

UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

Paola Fazollo Lazzarini

Viabilidade tecnológica do uso de proteína do soro do leite microparticulada em leite
condensado

Juiz de Fora

2026

Paola Fazollo Lazzarini

Viabilidade tecnológica do uso de proteína do soro do leite microparticulada em leite condensado

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de Juiz de Fora como requisito para obtenção do título de Mestre em Química. Área de concentração: Química.

Orientador: Prof. Dr. Rodrigo Stephani

Juiz de Fora

2026

Ficha catalográfica elaborada através do programa de geração automática da Biblioteca Universitária da UFJF, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Lazzarini, Paola Fazollo.

Viabilidade tecnológica do uso de proteína do soro do leite microparticulada em leite condensado / Paola Fazollo Lazzarini. -- 2026.

66 p.

Orientador: Rodrigo Stephani

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de Juiz de Fora, Instituto de Ciências Exatas. Programa de Pós-Graduação em Química, 2026.

1. Leite condensado. 2. Proteína do soro do leite. 3. Microparticulação. 4. WPC. 5. Viscosidade. I. Stephani, Rodrigo, orient. II. Título.

Paola Fazollo Lazzarini

Viabilidade tecnológica da utilização de proteína do soro do leite microparticulada em leite condensado

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de Juiz de Fora como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Química. Área de concentração: Química.

Aprovada em 17 de julho de 2026.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Rodrigo Stephani - Orientador

Universidade Federal de Juiz de Fora

Prof. Dr. Cleuber Raimundo da Silva

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sudeste de Minas Gerais

Dr. João Pablo Fortes Pereira

Universidade Federal de Juiz de Fora

Juiz de Fora, 14/07/2026.



Documento assinado eletronicamente por **Rodrigo Stephani, Professor(a)**, em 17/07/2026, às 11:42, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Joao Pablo Fortes Pereira, Técnico Administrativo em Educação**, em 17/07/2026, às 11:55, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Cleuber Raimundo da Silva, Usuário Externo**, em 17/07/2026, às 17:07, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no Portal do SEI-Ufjf (www2.ufjf.br/SEI) através do ícone Conferência de Documentos, informando o código verificador **3086071** e o código CRC **A126F328**.

Dedico esse trabalho a minha família, amigos e todos aqueles que me ajudaram ou estiveram comigo durante este tempo.

AGRADECIMENTOS

Inicialmente gostaria de começar agradecendo aos meus pais, Ilcimar e Admilson, porque sei que sem o apoio, a educação, as oportunidades e o amor incondicional que eles me ofereceram eu jamais teria conseguido chegar até este momento, amo vocês. Em especial, gostaria de dedicar e agradecer ao meu pai, porque esse trabalho foi feito durante o luto imenso de sua perda recente, e mesmo assim eu consegui, e infelizmente ele não pode estar aqui, mas sei que ele estaria extremamente orgulhoso de mim, como sempre demonstrou estar em todas as vezes que exibia com orgulho que tinha uma filha Química, que fazia mestrado. Vou carregar seus ensinamentos e humildade comigo para todo sempre. Obrigada, mãe e pai, essa conquista é de vocês!

Gostaria de agradecer também a minha irmã e meu cunhado, o segundo irmão que a vida me deu. Vocês são exemplos para mim, e de longe das minhas companhias favoritas. Obrigada por tudo, amo vocês.

Agradeço aos meus avós, por todo apoio ao longo desses anos, por estarem sempre presentes e cuidarem de mim. Obrigada a toda a minha família, tios, padrinhos, primos, pelo carinho, apoio e preocupação comigo. Obrigada por acreditarem em mim!

A você, Igor, meu marido, meu melhor amigo e pessoa que me ensinou tudo desde o primeiro dia no laboratório, só tenho gratidão. Obrigada por todas as vezes que me escutou chorar de cansaço e desespero, por todas as vezes que passou noites trabalhando comigo, madrugadas de companhia enquanto eu escrevia e por toda a ajuda nesse trabalho enquanto eu estive totalmente perdida. Você é parte disso, e eu digo com muito orgulho. Mas você não é só a parte do trabalho, você é meus dias mais alegres, as risadas felizes, a comemoração após as demandas finalizadas, o descanso depois de uma semana exaustiva, você é meu parceiro e maior amor. Obrigada por viver tudo isso comigo, essas 24 horas juntos, esses 3 anos e meio de trabalho, fizemos dar certo, juntos, e é bom demais viver tudo isso com você. Eu te amo.

Um agradecimento aos meus amigos de quatro patinhas, Aurora, Boo, Marley e Bartô. Vocês alegraram cada dia da minha vida!

Gostaria de agradecer também aos meus amigos, especialmente pelas vezes que fui ausente e vocês entenderam. E Lydia, minha melhor amiga, você é parte dos meus momentos bons.

Agradeço aos amigos que fiz dentro do laboratório, vocês tornaram os dias mais leves e engraçados, e muitas vezes me ajudaram de alguma forma nesse projeto. Em especial a minha

amiga e IC Giovana Braga. Gigi, sem sua ajuda e seus sermões dizendo “Para de ser pessimista, vai dar certo”, não teria dado certo! Natália Alves, muito, muito obrigada por toda a ajuda, você sempre faz o difícil ficar mais simples. Agradeço também a Letícia Campos, Letícia Barbosa, Letícia Zenko, Laryssa Ramos, Júlia Francisquini, Fernanda Silveira, Giovana Braga, Igor Lima, João Henrique e Natália Alves por toda a ajuda e amizade.

Gostaria de agradecer a todos os professores que passaram pelo meu mestrado em algum momento. Professor Ítalo Tuler Perrone e professor Alan Wolfshoon-Pombo, vocês foram essenciais no meu aprendizado até agora, e espero que possam contribuir ainda mais ao longo dos anos. Obrigada por fazerem tanto por cada um de nós e pelo laboratório.

Ao meu orientador, Professor Rodrigo Stephani, eu só tenho como te agradecer. Você é um exemplo para mim. Admiro sua dedicação e esforço para manter o BIOQUIMTEC funcionando sempre, da melhor forma possível, mesmo que nos dias mais difíceis, por ser sempre humano e humilde, acima de tudo. Obrigada por todas as oportunidades, por toda a parceria – a qual eu espero que ainda seja longa – e por todos os ensinamentos e puxões de orelha, porque muito do que eu sou hoje é devido ao que isso. Te escolheria como orientador inúmeras vezes na vida se necessário, porque aprendi e espero ainda aprender muito com você.

Agradeço a todos os professores e funcionários do Departamento de Química da UFJF. Agradeço também aos membros da banca, Dr. João Pablo Fortes Pereira, Dr. Cleuber Raimundo da Silva e Dr. Alisson Borges, pela disposição e interesse em contribuir para o melhor desenvolvimento deste projeto.

Por fim, gostaria de agradecer às agências de fomento, CAPES, CNPq e FAPEMIG pelo financiamento que possibilitou a realização desse projeto, e à Universidade Federal de Juiz de Fora, onde me graduei e agora finalizo meu mestrado.

“Why, sometimes I’ve believed as many as six impossible things before breakfast.”
(CARROLL, 1936, p. 200)

RESUMO

A crescente busca por ingredientes lácteos com propriedades tecnológicas diferenciadas tem impulsionado o estudo das proteínas do soro de leite e suas aplicações em diversos produtos lácteos. Nesse contexto, este trabalho teve como objetivo desenvolver formulações de leite condensado adicionadas de proteína do soro de leite microparticulada (MWP), com o intuito de avaliar seus efeitos sobre as propriedades físico-químicas, microestruturais e reológicas do produto durante o armazenamento. Foram produzidas sete formulações de leite condensado: sendo uma delas o Controle (somente leite e açúcar como ingredientes) e as outras seis formulações com substituição parcial do leite por leite em pó desnatado (SMP), concentrado proteico do soro de leite (WPC) e proteína do soro de leite microparticulada (MWP), nas concentrações de 2,0% e 4,0% (m.m⁻¹). A MWP foi obtida por tratamento térmico e mecânico simultâneos aplicado ao WPC, promovendo desnaturação proteica e redução do tamanho das partículas. O processo de microparticulação foi avaliado por análises de tamanho de partículas e desnaturação proteica adicional e as caldas (formulações antes do processo de evaporação a vácuo) foram avaliadas em composição. Já os leites condensados foram analisados em termos de composição e propriedades físico-químicas, dentre elas a atividade de água, tamanho de partículas e textura, além dos indicadores da reação de Maillard, índice de escurecimento, microscopia ótica, e comportamento reológico, sendo as quatro últimas realizadas durante 28 dias de shelf-life.

Os resultados demonstraram que o processo de microparticulação foi eficiente, reduzindo significativamente o tamanho médio das partículas e promovendo elevada desnaturação das proteínas do soro, especialmente da β -lactoglobulina. As formulações produzidas apresentaram composição compatível com os padrões estabelecidos pela legislação brasileira para leite condensado, sem alterações significativas nos teores de umidade, proteína e minerais. Entretanto, a adição dos substitutos influenciou características tecnológicas importantes. As formulações contendo WPC e MWP apresentaram redução da atividade de água e modificações nos parâmetros de textura, destacando-se o aumento da dureza e da gomosidade, principalmente para a formulação contendo 4,0% de WPC. Além disso, observou-se influência dos ingredientes adicionados sobre a distribuição do tamanho de partículas dos produtos, sugerindo alterações estruturais na matriz do leite condensado.

As análises microscópicas indicaram que a adição das formulações contendo WPC e MWP apresentaram distribuição homogênea dos cristais de lactose ao longo do

armazenamento, destacando-se a MWP. As análises reológicas mostraram comportamento pseudoplástico para todas as formulações, e novamente se destaca a adição de MWP, especialmente a 2,0%, que proporcionou maior estabilidade da viscosidade e do índice de consistência durante o shelf-life, enquanto as formulações com WPC apresentaram maiores variações ao longo do armazenamento. Em relação à reação de Maillard, apenas o 5-hidroximetilfurfural (HMF) foi detectado, apresentando maiores concentrações nas formulações adicionadas de proteínas do soro, principalmente MWP. De forma geral, os resultados indicam que a proteína do soro microparticulada apresenta elevado potencial tecnológico para aplicação em leite condensado, especialmente na concentração de 2,0%, contribuindo para a estabilidade estrutural e modulação reológica do produto sem comprometer suas características composicionais.

