

Influência do Tratamento Térmico na Produção do Doce de Leite: Determinação de HMF Livre e HMF Desenvolvido

Influence of Heat Treatment on the Production of Doce de Leite: Determination of Free HMF and Developed HMF

Gabriel Pereira Portes Cerqueira¹, Vitória Souza Lima², Carolina Neves Cunha², Caroline Barroso dos Anjos Pinto¹, Juliana de Carvalho da Costa², Ítalo Tuler Perrone², Rodrigo Stephani¹.

¹Departamento de Química, Universidade Federal de Juiz de Fora,

²Departamento de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Juiz de Fora.

Resumo:

A produção de doce de leite, tradicional na América Latina, envolve a evaporação de leite e açúcar. Este processo resulta na Reação de Maillard, que forma compostos como o 5-hidroximetil-2-furfural (HMF). O HMF, um marcador de tratamento térmico, possui potenciais riscos à saúde, destacando a importância de seu monitoramento.

Neste estudo, doces de leite foram submetidos a diferentes tratamentos térmicos. Observou-se que a intensidade do tratamento reduz o pH e aumenta a acidez, Δ pH, concentração de HMF e níveis de cálcio iônico. A análise via HPLC indicou uma correlação direta entre o tempo de tratamento térmico e a formação de HMF, com aumentos significativos na concentração de HMF do produto final.

Os resultados ressaltam a necessidade de controle rigoroso dos parâmetros térmicos na produção de doce de leite, visando otimizar suas propriedades físico-químicas e garantir a segurança alimentar, minimizando a formação de HMF.

Palavras-chave: Doce de leite, Tratamento térmico, 5-hidroximetil-2-furfural (HMF)

Introdução:

O doce de leite é um produto lácteo típico da América Latina, amplamente consumido no Brasil e em países vizinhos, utilizado como sobremesa, na confeitaria e na gastronomia. A produção do doce de leite envolve a evaporação da água de uma mistura de leite e açúcar, podendo incluir outras substâncias alimentícias, como bicarbonato de sódio (BRASIL, 1997; SILVA, et al., 2014).

Durante o tratamento térmico de alimentos com alto teor de proteínas e açúcares, ocorre a reação de escurecimento não enzimático, conhecida como Reação de Maillard. Esta reação resulta na formação de produtos de cor castanha, com aromas e sabor característicos e agradáveis. No entanto, essa reação também leva à formação de compostos indesejáveis, como o 5-hidroximetil-2-furfural (HMF) (Francisquini, et al., 2018; Pavlovic, et al., 1994).

Os fatores que influenciam a formação de HMF incluem temperatura, pH, atividade de água, presença de cátions e o tipo de sacarídeo. O HMF é praticamente inexistente em alimentos frescos, mas seu nível aumenta durante o armazenamento ou após tratamentos térmicos intensos, sendo amplamente utilizado como um marcador de tratamento térmico em alimentos (Barrera, et al. 2021).

Estudos indicam que o HMF está correlacionado com atividades carcinogênicas e mutagênicas, tanto in vitro quanto em ensaios com animais. Além disso, esse composto apresenta propriedades citotóxicas e é irritante para os olhos, trato respiratório, pele e mucosas. Por outro lado, pesquisas apontam diversos efeitos benéficos do HMF para a saúde humana, incluindo propriedades antioxidantes, antialérgicas, antifalczantes e antiinflamatórias (Barrera, et al. 2021). Embora os estudos toxicológicos ainda não sejam definitivos, os possíveis riscos da ingestão de HMF na dieta destacam a importância de investigar sua presença nos alimentos (De Andrade, et al., 2016).

A cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) é uma técnica segura e confiável para medir compostos furânicos em alimentos (Chavez-Servin, et al., 2005). Métodos específicos foram desenvolvidos para determinar HMF livre e HMF desenvolvido após tratamento térmico intenso em produtos lácteos.

Portanto, o objetivo deste trabalho é analisar a influência do tratamento térmico na produção do doce de leite e determinar, via HPLC, a presença de HMF livre e HMF desenvolvido.

