamento no público, comercial ou setores não-para-lucro.

# **Capítulo V**

## **Anexos**

## Ficha da análise sensorial

Nome: \_\_\_\_\_ Data: \_\_\_\_\_

Código da amostra: \_\_\_\_\_

### Análise sensorial - Aceitação

**Você está recebendo uma amostra de chocolate. Avalie o produto e use a escala abaixo para indicar o quando você gostou ou desgostou do chocolate.**

9 – Gostei muitíssimo

4 – Desgostei ligeiramente

8 – Gostei muito

3 – Desgostei moderadamente

7 – Gostei moderadamente

2 – Desgostei muito

6 – Gostei ligeiramente

1 – Desgostei muitíssimo

5 – Nem gostei, nem desgostei

Cor: \_\_\_\_\_

Textura: \_\_\_\_\_

Aroma: \_\_\_\_\_

Impressão Global: \_\_\_\_\_

Sabor: \_\_\_\_\_

### Análise sensorial CATA (Marque Tudo Que Se Aplica)

**Por favor, verifique todos os atributos, palavras e frases que você acha que se aplicam a este produto.**

#### 1. Atributos

Aroma de chocolate

Bom derretimento

Cor de chocolate ao leite

Cremosidade ideal

Cor de chocolate amargo

Sabor chocolate

Macio

Alta acidez

Amargo ideal

Pouco doce

Muito amargo

Doce ideal

Residual amargo

Ranço residual

Comentários: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

## 2. Palavras e momento de consumo do chocolate

- |  |  |   |
|--|--|---|
| <input type="checkbox"/> Prazer        | <input type="checkbox"/> Relaxamento             | <input type="checkbox"/> Quando estou com raiva |
| <input type="checkbox"/> Calmaria      | <input type="checkbox"/> Saboroso                | <input type="checkbox"/> Quando estou cansado   |
| <input type="checkbox"/> Carinho       | <input type="checkbox"/> Sofisticação            | <input type="checkbox"/> Quando estou animado   |
| <input type="checkbox"/> Tranquilidade | <input type="checkbox"/> Relaxa                  | <input type="checkbox"/> Quando estou ansiosa   |
| <input type="checkbox"/> Felicidade    | <input type="checkbox"/> Quando estou estressado | <input type="checkbox"/> Quando estou com TPM   |
| <input type="checkbox"/> Infância      |  |   |

## 3. Frases

- |   |  |
|---|--|
| <input type="checkbox"/> Chocolate é prazeroso.                     | <input type="checkbox"/> Chocolate é uma pedida excelente após um dia cheio. |
| <input type="checkbox"/> Chocolate é uma explosão de sabores.       | <input type="checkbox"/> Chocolate é uma ótima opção de presente             |
| <input type="checkbox"/> Chocolate é a sobremesa de domingo.        | <input type="checkbox"/> Chocolate é a 8ª maravilha do mundo.                |
| <input type="checkbox"/> Chocolate é o melhor antiestresse.         | <input type="checkbox"/> O sabor da felicidade.                              |
| <input type="checkbox"/> Amo chocolate.                             | <input type="checkbox"/> Pena que engorda.                                   |
| <input type="checkbox"/> Queria comer mais chocolate.               | <input type="checkbox"/> Quero mais.   |
| <input type="checkbox"/> Chocolate amargo é melhor que muita gente. | <input type="checkbox"/> Huuuuuuu!!!!!!                                      |
| <input type="checkbox"/> Chocolate vicia.                           |  |
| <input type="checkbox"/> Nem todo chocolate é bom.                  |  |

## Análise sensorial – Intenção de compra (Marque apenas UMA opção)

- |  |  |
|--|--|
| <input type="checkbox"/> Certamente compraria o produto          | <input type="checkbox"/> Possivelmente não compraria o produto |
| <input type="checkbox"/> Possivelmente compraria o produto       | <input type="checkbox"/> Certamente não compraria o produto    |
| <input type="checkbox"/> Talvez compraria / talvez não compraria |  |

Pesquisadora: Daniele Gomes Conceição

(xx) xxxxxx-xxxx

Orientadora: DSc. Sibelli Passini Barbosa Ferrão

Programa de Pós-graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos

Laboratório de Processamento de Leite e Derivados

Novembro de 2019

Muito obrigada!