Palavras-chave: Leite condensado; proteína do soro de leite; microparticulação; WPC; viscosidade.

ABSTRACT

The growing demand for dairy ingredients with differentiated technological properties has driven research into whey proteins and their applications in a wide range of dairy products. In this context, the objective of this study was to develop sweetened condensed milk formulations containing microparticulated whey protein (MWP) and to evaluate its effects on the physicochemical, microstructural, and rheological properties of the product during storage. Seven sweetened condensed milk formulations were produced: one control formulation (containing only milk and sugar as ingredients) and six formulations with partial replacement of milk by skim milk powder (SMP), whey protein concentrate (WPC), and microparticulated whey protein (MWP), at concentrations of 2.0% and 4.0% (w.w⁻¹). MWP was obtained through the simultaneous application of thermal and mechanical treatments to WPC, promoting protein denaturation and particle size reduction. The microparticulation process was evaluated through particle size distribution and additional protein denaturation analyses, while the mixes (formulations before the vacuum evaporation process) were evaluated for composition. The sweetened condensed milk samples were analyzed in terms of composition and physicochemical properties, including water activity, particle size, and texture, as well as Maillard reaction indicators, browning index, optical microscopy, and rheological behavior, with the latter four analyses being performed throughout 28 days of shelf life.

The results demonstrated that the microparticulation process was effective, significantly reducing the average particle size and promoting extensive whey protein denaturation, especially of β -lactoglobulin. The formulations produced presented compositions compatible with the standards established by Brazilian legislation for sweetened condensed milk, with no significant changes in moisture, protein, and mineral contents. However, the addition of the replacers influenced important technological characteristics. Formulations containing WPC and MWP showed reduced water activity and modifications in texture parameters, particularly increased hardness and gumminess, especially in the formulation containing 4.0% WPC. In addition, the added ingredients influenced the particle size distribution of the products, suggesting structural changes in the sweetened condensed milk matrix.

Microscopic analyses indicated that formulations containing WPC and MWP exhibited a homogeneous distribution of lactose crystals throughout storage, with MWP showing the most pronounced effect. Rheological analyses demonstrated pseudoplastic behavior for all formulations, and once again MWP stood out, especially at the 2.0% concentration, providing

greater stability of viscosity and consistency index throughout shelf life, whereas formulations containing WPC exhibited greater variations during storage. Regarding the Maillard reaction, only 5-hydroxymethylfurfural (HMF) was detected, with higher concentrations observed in formulations containing whey proteins, particularly MWP. Overall, the results indicate that microparticulated whey protein presents high technological potential for application in sweetened condensed milk, especially at the 2.0% concentration, contributing to the structural stability and rheological modulation of the product without compromising its compositional characteristics.

Keywords: Sweetened condensed milk; whey protein; microparticulation; WPC; viscosity.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Produção da proteína microparticulada do soro de leite (MWP).	25
Figura 2 - Resultados de dureza para as amostras de leite condensado produzidas.....	45
Figura 3 - Resultados de coesividade dos leites condensados.....	46
Figura 4 - Resultados de gomosidade de todos os produtos.....	47
Figura 5 - Tamanho médio das partículas de cada formulação.	48
Figura 6 - Índice de escurecimento dos leites condensados durante shelf-life.....	52
Figura 7 – Monitoramento dos cristais de lactose durante o shelf-life.....	53
Figura 8 - Viscosidade dos produtos em cada semana de shelf-life (D1, D7, D14 e D28), com base no decaimento da taxa de cisalhamento de $0,1\text{ s}^{-1}$ a 100 s^{-1}	55
Figura 9 - Viscosidade dos produtos durante 28 dias de shelf-life (100 s^{-1}).	57
Figura 10 - Índice de consistência (K) dos produtos durante shelf-life de 28 dias conforme modelo de Herschel-Bulkley.	58

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Parâmetros de composição estabelecidos na legislação brasileira para leite condensado.	17
Tabela 2 - Parâmetros de composição estabelecidos pela legislação para soro líquido.	18
Tabela 3 - Composição proteica total aproximada do soro de leite doce.	19
Tabela 4 - Proporção dos ingredientes para fabricação dos leites condensados.....	24
Tabela 5 - Modo de eluição gradiente aplicado para determinação das frações proteicas α -LA e β -LG.....	28
Tabela 6 - Modo de eluição de gradiente para a determinação dos indicadores da reação de Maillard.	35
Tabela 7 – Teor de proteínas nativas presentes no WPC antes e após o processo de microparticulação (MWP).	38
Tabela 8 - Análises composicionais das caldas.	40
Tabela 9 - Análises composicionais dos leite condensados produzidos.....	42
Tabela 10 - Resultados das análises físico-químicas dos produtos.	44
Tabela 11 - Resultados de cálcio iônico para as amostras de leite condensado.	44
Tabela 12 - Atividade de água (durante shelf-life) dos leites condensados produzidos.....	49
Tabela 13 - Quantificação de HMF* nos leites condensados no primeiro (D1) e último dia (D28) de shelf-life.	51

SUMARIO

1	INTRODUÇÃO.....	16
1.1	LEITE CONDENSADO.....	16
1.2	PROTEÍNAS DO SORO DE LEITE.....	18
1.2.1	β-lactoglobulina (β-LG).....	19
1.2.2	α-Lactoalbumina (α-LA).....	20
1.3	MICROPARTICULAÇÃO.....	20
2	OBJETIVOS.....	22
2.1	OBJETIVO GERAL.....	22
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	22
3	METODOLOGIA.....	24
3.1	PRODUÇÃO.....	24
3.1.1	Produção dos substitutos.....	24
3.1.2	Produção das caldas e dos leites condensados.....	26
3.2	ANÁLISES.....	27
3.2.1	Análise do microparticulado.....	27
3.2.1.1	<i>Análise de tamanho de partícula.....</i>	<i>27</i>
3.2.1.2	<i>Taxa de desnaturação adicional.....</i>	<i>27</i>
3.2.2	Análise das caldas.....	29
3.2.2.1	<i>Umidade.....</i>	<i>29</i>
3.2.2.2	<i>Gordura.....</i>	<i>29</i>
3.2.2.3	<i>Resíduo mineral fixo (cinzas).....</i>	<i>30</i>
3.2.2.4	<i>Proteína.....</i>	<i>31</i>
3.2.3	Análise dos leites condensados.....	32
3.2.3.1	<i>Umidade.....</i>	<i>32</i>
3.2.3.2	<i>Gordura.....</i>	<i>32</i>

3.2.3.3	<i>Resíduo mineral fixo (cinzas)</i>	32
3.2.3.4	<i>Proteína</i>	32
3.2.3.5	<i>Determinação de pH</i>	33
3.2.3.6	<i>Cálcio iônico</i>	33
3.2.3.7	<i>Índice de acidez</i>	33
3.2.3.8	<i>Análise de textura</i>	34
3.2.3.9	<i>Tamanho médio de partículas</i>	34
3.2.3.10	<i>Atividade de água</i>	34
3.2.3.11	<i>Quantificação dos indicadores da reação de Maillard</i>	34
3.2.3.12	<i>Índice de escurecimento (BI)</i>	36
3.2.3.13	<i>Microscopia ótica</i>	36
3.2.3.14	<i>Reologia</i>	36
3.2.3.15	<i>Análise estatística</i>	37
4	RESULTADOS	38
4.1	ANÁLISE DO MICROPARTICULADO	38
4.2	ANÁLISE DA CALDA	39
4.2.1	Composição	39
4.3	ANÁLISE DOS LEITES CONDENSADOS	40
4.3.1	Análises composicionais	41
4.3.2	Análises físico-químicas	43
4.3.2.1	<i>pH e acidez</i>	43
4.3.2.2	<i>Cálcio Iônico</i>	44
4.3.2.3	<i>Textura</i>	45
4.3.2.4	<i>Tamanho de partículas</i>	48
4.3.2.5	<i>Atividade de água</i>	49
4.3.2.6	<i>Quantificação dos indicadores da reação de Maillard</i>	50
4.3.2.7	<i>Índice de escurecimento (BI)</i>	51

4.3.2.8	<i>Microscopia ótica</i>	52
4.3.2.9	<i>Reologia</i>	55
5	CONCLUSÃO	59
	CONSIDERAÇÕES FINAIS	61
	REFERÊNCIAS	62

1 INTRODUÇÃO

Com o aumento da busca por ingredientes lácteos com propriedades tecnológicas diferenciadas, as proteínas têm recebido destaque como um dos principais macronutrientes de interesse, em função do seu elevado valor nutricional e ampla aplicabilidade tecnológica. Estudos buscam entender como a aplicação de proteínas lácteas pode afetar diversas características dos produtos, como por exemplo, produtos concentrados como o leite condensado.

1.1 LEITE CONDENSADO

O leite condensado é considerado um alimento estratégico e de alta densidade energética devido ao seu elevado teor de sólidos lácteos e sacarose. Sua presença é marcante no mercado consumidor direto, sendo amplamente incorporado à alimentação cotidiana, não só no Brasil, como em diversos países ao redor do mundo (Renhe; Perrone; Silva, 2011). Na indústria, seu uso é igualmente versátil, com destaque em sua aplicação como ingrediente em setores de confeitaria e também na fabricação de sorvetes, sendo estes considerados os principais consumidores (Ryabova; Tolmachev; Galstyan, 2022). Do ponto de vista nutricional, o leite condensado apresenta contribuição significativa de minerais, carboidratos, gordura e proteínas, além de maior estabilidade microbiológica, a qual pode ser atribuído ao elevado teor de sólidos, favorecendo uma maior vida de prateleira, o que justifica sua inclusão em estoques alimentares estratégicos e até mesmo programas de ajuda humanitária. (Jouki, 2021; Ryabova; Tolmachev; Galstyan, 2022).