Material e Métodos

Produção dos doces de leite:

Para a produção dos doces de leite, utilizou-se uma matriz única, em que o único fator variável foi o tratamento térmico. O leite condensado integral utilizado continha 56 g/100 g de carboidratos, 7,2 g/100 g de proteínas e 8,2 g/100 g de gorduras totais. Este foi submetido a aquecimento a 120°C em autoclave, com tempos de exposição variando de 15 a 40 minutos, com acréscimo de 5 minutos, além de um tempo adicional de 55 minutos. Durante todo o processo, a temperatura foi monitorada utilizando um sensor de temperatura.

Determinação de HMF livre e HMF desenvolvido via HPLC:

Para a determinação de HMF, foi realizado o preparo da amostra, separando os constituintes que poderiam interferir na análise, como proteínas e gorduras, conforme a metodologia descrita por Pinto, et al., 2024. A separação e quantificação dos analitos de interesse foram realizadas utilizando HPLC acoplado a um detector UV-Vis, conforme descrito por Pinto, et al., 2024. O HMF livre refere-se ao analito analisado após o preparo da amostra, sem nenhum tratamento posterior à produção do doce de leite. Para a determinação do HMF desenvolvido, foi realizado um tratamento térmico em uma solução contendo 10% do doce produzido, a 90°C, por 60, 120 e 180 minutos.

Cor:

A análise de cor foi realizada utilizando um espectrofotômetro UV-Vis a 420 nm, conforme a metodologia descrita por Pavlovic, et al., 1994. O preparo da amostra foi adaptado, sendo utilizando a mesma metodologia para a determinação dos compostos furfurais descrito por Pinto, et al., 2024.

Resultados e Discussão:

As diferenças entre os doces de leite produzidos são evidentes, como mostrado na Figura 1. Estas diferenças incluem textura, cor e características físico-químicas.

Os produtos foram submetidos a diferentes tratamentos térmicos em autoclave, com F_0 variando entre $26,2 \pm 0,11$ e $126,9 \pm 22,52$, para os doces de leite produzidos. Durante o tratamento térmico, diversas reações químicas ocorrem, afetando significativamente as propriedades físico-químicas do produto. Entre essas alterações, destacam-se a diminuição do pH, o consequente aumento da acidez e ΔpH , o aumento na concentração de HMF e o aumento dos níveis de cálcio iônico. Esses resultados são apresentados na Tabela 1.

Ao ser submetido a tratamentos térmicos, o pH é reduzido devido à degradação da lactose, desfosforilação da caseína e precipitação do fosfato de cálcio. Além disso, ocorre a Reação de Maillard, que acontece entre açúcares redutores e aminoácidos. Esta reação complexa resulta na formação de compostos intermediários que podem se decompor em ácidos orgânicos, como ácido fórmico e ácido acético (Carneiro, et al., 2021). A formação destes ácidos orgânicos contribuem para a diminuição do pH do doce de leite. O doce com menor tempo de tratamento térmico, 15 minutos, apresentou o maior pH ($5,76 \pm 0,04$) e menores valores de ΔpH ($0,52 \pm 0,10$) e acidez ($0,510 \pm 0,017$ g ácido láctico/100g) em comparação com o doce de maior tempo, 55 minutos (pH $5,05 \pm 0,02$, ΔpH $1,23 \pm 0,15$ e acidez $0,938 \pm 0,012$ g ácido láctico/100g).



Figura 1: Doces de leite produzidos com a mesma composição centesimal, mas em diferentes tratamentos térmicos. (Fonte: Imagem elaborada pelo autor).

Tabela 1: Resultados das análises físico-químicas dos doces de leite em diferentes tratamentos térmicos. Medidas de mesma letra, não diferem estatisticamente por teste Tukey ($p>0,05$).