As propriedades físico-químicas do leite condensado, como viscosidade, cor, estabilidade e textura são fortemente influenciadas por seu teor de sólidos totais e interações proteicas, como as interações caseínas e as proteínas do soro. Outro fator importante é que durante processamento e armazenamento do leite condensado, onde podem ocorrer reações de escurecimento não enzimático, com destaque para a reação de Maillard, a qual é favorecida pelo teor elevado de lactose no meio, e também pelo tratamento térmico aplicado. Essas reações podem impactar tanto a qualidade sensorial, quanto o valor nutricional do produto (FOX Et Al., 2015).

Em contexto global, o leite condensado ou *sweetened condensed milk*, é definido pelo *Codex Alimentarius Commission*, como produto lácteo obtido por remoção parcial da água do

leite com adição de açúcar (FAO/WHO, 2011). Vale ressaltar que também são reconhecidas variações tecnológicas do produto, sendo estes, produtos similares, os quais podem ser obtidos por recombinação de constituintes lácteos ou por mistura de leite desnatado condensado com gordura vegetal, desde que atendam aos requisitos de composição estabelecidos. Essas normas têm como objetivo garantir padronização, segurança alimentar e qualidade dos produtos comercializados internacionalmente (Renhe; Perrone; Silva, 2011).

No Brasil, o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite Condensado (RTIQ), o entende como o produto resultante da desidratação parcial do leite, leite concentrado ou leite reconstituído, com adição de açúcar. A legislação brasileira permite que os teores de gordura e proteína possam vir a ser ajustados, desde que para atender unicamente as características do produto, além de admitir o uso de ingredientes opcionais de origem láctea, desde que não sejam utilizados ingredientes como gordura ou óleo vegetal, maltodextrina ou amidos, modificados ou não, reforçando o caráter essencialmente lácteo do produto e sua padronização com base na Regulamentação (Brasil, 2018).

A legislação brasileira, assim como o Codex Alimentarius (2011), traz parâmetros de composição para leite condensado, sendo eles gordura, sólidos lácteos totais (SL), sólidos lácteos não gordurosos (SLDG) e proteína nos sólidos lácteos não gordurosos (PSLDG), e todos os produtos vão ser classificados em nomenclatura com base nessa composição, conforme apresentado na Tabela 1 (Brasil, 2018).

Tabela 1 - Parâmetros de composição estabelecidos na legislação brasileira para leite condensado.

Classificação	Gordura (g.100 g⁻¹)	SLT (g.100 g⁻¹)	SLDG (g.100 g⁻¹)	PSLDG (g.100 g⁻¹)
Alto teor de gordura	≥ 16,0	—	≥ 14,0	≥ 34,0
Integral	≥ 8,0 e < 16,0	≥ 28,0	—	≥ 34,0
Semidesnatado	≥ 1,0 e < 8,0	≥ 24,0	≥ 20,0	≥ 34,0
Desnatado	≤ 1,0	≥ 24,0	—	≥ 34,0

Fonte: Adaptado de Brasil (2018).

SLT – Sólidos lácteos totais; SLDG – Sólidos lácteos desengordurados; PSLDG – Proteína nos sólidos lácteos desengordurados.

1.2 PROTEÍNAS DO SORO DE LEITE

O soro de leite é definido pelo Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do soro de leite (RTIQ) como um produto lácteo líquido, o qual pode ser extraído da coagulação do leite utilizado no processo de fabricação de queijos, caseína alimentar e produtos similares, sendo constituído majoritariamente por água, com seu teor de sólidos totais composto por proteínas, lactose, minerais e lipídios (Brasil, 2020). A Tabela 2 apresenta os parâmetros estabelecidos pela RTIQ.

Tabela 2 - Parâmetros de composição estabelecidos pela legislação para soro líquido.

Produto	Proteína (g.100 g ⁻¹)	Lactose (g.100 g ⁻¹)	Minerais (g.100 g ⁻¹)
Soro doce	6-10	46-52	2,5-4,7
Soro ácido	6-8	44-46	4,3-7,2

Fonte: Adaptado de Onwulata; Huth (2009).

Com o aumento na busca por hábitos alimentares mais saudáveis, a indústria de alimentos tem direcionado esforços para o desenvolvimento de alternativas capazes de substituir parcialmente a gordura em produtos alimentícios e/ou elevar o teor de proteína, sem comprometer suas características sensoriais e tecnológicas. Nesse contexto, as proteínas têm recebido destaque como um dos principais macronutrientes de interesse, em função do seu elevado valor nutricional e ampla funcionalidade tecnológica (De Paula et al., 2026b).

Dessa forma, as proteínas do soro de leite, que são uma alternativa de custo mais baixo em detrimento as caseínas, vem sendo amplamente utilizadas na indústria de alimentos, tendo como principal forma de aplicação os concentrados proteicos do soro (WPC) (Çakir-Fuller, 2015). Entretanto, o processamento das proteínas do soro de leite ainda se mostra um grande desafio tecnológico, destacando-se a elevada sensibilidade dessas proteínas a tratamentos térmicos, podendo sofrer desnaturação em temperaturas relativamente baixas, frequentemente atingidas durante processamento e armazenamento. Como consequência, alterações estruturais e funcionais indesejáveis podem surgir, incluindo agregação proteica, perda de solubilidade, aumento da viscosidade, instabilidade, entre outros (Wijayanti; Bansal; Deeth, 2014). Essas mudanças são capazes de comprometer tanto o processamento industrial quanto a estabilidade físico-química e a qualidade do produto final ao longo de sua vida de prateleira (Bonnaillie; Tomasula, 2008; Paula et al., 2025; De Paula et al., 2026a).

As proteínas do soro de leite são proteínas globulares, com estruturas secundária e terciária bem definidas, e diferente das caseínas, que são mais estáveis quando comparadas, elas perdem sua e conformação nativa em faixas de temperaturas menores (Anema, 2020). Essas proteínas são definidas como β -lactoglobulina (β -LG), α -lactoalbumina (α -LA), caseinomacropéptido (CMP), imunoglobulinas (IGs), albumina do soro bovino (BSA), lactoferrina (LF) e outras proteínas, onde o CMP aparece exclusivamente no caso do soro doce, visto que é uma proteína resultante da coagulação enzimática (De Paula *et al.*, 2024). A Tabela 3 traz mais detalhadamente a composição do soro doce, obtido a partir de uma coagulação enzimática.

Tabela 3 - Composição proteica total aproximada do soro de leite doce.

Fração proteica	Proporção (g.100 g ⁻¹ de proteína)
β -LG	48,0 – 58,0
α -LA	13,0 – 19,0
CMP	12,0 – 20,0
IGs	8,0 – 12,0
BSA	6,0 – 7,0
LF	1,0 – 3,0
Outras proteínas	0,5 – 1,0

Fonte: Adaptado de Tavares (2020).

1.2.1 β -lactoglobulina (β -LG)

A β -LG, sendo a fração majoritária dentre as proteínas de soro, representa cerca de 48% a 58% do total proteico. Apresenta caráter ácido e ponto isoelétrico em torno de 5,2, além de apresentar estabilidade térmica elevada em detrimento as outras proteínas do soro de leite, com temperatura de desnaturação de aproximadamente 75 °C. Além disso, é amplamente utilizada na indústria alimentícia por suas propriedades funcionais, como estabilização e textura (Bonnaillie; Tomasula, 2008; De Wit, 1990; Tolkach; Kulozik, 2007).

Estruturalmente, possui ligações dissulfeto que conferem estabilidade, além de comportamento dependente do pH, existindo nas formas dimérica ou monomérica conforme a faixa de pH (Tavares, 2020).

1.2.2 α -Lactalbumina (α -LA)

A α -LA é a proteína em maior proporção no leite humano, e pode ser encontrada em leites de todas as espécies, demonstrando o seu alto valor biológico (Tolkach; Kulozik, 2007; Tavares, 2020). Trata-se da segunda principal proteína presente no soro de leite, representando entre 13% e 19% (m.m⁻¹) do total de proteínas.

Assim como a β -LG, a α -LA caracteriza-se como uma proteína de natureza ácida, apresentando ponto isoelétrico próximo de 4,4. (Golebiowski *et al.*, 2022). Apresenta um sítio de ligação para cálcio, e sua associação com esse íon aumenta sua estabilidade térmica, fazendo com que esta varie de 30 à 60 °C, além disso, sua estrutura apresenta oito resíduos cisteína, formando quatro ligações dissulfeto que contribuem para sua estabilidade (Ge *et al.*, 2024; Permyakov, 2020; Tavares, 2020).

1.3 MICROPARTICULAÇÃO

Uma alternativa que vem sendo aplicada para diminuir o problema causado pela desnaturação térmica das proteínas do soro de leite durante o processamento, é a microparticulação (Kerche; Weterings; Beyrer, 2016). Se trata de um processo termo-mecânico no qual são aplicados temperatura e cisalhamento, ambos controlados, com o intuito de desnaturar e restringir o crescimento dos agregados proteicos, evitando a formação de gel. Por meio desse processo, obtém-se uma combinação de proteínas desnaturadas e proteínas nativas, formando partículas com tamanhos que variam entre 0,1 μ m e 10 μ m. Além disso, é importante ressaltar que o processo de microparticulação pode ser afetado por diversos fatores, sendo eles concentração e composição proteica, tratamento térmico, presença de carboidratos, composição mineral, pH e taxa de cisalhamento (Tanger, 2022; Renard *et Al.*, 2002; Sun *et Al.*, 2015).

Essas proteínas, quando microparticuladas, apresentam maior estabilidade térmica, melhor capacidade emulsificante e propriedades de gelificação, além de reproduzirem a textura similar à da gordura se reduzidos a tamanhos próximos aos dos glóbulos de gordura do leite homogeneizado (0,5–3,0 μ m), sendo aplicadas em produtos como iogurtes, bebidas lácteas, doce de leite, queijos, molhos para salada, dentre outros, a fim de melhorar as características do produto em detrimento a aplicação de proteínas não microparticuladas (Chung; Degner; Mcclements, 2014; De Paula *et al.*, 2026b). Estudos relatam que a aplicação das MWP's pode influenciar diversas características nos produtos, e além das anteriormente mencionadas,

também pode causar o aumento da solubilidade e da retenção de água, e modificar propriedades sensoriais e reológicas (De Paula *et al.*, 2026b).

No entanto, não existem estudos que mostrem o potencial de aplicação das proteínas do soro de leite microparticuladas em leite condensado. Dessa forma, o trabalho busca investigar o potencial de aplicação das proteínas do soro de leite microparticuladas na formulação do leite condensado, visando o aproveitamento de subprodutos lácteos e a melhoria das propriedades funcionais e nutricionais do produto final, tendo como foco principal entender como as proteínas microparticuladas influenciam na reologia do leite condensado e modulam assim, a sua viscosidade.

2 OBJETIVOS

Este tópico apresenta os objetivos que orientam o desenvolvimento do presente projeto, destacando todos os critérios que foram executados durante o mesmo.

2.1 OBJETIVO GERAL

O presente trabalho tem como objetivo desenvolver formulações de leite condensado (LC) por meio da substituição parcial do leite por leite em pó desnatado reconstituído (do inglês *skimmed milk powder*), concentrado proteico de soro – WPC (do inglês *whey protein concentrate*) e proteína do soro de leite microparticulada – MWP (do inglês *microparticulated whey protein*), aplicadas em duas concentrações distintas (2,0 e 4,0% m.m⁻¹). Busca-se, com isso, avaliar as alterações provocadas por essa substituição nas propriedades físico-químicas e reológicas no produto final, com o intuito de entender a capacidade da proteína de atuar como um ingrediente modulador de viscosidade nos produtos. Além disso, pretende-se comparar os resultados obtidos com os parâmetros de produtos convencionais (Controle), afim de verificar a viabilidade tecnológica e funcional dessas formulações alternativas.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar a desnaturação proteica adicional e o tamanho médio das partículas do WPC antes e após o processo de microparticulação (MWP);
- Analisar a composição das caldas dos sete leites condensados antes do processo de evaporação;
- Produzir sete formulações de leite condensado, em que uma delas tem em sua composição apenas leite e açúcar (Controle) e nas outras seis, o leite é parcialmente substituído em duas concentrações diferentes (2,0% e 4,0% da massa total da mistura) por três diferentes substituintes, sendo estes: leite em pó desnatado reconstituído (SMP), concentrado proteico do soro de leite (WPC) e proteína do soro de leite microparticulada (MWP);
- Avaliar as características físico-químicas e de composição das formulações produzidas;
- Realizar análise de textura de todos os leites condensados produzidos;
- Analisar o tamanho médio (Dv₅₀) das partículas de cada leite condensado;

- Analisar a atividade de água dos produtos durante um *shelf-life* de 28 dias (D1, D7, D14 e D28), onde a letra D acompanhada do número representa o dia de *shelf-life* após fabricação em que os produtos serão analisados);
- Quantificar os marcadores da reação de Maillard nos leites condensados, sendo estes HMF (5- hidroximetilfurfural); F (2-furaldeído), FMC (2-furil-metilcetona); MF (5-metil-2-furaldeído) no primeiro e no último dia de *shelf-life* (D1 e D28);
- Analisar o índice de escurecimento (BI) dos produtos durante o *shelf-life* de 28 dias (D1, D7, D14 e D28);
- Acompanhar o perfil cristalização dos produtos durante o *shelf-life* de 28 dias (D1, D7, D14 e D28);
- Realizar análises de reologia durante o *shelf-life* de 28 dias (D1, D7, D14 e D28).

3 METODOLOGIA

Abaixo estão descritos os procedimentos experimentais adotados para a elaboração das formulações de leite condensado, bem como as etapas de processamento e as análises realizadas.

3.1 PRODUÇÃO

Foram elaboradas sete formulações de leite condensado, sendo seis delas com substituições parciais do leite por diferentes ingredientes lácteos e uma o produto de referência (Controle). A composição das formulações se encontra disposta na Tabela 4.

Os substitutos utilizados nas formulações foram SMP, WPC e MWP, nas proporções de 2,0% e 4,0% da massa total da mistura.

Tabela 4 - Proporção dos ingredientes para fabricação dos leites condensados.

Ingredientes	Controle	Formulações 2,0%	Formulações 4,0%
Leite (g.100 g ⁻¹)	85,0	83,0	81,0
SMP, WPC ou MWP (g.100 g ⁻¹)	-	2,0	4,0
Açúcar (g.100 g ⁻¹)	15,0	15,0	15,0

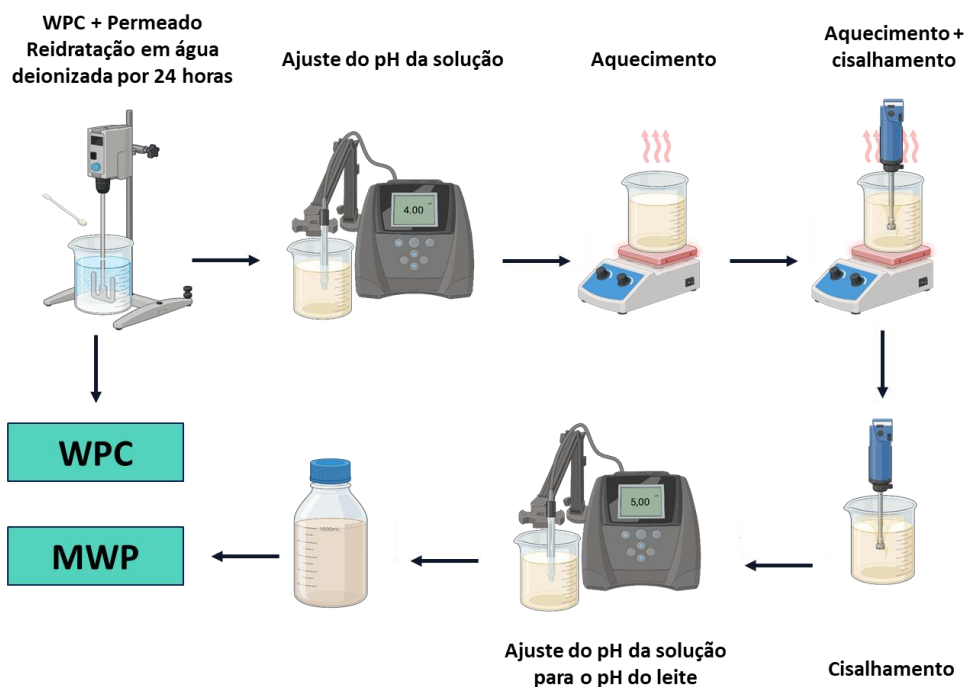
Fonte: Elaborado pelo autor (2026).

Abreviações: SMP – leite em pó desnatado; WPC – concentrado proteico do soro de leite; MWP – proteína do soro de leite microparticulada.

3.1.1 Produção dos substitutos

Todos os substitutos são soluções ajustadas para um teor final de 10% (m.m⁻¹) de proteína. O SMP foi obtido a partir da reidratação de leite em pó semidesnatado em água deionizada. O WPC também é obtido a partir da reidratação do WPC80% (concentrado proteico do soro com 80% de proteína) e permeado do soro de leite em água deionizada. A MWP foi produzida a partir da aplicação do processo de microparticulação no WPC conforme apresentado no Figura 1.

Figura 1 - Produção da proteína microparticulada do soro de leite (MWP).



Fonte: Elaborada pelo autor (2026).

Para a reidratação do SMP foram adicionadas 40 g de leite em pó desnatado em 110 g de água. Essa solução foi agitada manualmente e foi mantida sob refrigeração por 24 horas a (4° C), com um teor de sólidos final de 26,7% (m.m⁻¹).

Para o WPC, foi colocada sob agitação por 1 hora uma mistura de 183,93 g de WPC80%, 116,07 g de permeado do soro de leite e 1130,58 g de água deionizada. Em seguida, a solução foi armazenada sob refrigeração (4 °C) por 24 horas a fim de garantir melhor reidratação dos pós.

Por fim, a MWP foi produzida a partir da aplicação de tratamento térmico e cisalhamento controlados no WPC, onde inicialmente, 1000 g do WPC foram submetidos a ajuste de pH com ácido láctico para um valor de 4,0. A solução foi então aquecida em um simulador de processos (Thermomix TM5) até atingir um valor entre 95 e 98 °C, e ao alcançar essa temperatura foi submetida a cisalhamento a 3100 rpm, simultaneamente. Após o fim do tempo de aquecimento, o produto passou por um cisalhamento ainda mais intenso, de 20000 rpm em um homogenizador Ultraturrax (IKA T25), e, por fim, foi feito um ajuste de pH para o mesmo valor apresentado para o leite utilizado (Vital *et al*, 2025).

3.1.2 Produção das caldas e dos leites condensados

Para a produção, foi utilizado um rotaevaporador BUCHI R-205 acoplado a um banho de aquecimento BUCHI B-490 e a uma bomba de vácuo Edwards RV8.

Como todo o processo foi feito com base em balanço de massa, foi necessário realizar além das análises de composição, algumas análises físico-químicas para o leite utilizado. Tratava-se de um leite UHT obtido em Juiz de Fora, contendo 0,69 g.100 g⁻¹ de resíduo mineral fixo (cinzas), 3,23 g.100 g⁻¹ de proteína, 3,60 g.100 g⁻¹ de gordura e 4,80 g.100 g⁻¹ de lactose em sua composição, totalizando 12,29 % g.100 g⁻¹ de sólidos totais. Além disso, o leite apresentava uma densidade de 1,031 g.mL⁻¹ à temperatura de 15 °C e um pH de 6,64 a 22 °C. Com esses resultados foi possível calcular o peso final de leite condensado, considerando também as quantidades de cada ingrediente utilizado.

Para o leite condensado Controle, foram utilizados 1300 g de leite e 229,71 g de açúcar, totalizando 1529,71 g de calda. Na sequência, os ingredientes foram misturados em uma Thermomix (TM5) por 5 minutos a 200 rpm. Dessa quantidade total de calda, 1300 g foram levadas ao rotaevaporador para a produção do leite condensado, enquanto o restante foi reservado para análises de composição. Já para os leites condensados com 2,0% (m.m⁻¹) de substituição, foram utilizados 1269,41 g de leite, 30,59 g do substituto e 229,71 g de açúcar. A massa total de calda foi a mesma obtida para o controle (1529,71 g), assim como a massa reservada e a massa utilizada para a rotaevaporação. Por fim, o mesmo foi feito para o produto com 4,0% (m.m⁻¹) de substituição, diferenciando-se apenas pela massa de leite e de substituto, sendo estas 1238,82 g e 61,18 g, respectivamente.