Tempo min	F ₀	Ca (mg.L ⁻¹)	pH	ΔpH	Acidez (g ácido láctico.100g ⁻¹)	Absorbância	HMF livre (mg.100g ⁻¹)	HMF total (mg.100g ⁻¹)
0	0	16 ±1 ^g	6,27 ±0,13 ^a	0	0,33±0,19 ^a	0,049±0,046 ^d	0,47±0,12 ^e	2,10±0,02 ^d
15	26,15 ±0,11 ^c	48±0 ^f	5,76±0,04 ^b	0,52±0,10 ^d	0,51±0,02 ^{ab}	0,32±0,03 ^{cd}	1,22±0,19 ^e	4,97±0,45 ^d
20	45,31±10,84 ^{bc}	50±0 ^e	5,67±0,02 ^{bc}	0,61±0,11 ^{cd}	0,54±0,01 ^{bc}	0,51±0,04 ^{cd}	1,57±0,21 ^e	6,33±0,18 ^{cd}
25	54,41±17,05 ^{bc}	51±1 ^e	5,57±0,03 ^{cd}	0,70±0,11 ^{cd}	0,57±0,00 ^{bcd}	0,89±0,01 ^{bc}	2,28±0,04 ^{de}	7,50±0,23 ^{bcd}
30	68,82±13,34 ^{bc}	57±1 ^d	5,50±0,02 ^{de}	0,78±0,12 ^{bcd}	0,64±0,01 ^{cd}	1,01±0,00 ^{bc}	3,77±0,97 ^{cd}	12,06±2,68 ^{bc}
35	82,65±11,89 ^{ab}	63±1 ^c	5,39±0,03 ^e	0,88±0,11 ^{bc}	0,71±0,01 ^{cd}	1,27±0,06 ^b	4,92±0,03 ^{bc}	13,18±1,39 ^{bc}
40	92,27±18,18 ^{ab}	68±1 ^b	5,24±0,01 ^f	1,03±0,13 ^{ab}	0,78±0,00 ^d	1,23±0,10 ^b	6,01±0,99 ^b	11,62±0,03 ^b
55	126,93±22,52 ^a	77±1 ^a	5,05±0,02 ^g	1,23±0,15 ^a	0,94±0,01 ^e	2,06±0,48 ^a	14,75±0,29 ^a	27,60±3,02 ^a

Produtos submetidos a tratamentos térmicos mais intensos tendem a exibir uma maior acidez total desenvolvida (ATD). Esse aumento na acidez é atribuído, principalmente, a alterações no equilíbrio salino, caseína e lactose. Essas modificações resultam em um produto mais ácido, o que pode levar a diferenças sensoriais perceptíveis, mesmo quando comparado a um produto com a mesma composição centesimal (Stephani, et al., 2023).

A redução do pH tem um impacto direto na formação de HMF. Em ambientes ácidos, a desidratação dos açúcares como frutose e glicose conduz a formação de HMF (Carneiro, et al., 2021). Assim, à medida que o pH diminui, a taxa de formação de HMF aumenta, pois as condições ácidas promovem a conversão dos intermediários em HMF de maneira mais eficiente. Estes processos são acelerados com o aumento da temperatura e a duração do aquecimento, resultando em uma maior concentração de HMF nos doces produzidos.

Os valores de HMF nas amostras de doce de leite aumentam exponencialmente com o tempo de tratamento térmico, conforme ilustrado na Figura 2a. A determinação do HMF livre forneceu dados que evidenciam como a intensidade do tratamento térmico pode levar a produtos com características totalmente distintas entre os outros.