Para cada produção, os 1300 g de calda eram aspirados por uma mangueira para dentro do balão, que estava sob efeito de pressão reduzida, girando em um banho com temperatura de 38-40 °C. Quando toda calda já havia sido aspirada para dentro do balão e o produto já havia sido parcialmente concentrado, a temperatura foi sendo elevada até 50 °C. O tempo de produção de cada leite condensado durou em torno de 2 horas e 30 minutos, e o fim da produção era definido pela massa final de leite condensado no balão (com base no cálculo de balanço de massa realizado).

Após cada produção, era adicionado 0,05% (m.m⁻¹) de sorbato de potássio em relação ao valor da massa final de leite condensado obtido, para garantir a conservação dos produtos e 0,05% (m.m⁻¹) de lactose micronizada, a fim de induzir a cristalização da lactose de forma controlada e evitar a formação de cristais maiores e perceptíveis ao paladar durante o *shelf-life*.

As formulações eram mantidas sob agitação durante um período de 15-18 horas e eram sequencialmente envasadas, lacradas e armazenadas a temperatura ambiente. Um pote era aberto toda semana, durante um mês, para que fossem feitas as análises em *shelf-life*. Foram realizadas 3 produções de cada leite condensado.

3.2 ANÁLISES

A efetividade do processo de microparticulação foi avaliada por meio de duas análises descritas no tópico 3.2.1.

3.2.1 Análise do microparticulado

A caracterização do microparticulado foi realizada por meio de duas análises complementares, com o objetivo de avaliar as características do produto obtido após o processo de microparticulação.

3.2.1.1 Análise de tamanho de partícula

A distribuição do tamanho de partículas dos leites condensados foi realizada em um analisador de tamanho de partículas por difração a laser LS 13 320 (Beckman Coulter), acoplado ao módulo líquido *Aqueous liquid module* (Beckman Coulter). Os dados foram coletados na região entre 0,375 μm e 2000 μm , com tempo de coleta de 90 segundos. Os resultados são obtidos utilizando 1,333 como índice de refração para o meio dispersante. Considerando que o valor do índice de refração das amostras ainda não é conhecido, a aproximação de Fraunhofer foi utilizada para obtenção dos dados, afim de garantir a confiabilidade dos dados coletados. As amostras eram adicionadas com auxílio de uma pipeta e medidas pelo equipamento durante 5 corridas. A análise foi realizada em duplicata.

3.2.1.2 Taxa de desnaturação adicional

A separação e a quantificação dos analitos de interesse foram realizadas por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (*High Performance Liquid Chromatography – HPLC*) em fase reversa, utilizando equipamento Waters modelo 1525, com detector UV-Vis do

tipo arranjo de diodos (*DAD – Photodiode Array Detector*) e bomba binária. A separação cromatográfica foi conduzida em coluna Phenomenex Luna 5 μm (250 mm $\times$ 4,6 mm; 100 Å), mantida a 40 °C. O volume de injeção foi de 20 μL , sendo a α -LA e a β -LG monitoradas no comprimento de onda de 214 nm (De Paula *et al.*, 2024).

A eluição em gradiente foi realizada com mistura de dois solventes e a fase móvel foi composta por 0,1% de TFA (ácido trifluoroacético P.A) em água ultrapura (solvente A) e 0,09% de TFA em solução contendo 90% de acetonitrila e 10% de água ultrapura (solvente B). A Tabela 5 mostra o programa de gradiente linear (De Paula *et al.*, 2024).

O preparo de amostras para posterior injeção se baseou em centrifugar 2 mL da amostra em Eppendorfs por 10 minutos à 15.000 rpm, seguido da retirada do sobrenadante. Em seguida as amostras eram filtradas em filtros de 0,45 μm e diluídas de acordo com a necessidade para que o resultado fosse obtido entre os limites da curva. As análises foram realizadas em duplicata.

Tabela 5 - Modo de eluição gradiente aplicado para determinação das frações proteicas α -LA e β -LG.

Tempo (min)	Fluxo (mL.min ⁻¹)	Solvente A (% v.v ⁻¹)	Solvente B (% v.v ⁻¹)
0	0,5	80	20
3	0,5	60	40
5	0,5	55	45
7	0,5	50	50
9	0,5	20	80
14	0,5	80	20
15	0,5	80	20

Fonte: De Paula *et al.* (2024).

A porcentagem de desnaturação da β -lactoglobulina e da α -lactoalbumina foi calculada utilizando a Equação 1, conforme descrito por Çakir-Fuller (2015).

$$\text{Equação 1: } \% \text{ desnaturação} = \left(1 - \frac{MWP}{WPC}\right) \times 100$$

Onde, WPC equivale ao teor de proteína do soro do leite nativa e MWP equivale ao teor de proteína do soro do leite microparticulada nativa.

3.2.2 Análise das caldas

As caldas foram caracterizadas quanto aos parâmetros físico-químicos de interesse, visando à avaliação de suas propriedades antes da etapa de concentração e obtenção dos leites condensados.

3.2.2.1 Umidade

O teor de umidade foi obtido a partir da determinação do extrato seco, que foi realizada pelo método gravimétrico, baseado na perda de umidade da amostra por dessecação em estufa e posterior pesagem (AOAC, 1992). Foi utilizada uma cápsula de alumínio contendo pérolas e bastão de vidro, previamente seca a 105 °C em uma estufa por 1 hora e resfriada em dessecador. A cápsula foi então pesada (T) e, em seguida, adicionada uma porção conhecida da amostra de calda (aproximadamente 5 g), anotando-se a massa total (Pi). O sistema foi levado à estufa a 105 °C por 3 horas, resfriado em dessecador e pesado novamente. As etapas de aquecimento e pesagem foram repetidas a cada 1 hora até que duas medições sucessivas apresentem variação inferior a 0,5 mg (Pf). O teor de extrato seco total foi calculado a partir da Equação 1. A umidade foi então calculada a partir da Equação 2. A análise foi realizada em duplicata para cada uma das repetições.

$$\text{Equação 2:} \quad \%ES = \frac{Pf-T}{Pi-T} \times 100$$

$$\text{Equação 3:} \quad \text{umidade (\%)} = 100\% - \%ES$$

3.2.2.2 Gordura

A análise de gordura foi realizada a partir de uma adaptação do que foi descrito pelo método oficial de Roesse-Gottlieb (IDF, 1987). A análise deu início ao se adicionar 3 g da calda (m) em um béquer, solubilizando em água destilada a 50 °C e completado para um volume de 10 mL em balão volumétrico. Dois balões de fundo chato (capacidade 150 mL - 250 mL) foram secos por uma hora em estufa a 102 ± 2 °C e resfriados em dessecador, sendo um deles para o branco (P₄). Os balões foram então pesados (P₂ e P₄) e reservados para adição da gordura e demais solventes. Nos frascos de Mojonnier foram adicionados a amostra preparada (10 mL de

água destilada para prova em branco) e 2 mL de solução de hidróxido de amônia 25% (m.v⁻¹). A amostra foi então agitada, seguida da adição de 10 mL de álcool etílico P.A. O frasco foi novamente agitado, cuidadosamente, deixando o líquido fluir entre os dois bulbos. Na sequência, duas gotas de vermelho congo 1% (m.v⁻¹) foram adicionadas a ambos os frascos, os quais foram agitados e adicionados de 25 mL de éter etílico P.A. O tubo foi fechado e agitado vigorosamente. Por fim, 25 mL de éter de petróleo P.A. foram transferidos para os frascos, reumidecendo a tampa e agitando por 30 segundos. O frasco de Mojonnier foi mantido em repouso por 30 minutos para separação das fases e o sobrenadante foi transferido para o balão de fundo chato, segurando o frasco de extração pelo bulbo menor. Para a segunda parte da extração, foram adicionados 5 mL de álcool etílico ao frasco de Mojonnier, para prevenir a formação de uma camada aquosa viscosa ou gelificada, seguidos de 15 mL do éter etílico e 15 mL do éter de petróleo. Por fim, o sobrenadante foi novamente transferido para o balão e uma última extração foi realizada, omitindo o uso do álcool, e o sobrenadante final foi vertido no balão uma última vez antes de ser levado a um rotaevaporador a vácuo para que os solventes ali presentes fossem removidos. O balão foi colocado em estufa a 102 ± 2 °C por 1 hora, removido e deixado em dessecador para resfriar e ser pesado posteriormente. O processo foi repetido até que a massa dos balões não variasse mais, sendo P_1 a massa do balão de amostra contendo somente a gordura e P_2 a massa do branco após as extrações. O teor de gordura foi calculado com base na Equação 3, onde Gd% equivale ao teor de gordura na amostra.

Equação 4:
$$Gd\% = \frac{(P_1 - P_2) - (P_3 - P_4)}{m} \times 100$$

3.2.2.3 *Resíduo mineral fixo (cinzas)*

As cinzas dos leites condensados foram determinadas em forno mufla Q318M21 (Quimis). Antes da realização da análise foi necessário aquecer os cadinhos em temperatura de 550 °C por 30 minutos, após esse tempo os cadinhos foram colocados em um dessecador para resfriar, e em seguida eles foram pesados (m_1). Para a análise, pesou-se aproximadamente 3 g de cada uma das caldas (m_c) nos respectivos cadinhos, e estes foram colocados na mufla para aquecimento em 550 °C até total incineração. O tempo final de incineração foi considerado como o momento em que foi obtido cinzas completamente brancas. Por fim, os cadinhos foram retirados da mufla e armazenados em dessecador até resfriar e depois pesados com as cinzas

(m_2), com a porcentagem determinada pela Equação 4 (Brasil, 2014). A análise foi realizada em duplicata para cada uma das repetições.

$$\text{Equação 5:} \quad \% \text{cinzas} = \frac{(m_2 - m_1) \times 100}{m_c}$$

3.2.2.4 Proteína

Foram analisadas em cada uma das caldas, teores de nitrogênio total (NT). Para isso, foi aplicado o método semi-micro *Kjeldahl* utilizando um digestor com rampas e patamares de aquecimento da marca TECNAL (TE-041/25) e um destilador de nitrogênio também da mesma marca (TE-0364). As amostras foram avaliadas na faixa do semi-micro *Kjeldahl*, que compreende de 0,1 mg a 2,0 mg de nitrogênio presente no tubo (Wolfschoon-Pombo, 1980).

Para a análise de NT das caldas, a amostra foi diluída em água para garantir homogeneidade e reprodutibilidade dos resultados analíticos, bem como assegurar que a alíquota se encontrasse dentro da faixa analítica (semi-micro *Kjeldahl*) e de acordo com o procedimento de digestão, evitando projeção durante o aquecimento. Foram preparadas soluções com concentração de 10% (m.m⁻¹), conforme adaptação feita a partir da AOAC de nº 991.20 para leite cru (AOAC, 1994). Foram pesadas então, 3 g da solução 10% (m.m⁻¹) nos tubos e 1,6 g da mistura de catalisadores nos tubos contendo pérolas de vidro. Em seguida, cerca de 4 mL de ácido sulfúrico P.A. foram adicionados e os tubos foram agitados cuidadosamente, sendo posteriormente submetidos à digestão. As amostras foram adicionadas de hidróxido de sódio 50% (m.v⁻¹) e destiladas em erlenmeyers contendo uma mistura de ácido bórico e indicador, e então tituladas com HCL 0,01 mol/L. A partir do NT foi possível obter o valor de proteína total (PT) presente na amostra, esse resultado pode ser obtido a partir da Equação 5, onde 6,38 equivale ao fator de conversão de nitrogênio para proteínas lácteas. A análise foi realizada em triplicata para cada produto em cada repetição.

$$\text{Equação 6:} \quad PT = NT \times 6,38$$

3.2.3 Análise dos leites condensados

A caracterização dos leites condensados foi realizada por meio de análises físico-químicas e reológicas, com o objetivo de avaliar os efeitos das diferentes formulações sobre as características dos produtos obtidos.

3.2.3.1 Umidade

A análise de umidade foi realizada para o leite condensado conforme já descrito anteriormente no tópico 3.2.2.1 para cada uma das caldas. As análises foram realizadas em duplicata para cada uma das repetições.

3.2.3.2 Gordura

As análises de gordura para as amostras de leite condensado foram realizadas utilizando a mesma metodologia descrita no tópico 3.2.2.2. As análises foram realizadas em duplicata para cada uma das repetições.

3.2.3.3 Resíduo mineral fixo (cinzas)

As análises de cinzas dos leites condensados produzidos foram realizadas em forno mufla, seguindo a metodologia utilizada para as caldas (tópico 3.2.2.3). As análises foram realizadas em duplicata para cada uma das repetições.

3.2.3.4 Proteína

Foram determinados nos leites condensados produzidos os teores de nitrogênio total (NT), onde a análise se mostrou muito similar ao que foi realizado para as caldas no tópico 3.2.2.4. Assim como feito para a calda, as amostras foram avaliadas na faixa do semi micro *Kjeldahl*, compreendendo 0,1 mg a 2,0 mg de nitrogênio presente no tubo (Wolfschoon-Pombo, 1980).

Para a análise, foram preparadas soluções 5% (m.m^{-1}) de cada uma das amostras, conforme adaptação da AOAC de nº 991.20 para leite cru (AOAC, 1994). Foram pesadas 2 g

dessa solução nos tubos que foram levados ao digestor contendo o catalizador, o ácido e as pérolas de vidro. As amostras foram então destiladas e tituladas. O cálculo foi o mesmo utilizado na seção 3.2.2.4.1 (Equação 5). A análise foi realizada em triplicata para cada produto em cada repetição.

3.2.3.5 *Determinação de pH*

As medidas de pH das amostras foram feitas em pHmetro digital portátil PH1400 (Gehaka). O equipamento foi previamente calibrado com soluções padrão de pH 4,00 e 7,00 e, em seguida, as medidas foram realizadas pela inserção do eletrodo diretamente nas amostras, sendo considerado o valor retornado pelo equipamento. As análises foram realizadas em duplicata.

3.2.3.6 *Cálcio iônico*

O cálcio iônico foi medido no equipamento LAQUAtwin (Horiba). Inicialmente foi preparada uma solução de leite condensado diluído em água deionizada 20% (m.m⁻¹), a qual foi colocada sobre o sensor do equipamento previamente na faixa de 15-150 ppm. O resultado em ppm retornado pelo equipamento foi convertido para mmol/L ao ser dividido pela massa molar do cálcio (40 g.mol⁻¹), além de ter sido considerada a diluição feita na hora de se calcular o resultado. As análises foram realizadas em duplicata.

3.2.3.7 *Índice de acidez*

Foram pesados aproximadamente 10 g da amostra, aos quais foram adicionados 30 mL de água deionizada aquecida a aproximadamente 60 °C. A solução foi titulada com hidróxido de sódio (0,1 mol·L⁻¹) até que se atingisse o pH de 8,30. O volume de titulante utilizado foi então anotado e, em seguida, a acidez foi calculada em g de ácido láctico por 100 g de amostra, conforme a Equação 6, adaptado de ISO/TS 22113; IDF/ RM 204 (2012).

Equação 7:
$$acidez = \frac{v \times 0,9}{m}$$

Sendo, v o volume de hidróxido de sódio adicionado e m a massa de leite condensado pesada. As análises foram feitas em duplicata.

3.2.3.8 *Análise de textura*

Foi utilizado um equipamento para análise de textura (Brookfield, modelo CT3 Texture Analyzer), onde os parâmetros de dureza, coesividade e gomosidade foram medidos. Utilizou-se o método de medição TPA (*Texture Profile Analysis*), com profundidade na amostra de 4,0 mm, ponto de gatilho de 10 g, velocidade da análise em $0,50 \text{ mm.s}^{-1}$ e foi utilizado o probe TA25/1000 para as análises.

3.2.3.9 *Tamanho médio de partículas*

A análise de tamanho de partículas para o leite condensado foi realizada conforme descrito no tópico 3.2.1.1 para o WPC e MWP, utilizando os mesmos parâmetros e mesmo equipamento. A análise foi realizada em duplicata.

3.2.3.10 *Atividade de água*

A atividade de água foi determinada no equipamento LabSwift-aw (Novasina), onde a amostra foi adicionada ao recipiente (porta amostra) e colocada no equipamento, o qual retornou a leitura direta após o fim da análise. A análise foi realizada em duplicata nas 4 semanas do *shelf-life*, correspondente aos 28 dias.

3.2.3.11 *Quantificação dos indicadores da reação de Maillard*

Foram determinados quatro indicadores intermediários da reação de Maillard nas amostras de leite condensado, sendo eles o 5-hidroximetilfurfural (HMF), 2-furaldeído (F), 2-furil-metilcetona (FMC) e 5-metil-2-furaldeído (MF). A quantificação desses compostos foi realizada em dois diferentes períodos de estocagem, inicial e final (D1 e D28) após a produção. Dessa forma, as amostras eram congeladas no dia correspondente do *shelf-life* e posteriormente descongeladas e analisadas. Os analitos foram quantificados por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) de fase reversa, em um equipamento modelo 1525 (Waters), acoplado a um

detector UV-Vis do tipo arranjo de diodos (PDA – *Photodiode Array Detector*). Um sistema de eluição de gradiente foi utilizado, conforme descrito na Tabela 6, com fluxo de 1 mL.min⁻¹.

Para a quantificação, foi utilizada a metodologia descrita por Pinto (2023). Curvas analíticas específicas foram preparadas para cada um dos indicadores em todos os tempos de análise. Os dados analíticos foram gerados com o software Empower™ e tratados no Microsoft Excel.

A separação foi realizada em uma coluna Waters Spherisorb (150 mm × 4,6 mm; tamanho de partícula de 3 µm), mantida a 30 °C. O volume de injeção utilizado foi de 20 µL, e os analitos detectados no comprimento de onda de 284 nm (Celestino, 2023; Pinto, 2023).

Tabela 6 - Modo de eluição de gradiente para a determinação dos indicadores da reação de Maillard.

Tempo (min)	Fluxo (mL.min ⁻¹)	Água (% v.v ⁻¹)	Acetonitrila (% v.v ⁻¹)
0	1,0	95,5	4,5
5	1,0	80,0	20,0
9	1,0	95,5	4,5
10	1,0	95,5	4,5

Fonte: (Pinto, 2023).

Para o preparo das amostras, foi transferido 1 g de leite condensado em um béquer o qual foi diluído em água ultrapura e transferido para um balão volumétrico de 10 mL, onde o volume foi ajustado para o menisco. Em seguida, uma alíquota de 1 mL dessa solução foi retirada e diluída em 200 µL de água ultrapura em um tubo tipo Eppendorf. A solução foi então homogeneizada em vórtex por 20 segundos. Posteriormente, foram adicionados 300 µL de ácido tricloroacético (TCA) a 55% (m.v⁻¹), e a amostra foi novamente misturada em vórtex por mais 20 segundos. Essa solução foi então centrifugada por mais 10 minutos. Após a centrifugação, foram retirados 500 µL do sobrenadante, aos quais foram adicionados 100 µL de água ultrapura e 300 µL de TCA. A nova solução foi centrifugada por 20 minutos, e o sobrenadante resultante foi coletado e filtrado em filtro de 0,45 µm. Após esse preparo, a amostra foi injetada no CLAE (Pinto, 2023). Essa análise foi realizada em duplicata para cada amostra.

3.2.3.12 Índice de escurecimento (BI)

Para a análise do índice de escurecimento dos produtos, foi utilizada a escala CIELAB (*Commission Internationale de l'Éclairage*), que consiste em cinco parâmetros: L^* , a^* , b^* , C^* e h . Todos esses parâmetros foram determinados por meio de um medidor colorimétrico modelo CR-400 (Konica Minolta) (Paula *et al.*, 2021).

Como o objetivo era o índice de escurecimento (BI – do inglês *browning index*) este foi determinado utilizando 3 dos 5 parâmetros fornecidos pelo equipamento, sendo eles L^* , a^* e b^* obtidos na análise colorimétrica, conforme as Equações 7 e 8 (Queiroz *et al.*, 2021). A análise colorimétrica foi realizada em triplicata durante o *shelf-life* de 28 dias (D1, D7, D14 e D28).