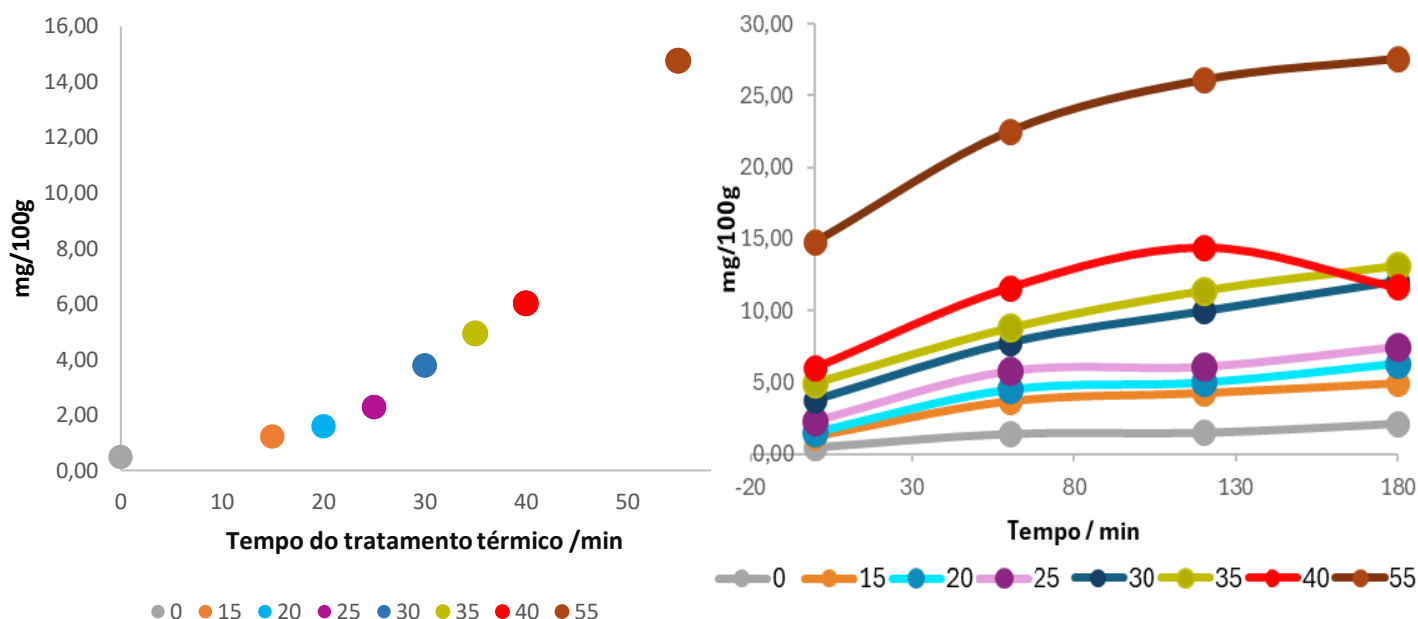


Figura 2: a) HMF livre em mg/100g, b) HMF desenvolvido em mg/100g em função do tempo do tratamento térmico. (Fonte: Imagem elaborada pelo autor).

As concentrações de HMF desenvolvido aumentam gradualmente com o aquecimento subsequente ao tratamento térmico inicial. De acordo com Francisquini (2018), o HMF desenvolvido (ou total) é representado por um aquecimento de 60 minutos. No entanto, como mostrado na Figura 2b, a concentração de HMF continua a aumentar com o prolongamento do tempo de exposição ao calor.

O HMF desenvolvido estima o potencial de escurecimento, que é dependente da intensidade do tratamento térmico, sendo utilizado para avaliar as mudanças induzidas pelo calor nos alimentos. A intensidade da coloração no doce de leite está intimamente relacionado com a ocorrência da Reação de Maillard e a produção de compostos de coloração escura, como as melanoidinas, que são os produtos finais dessa reação (Francisquini, et al., 2016).

Na tabela 1, temos a formação do índice de escurecimento durante o processamento do doce de leite, medida pela absorbância a 420 nm por grama de proteína. Um aumento gradual é notável com o tempo de exposição ao tratamento térmico dos doces de leite analisados.

Embora os estudos existentes não sejam conclusivos sobre o potencial risco à saúde humana pela exposição ao HMF, a ingestão diária máxima de HMF foi estimada em 1,6 g por pessoa por dia (Morales et al., 2009). Nota-se que para o doce de leite produzido com 55 minutos de tratamento térmico, a quantidade recomendada para consumo diário é de apenas 10,85 g, devido ao elevado nível de HMF livre. Em contraste, o doce produzido com baixo tratamento térmico (tempo 15 minutos) apresentou uma recomendação muito superior, permitindo o consumo de até 131,15 g deste doce por dia. Portanto, é fundamental que mais pesquisas sejam realizadas em doces de leite para reduzir a formação de HMF e prevenir os possíveis riscos à saúde relacionados a esse composto.