Equação 8:

$$BI = 100 \times \frac{(x-0,31)}{0,17}$$

Onde,

Equação 9:

$$x = \frac{(a^* + 1,75 \times L)}{(5,645 \times L + a^* - 3,012 \times b^*)}$$

3.2.3.13 Microscopia ótica

O perfil de cristalização de cada tratamento foi monitorado utilizando um microscópio ótico (Medilux MC30 Optical, Países Baixos), com uma objetiva de 40x e magnificação de 0,85 (lente ocular), conforme descrito por PINTO *et al.* (2025). A análise foi realizada durante o *shelf-life* de 28 dias (D1, D7, D14 e D28).

3.2.3.14 Reologia

A análise reológica foi realizada utilizando o reômetro Thermo Scientific (modelo: Haake Viscotester iQ) e o modelo Herschel-Bulkley para o ajuste do gráfico de taxa de cisalhamento (eixo X). Utilizou-se da geometria de placas paralelas com uma temperatura de análise de 25 °C. A aquisição de dados foi conduzida com um aumento de 0,1 s⁻¹ para 100,0 s⁻¹ ao longo de um período de 200 s e uma diminuição de 100,00 s⁻¹ para 0,1 s⁻¹ ao longo de um período de 200 s (VIEIRA, 2024). A análise foi realizada em duplicata durante o *shelf-life* de 28 dias (D1, D7, D14 e D28).

3.2.3.15 Análise estatística

As análises estatísticas foram realizadas em um nível de significância de 0,05, por meio do teste de Tukey, com o auxílio do *software* R, versão 4.1.2 (*The R[®] Foundation for Statistical Computing*). Os parâmetros avaliados foram obtidos pelo *software* Waters Empower™ e tratados estatisticamente no Microsoft Excel[®].

4 RESULTADOS

Neste tópico são apresentados e discutidos os resultados obtidos a partir das análises realizadas, com base na caracterização do microparticulado e na avaliação de seus efeitos sobre as propriedades físico-químicas e reológicas das formulações de leite condensado desenvolvidas.

4.1 ANÁLISE DO MICROPARTICULADO

Para garantir a efetividade do processo de microparticulação que foi aplicado ao WPC, foram realizadas análise de tamanho de partícula e desnaturação proteica adicional.

O WPC apresentou tamanho médio de partículas de $10,42 \pm 1,77 \mu\text{m}$ e, após passar pelo processo de microparticulação, apresentou o valor de $3,63 \pm 0,09 \mu\text{m}$ (MWP). Os resultados são satisfatórios e se encontram dentro do valor esperado, visto que o tamanho de partículas ideal para que a proteína microparticulada não transmita uma percepção arenosa na boca encontra-se abaixo de $20 \mu\text{m}$, como observado por Spiegel (1999). Enquanto isso, em outro estudo foi mostrado que diâmetros agregados entre $0,5$ e $10 \mu\text{m}$ são adequados para se obter uma sensação suave na boca, similar à gordura (Spiegel & Huss, 2002).

Tabela 7 – Teor de proteínas nativas presentes no WPC antes e após o processo de microparticulação (MWP).

Fração proteica	WPC (g.100 g ⁻¹)	MWP (g.100 g ⁻¹)	Porcentagem de desnaturação adicional (%)
α -LA	$1,01 \pm 0,15$	$0,44 \pm 0,05$	56,44
β -LG	$4,98 \pm 0,64$	$0,13 \pm 0,02$	97,38

Fonte: Elaborado pelo autor (2026).

Abreviações: WPC – concentrado proteico do soro de leite; MWP – proteína do soro de leite microparticulada.

Já em relação à desnaturação proteica adicional, os resultados também foram favoráveis, como mostrado na Tabela 7, indicando que houve um alto percentual para a β -LG (97,38%) e um valor razoável para a α -LA (56,44%), o que é um resultado relevante, considerando que a β -LG representa em torno de 60% das proteínas do soro de leite (Edwards; Jameson, 2014). Além do tamanho dos agregados, a desnaturação proteica é essencial e tem papel fundamental na produção de proteínas microparticuladas (Tolkach & Kulozik, 2007).

4.2 ANÁLISE DA CALDA

Foram armazenadas uma alíquota de todas as sete caldas (produto antes do processo de evaporação) para que pudessem ser avaliadas em termos de composição.

4.2.1 Composição

Foram avaliados os teores de umidade, gordura, proteína e cinzas em todas as caldas produzidas (Tabela 8), onde 15% (m.m⁻¹) de cada uma delas era composta por sacarose adicionada. Tais análises foram realizadas com o objetivo de visualizar se era mantida uma padronização entre as caldas e o produto após a concentração, visto que todo o processo de evaporação foi realizado por meio de balanço de massa, utilizando nos cálculos os valores teóricos de sólidos para alcançar o produto desejado. Da mesma forma, avaliar o teor de proteína e gordura nas caldas também é importante em busca de não só entender se a concentração dos produtos foi feita de forma padronizada, mas visualizar qual o aumento e redução são causados nos teores de proteína e gordura, respectivamente, ao se retirar leite e adicionar os substitutos em diferentes concentrações.

Em relação ao teor de umidade, era esperado um valor em torno de 73,9 - 74,5 g.100 g⁻¹, tendo como base o teor de sólidos do leite e dos substitutos utilizados. Todos os produtos apresentaram valores próximos ao esperado, não apresentando nenhuma diferença estatística ($p > 0,05$) entre si. Já para gordura, esperava-se valores entre 2,88 e 3,02 g.100 g⁻¹ de acordo com o substituinte utilizado, considerando que nenhum deles tinha um teor de gordura considerável em sua composição. Os resultados se mostraram, novamente, bem próximos ao esperado, sem diferença estatística ($p > 0,05$) entre eles.

Os teores de cinzas das caldas não exibiram diferença estatística ($p > 0,05$) significativa entre si e resultaram em valores ligeiramente menores que o do leite utilizado, que por sua vez apresentou 0,69 g.100 g⁻¹ de cinzas. Tal resultado pode estar atrelado à substituição do leite por diferentes substituintes e a adição de açúcar.

Por fim, foi avaliado o teor de proteína nas amostras, e os resultados se mostraram dentro do esperado (3,02 - 3,28 g.100 g⁻¹) com exceção das amostras SMP2,0% e MWP2,0% que tiveram valores ligeiramente abaixo do previsto, porém nenhuma das amostras apresentou diferença estatística entre si ($p > 0,05$), o que está atrelado a desvios um pouco maiores para algumas amostras.

Esses resultados mostram que uma concentração tão reduzida dos substitutos (2,0% e 4,0%) não infere modificação significativa na composição da calda e, conseqüentemente, não deveriam ser considerados substitutos com função de reduzir gordura ou aumentar proteína. Além disso, a RTIQ para leite condensado afirma que não é permitido fazer alterações na relação caseínas-soroproteínas na composição do produto, ou seja, não é possível adicionar proteínas do soro para compor o produto (BRASIL, 2018). No entanto, o aumento no teor de proteína pelas concentrações de substituição utilizadas não promoveu diferenças estatísticas na composição centesimal do produto, embora tenha alterado características sensoriais e reológicas. Esse resultado sugere que a adição de proteínas pode ser utilizada para modificar atributos tecnológicos, como textura e viscosidade, sem comprometer a conformidade do produto com os parâmetros composicionais estabelecidos pela legislação.

Tabela 8 - Análises composicionais das caldas.

Amostras	Umidade (g.100 g⁻¹)	Gordura (g.100 g⁻¹)	Cinzas (g.100 g⁻¹)	PT (g.100 g⁻¹)
Controle	74,82 ± 1,32 ^a	2,95 ± 0,08 ^a	0,59 ± 0,06 ^a	3,00 ± 0,01 ^a
SMP2,0%	74,18 ± 0,80 ^a	2,88 ± 0,25 ^a	0,55 ± 0,08 ^a	2,87 ± 0,39 ^a
WPC2,0%	74,87 ± 0,78 ^a	2,90 ± 0,04 ^a	0,62 ± 0,06 ^a	3,14 ± 0,10 ^a
MWP2,0%	74,35 ± 0,23 ^a	2,96 ± 0,19 ^a	0,63 ± 0,03 ^a	2,95 ± 0,12 ^a
SMP4,0%	74,24 ± 0,05 ^a	2,70 ± 0,14 ^a	0,63 ± 0,05 ^a	3,01 ± 0,27 ^a
WPC4,0%	74,56 ± 0,92 ^a	2,85 ± 0,06 ^a	0,70 ± 0,13 ^a	3,18 ± 0,11 ^a
MWP4,0%	74,12 ± 0,21 ^a	2,71 ± 0,19 ^a	0,69 ± 0,05 ^a	3,14 ± 0,14 ^a

Fonte: Elaborado pelo autor (2026).

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Abreviações: SMP – leite em pó desnatado; WPC – concentrado proteico do soro de leite; MWP – proteína do soro de leite microparticulada; Cinzas – Resíduo mineral fixo; PT – Proteína total; SLT – Sólidos lácteos; PSLDG – Proteína nos sólidos lácteos não gordurosos.

4.3 ANÁLISE DOS LEITES CONDENSADOS

Os leites condensados foram avaliados em composição, características físico-químicas, quantificação de furfurais, cor, microestrutura dos cristais de lactose, textura e reologia.

4.3.1 Análises composicionais

Todos os leites condensados produzidos foram analisados em termos de composição e comparados com os valores de referência fornecidos pela legislação, os quais estão demonstrados na Tabela 1. Foram realizadas análises para se obter o teor de umidade, gordura, cinzas e proteína de cada uma das amostras e, a partir destas, foram calculados por diferença os valores de sólidos lácteos totais e proteína nos sólidos lácteos desengordurados, fazendo uso do teor de lactose e sacarose, também obtidos por diferença. A Tabela 9 traz os resultados de composição.