Conclusão

Os resultados obtidos neste estudo mostram a importância do controle do tratamento térmico na produção de doce de leite. A variação na intensidade do tratamento térmico não só influencia significativamente as propriedades físico-químicas do produto, como pH, acidez e concentração de HMF, mas também afeta as características sensoriais do produto final.

A aplicação de diferentes tempos e temperaturas de aquecimento demonstrou ser uma estratégia eficaz para desenvolver produtos com perfis distintos, mesmo quando a composição centesimal é mantida constante. Este estudo mostra relevância de monitorar os processos térmicos para garantir a qualidade e a segurança do doce de leite.

Referências Bibliográficas

BARRERA J., et al. "In House Validation for the Direct Determination of 5-Hydroxymethyl-2-Furfural (HMF) in 'Dulce de Leche'". **Journal of Food Composition and Analysis**, vol. 95, janeiro de 2021, p. 103665.

BRASIL, MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. **Portaria nº 354, de 4 de setembro de 1997. Aprova o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Doce de Leite**. Diário Oficial da União, 1997.

CARNEIRO, L. C. M. .; PINTO, C. B. dos A. .; GOMES, E. R. .; PAULA, I. L. de; POMBO, A. F. W.; STEPHANI, R.; CARVALHO, A. F.; PERRONE, Ítalo. The chemistry and technology of dulce de leche: a review . **Research, Society and Development**, [S. l.], v. 10, n. 11, p. e155101119408, 2021.

CHAVEZ-SERVIN, J.L., CASTELLOTE, A.I., LOPEZ-SABATER, M.C., 2005. Analysis of potential and free furfural compounds in milk-based formulae by high-performance liquid chromatography. Evolution during storage. **J. Chromatogr. A** 1076, 133–140.

DE ANDRADE, J.K., KOMATSU, E., PERREAULT, H., TORRES, Y.R., DA ROSA, M.R., FELSNER, M.L., 2016. In house validation from direct determination of 5-hydroxymethyl-2-furfural (HMF) in Brazilian corn and cane syrups samples by HPLC-UV. **Food Chem.** 190, 481–486.

MORALES, F.J., 2009. Hydroxymethylfurfural (HMF) and related compounds. Process Induced Food Toxicants: Occurrence, Formation, Mitigation, and Health Risks, pp. 135–174.

PAVLOVIC, S.; SANTOS, R. C. DOS; GLÓRIA, M. B. A. Maillard reaction during the processing of "Doce de Leite". **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 66, p. 129-132, 1994.

PINTO APEF & WOLFSCHON-POMBO A (1984) 5-Hidroximetilfurfural no doce de leite. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, 39:09-11.

STEPHANI, R. Doce de leite - mercado-ciência-tecnologia: O Brasil poderia ser o maior exportador mundial de doce de leite? Innovite Consultoria Eireli, 2023.

FRANCISQUINI, J. A., et al.. "Physico-Chemical and Compositional Analyses and 5-Hydroxymethylfurfural Concentration as Indicators of Thermal Treatment Intensity in Experimental Dulce de Leche". **Journal of Dairy Research**, vol. 85, nº 4, novembro de 2018, p. 476–81.

FRANCISQUINI, J. A., et al. "Avaliação da intensidade da Reação de Maillard, de atributos físico-químicos e análise de textura em doce de leite". **Revista Ceres**, vol. 63, no 5, outubro de 2016, p. 589–96.

SILVA, F. L.; FERREIRA, H. A. L.; SOUZA, A. B.; ALMEIDA, D. F.; STEPHANI, R.; PIROZI, M. R.; CARVALHO, A. F.; PERRONE, I. T. Production of Dulce de leche: The effect of starch addition. **LWT – Food and Science Technology**, 2015. Vol 62 p. 417-423

Autor(a) a ser contatado: Gabriel Pereira Portes Cerqueira, UFJF, Rua José Lourenço Kelmer, s/n - São Pedro, Juiz de Fora, cerqueiragpp@gmail.com.