A umidade é um fator importante para a padronização do leite condensado e, neste trabalho, os resultados não apresentaram diferenças estatísticas entre si, indicando uma produção padronizada. Um estudo encontrado na literatura mostrou que a umidade para um leite condensado controle foi de 27,5 g.100 g⁻¹ (Jafari; Jouki; Soltani; 2021). Já Teodoro (2023) encontrou um valor 25,5 g.100 g⁻¹ para um leite condensado padrão e, apesar de a legislação não estabelecer valores de umidade ou sólidos totais, pode-se assumir que os resultados obtidos neste estudo se encontram dentro do esperado, quando unicamente comparados entre dados apresentados na literatura.

A definição apresentada na RTIQ para leite condensado assume que produtos com teor de gordura entre 1,0 e 8,0 g.100 g⁻¹ são considerados leite condensados semidesnatados, enquanto produtos que possuem acima de 8,0 g.100 g⁻¹ e abaixo de 16 g.100 g⁻¹ são denominados integrais. Dessa forma, pode-se afirmar com base nos resultados obtidos todos os produtos adicionados de 4,0% dos substitutos (SMP, WPC ou MWP) são considerados semidesnatados, e o restante dos produtos, sendo eles os substituídos em 2,0% e o Controle, são leites condensados integrais do ponto de vista da legislação.

Em relação ao teor de cinzas, assim como mostrado para umidade, os resultados não apresentaram diferença estatística ($p > 0,05$) entre si, além de desvios relativamente baixos, sugerindo novamente uma boa padronização. Em literatura, os valores não seguem um padrão, variando entre trabalhos, o que pode estar atrelado a composição do leite utilizado. Shimoda *et al.* (2001) relataram um valor de 1,9 g.100 g⁻¹ para leite condensado comercial, já Alves *et al.* (2020) encontraram um resultado equivalente a 1,4 g.100 g⁻¹, sendo o primeiro deles o mais próximo ao encontrado para este trabalho.

Tabela 9 - Análises composicionais dos leite condensados produzidos.

Amostras	Umidade (g.100 g ⁻¹)	Gordura (g.100 g ⁻¹)	Cinzas (g.100 g ⁻¹)	PT (g.100 g ⁻¹)	SLT (g.100 g ⁻¹)	PSLDG (g.100 g ⁻¹)
Controle	25,70 ± 0,82 ^a	8,70 ± 0,35 ^a	1,91 ± 0,05 ^a	8,70 ± 1,22 ^a	32,70 ± 0,85 ^a	36,26 ± 2,05 ^a
SMP2,0%	26,09 ± 0,51 ^a	8,62 ± 0,20 ^a	1,96 ± 0,12 ^a	9,32 ± 0,65 ^a	32,92 ± 0,15 ^a	38,76 ± 2,72 ^a
WPC2,0%	25,58 ± 1,20 ^a	8,23 ± 0,05 ^{ab}	1,94 ± 0,12 ^a	9,43 ± 0,38 ^a	33,06 ± 0,77 ^a	38,05 ± 2,84 ^a
MWP2,0%	26,90 ± 0,62 ^a	8,37 ± 0,16 ^{ab}	1,91 ± 0,04 ^a	9,41 ± 0,36 ^a	31,74 ± 0,43 ^a	40,29 ± 2,98 ^a
SMP4,0%	26,28 ± 0,84 ^a	7,72 ± 0,17 ^c	1,97 ± 0,11 ^a	9,43 ± 0,68 ^a	33,31 ± 0,16 ^a	36,62 ± 2,90 ^a
WPC4,0%	26,17 ± 1,23 ^a	7,95 ± 0,14 ^{bc}	2,01 ± 0,06 ^a	9,81 ± 0,43 ^a	33,01 ± 1,16 ^a	39,26 ± 4,02 ^a
MWP4,0%	25,91 ± 0,72 ^a	7,93 ± 0,20 ^{bc}	2,04 ± 0,07 ^a	9,90 ± 0,47 ^a	33,27 ± 0,77 ^a	39,16 ± 3,83 ^a

Fonte: Elaborado pelo autor (2026).

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Abreviações: SMP – leite em pó desnatado; WPC – concentrado proteico do soro de leite; MWP – proteína do soro de leite microparticulada; Cinzas – Resíduo mineral fixo; PT – Proteína total; SLT – Sólidos lácteos; PSLDG – Proteína nos sólidos lácteos não gordurosos.

Ao avaliar o teor de proteína, é importante ressaltar que este componente tem papel importante no leite condensado, pois interfere diretamente na viscosidade do produto (Da Silveira *et al.*, 2015). Um estudo apresentou valor de 8,43 g.100 g⁻¹ de proteína para um leite condensado controle, valor este um pouco abaixo do apresentado para as 7 formulações, especialmente aquelas que foram adicionadas de SMP, WPC e MWP (Jafari; Jouki; Soltani, 2021). Tal resultado pode estar relacionado ao fato de que o leite utilizado continha 3,23 g.100 g⁻¹ de proteína, então já se esperava um teor de proteína um pouco mais elevado, e além disso, todas as amostras exceto o Controle tiveram parte do leite retirado e substituído por soluções contendo 10% (m.m⁻¹) de proteína na proporção 2,0 e 4,0 g.100 g⁻¹. Assim, embora as médias indiquem, numericamente, maior teor de proteína nos produtos submetidos à substituição de 4,0%, não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos, independentemente da proporção de substituição ou da natureza do substituto.

O teor de proteína também foi utilizado para termos de comparação com os parâmetros fornecidos pela legislação. Para isso, foram calculados os teores de carboidrato, que apresentaram valores entre 53,1 e 55,9 g.100 g⁻¹ e de sacarose (40,4 – 41,6 g.100 g⁻¹) nos produtos, obtendo a lactose por diferença, com valores entre 12,0 – 14,4 g.100 g⁻¹. A partir desses resultados, foi possível calcular o teor de sólidos lácteos (SL) e proteína nos sólidos lácteos desengordurados (PSLDG), como apresentado na Tabela 9. Todos os produtos poderiam ser enquadrados na categoria ‘integral’, com mínimo de 28% (m.m⁻¹) para sólidos lácteos e mínimo de 34% (m.m⁻¹) para PSLDG, entretanto, como mostrado anteriormente, o teor de

gordura impede que os produtos substituídos em 4,0% sejam considerados integrais, e por isso são denominados semidesnatados, visto que atendem todos os parâmetros, que exigem mínimo de 24% (m.m^{-1}) para sólidos lácteos e mínimo de 34% (m.m^{-1}) para PSLDG (Codex, 2011; Brasil, 2018).

Dessa forma, seguindo os parâmetros que são descritos para leite condensado, pode-se assumir que os produtos Controle, SMP 2,0%, WPC 2,0% e MWP 2,0% são leites condensados integrais, enquanto os produtos substituídos em 4,0% (SMP 4,0%, WPC 4,0% e MWP 4,0%) seriam produtos semidesnatados (Codex, 2011; Brasil, 2018).

4.3.2 Análises físico-químicas

Foram realizadas análises físico-químicas de todos os produtos, os quais estão dispostos nas Tabelas 10 e 11.

4.3.2.1 pH e acidez

Os resultados de pH e acidez estão descritos na Tabela 10. O pH se mostrou semelhante ao apresentado por Rogers *et al.* (1920), em que o pH do leite era 6,51 e diminuiu para 6,17 após ser concentrado, o que se mostra bem próximo dos resultados obtidos neste trabalho, considerando o pH inicial do leite, de 6,64. Já Teodoro *et al.* (2023) realizaram a caracterização de leites condensados dentro e fora do padrão, encontrando um pH de 6,27 para um leite condensado padrão, também muito próximo ao encontrado neste trabalho (6,23). Nenhum valor de pH apresentou diferença estatística ($p > 0,05$) entre si.

Já para acidez em leite condensado, Teodoro *et al.* (2023) encontraram um valor de 0,34 g de ácido láctico.100 g^{-1} de amostra e Jafari *et al.* (2021) encontraram um resultado entre 0,35 e 0,40 g de ácido láctico.100 g^{-1} de amostra. Os resultados obtidos neste trabalho se encontram dentro dos apresentados em literatura, não apresentando também diferença estatística entre si ($p > 0,05$).

Tabela 10 - Resultados das análises físico-químicas dos produtos.

Amostras	pH	Acidez (g de ácido láctico . 100 g ⁻¹ de amostra)
Controle	6,23 ± 0,08 ^a	0,40 ± 0,08 ^a
SMP2,0%	6,25 ± 0,10 ^a	0,40 ± 0,06 ^a
WPC2,0%	6,24 ± 0,07 ^a	0,37 ± 0,02 ^a
MWP2,0%	6,26 ± 0,08 ^a	0,35 ± 0,01 ^a
SMP4,0%	6,29 ± 0,04 ^a	0,37 ± 0,03 ^a
WPC4,0%	6,16 ± 0,07 ^a	0,37 ± 0,01 ^a
MWP4,0%	6,23 ± 0,03 ^a	0,38 ± 0,01 ^a

Fonte: Elaborado pelo autor (2026).

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Abreviações: SMP – leite em pó desnatado; WPC – concentrado proteico do soro de leite; MWP – proteína do soro de leite microparticulada.

4.3.2.2 Cálcio Iônico

A Tabela 11 traz os resultados de cálcio iônico obtidos para as amostras produzidas.

Tabela 11 - Resultados de cálcio iônico para as amostras de leite condensado.

Amostras	Cálcio iônico (mmol L ⁻¹)
Controle	4,44 ± 0,60 ^c
SMP2,0%	4,34 ± 0,19 ^c
WPC2,0%	6,47 ± 0,34 ^b
MWP2,0%	6,56 ± 0,26 ^b
SMP4,0%	4,13 ± 0,20 ^c
WPC4,0%	8,75 ± 0,65 ^a
MWP4,0%	9,00 ± 0,27 ^a

Fonte: Elaborado pelo autor (2026).

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Abreviações: SMP – leite em pó desnatado; WPC – concentrado proteico do soro de leite; MWP – proteína do soro de leite microparticulada.

Não foram encontrados dados referentes a cálcio iônico em leite condensado na literatura, mas é interessante observar que, com exceção do Controle e dos produtos substituídos com SMP, os resultados apresentam diferença estatística entre si ($p > 0,05$).

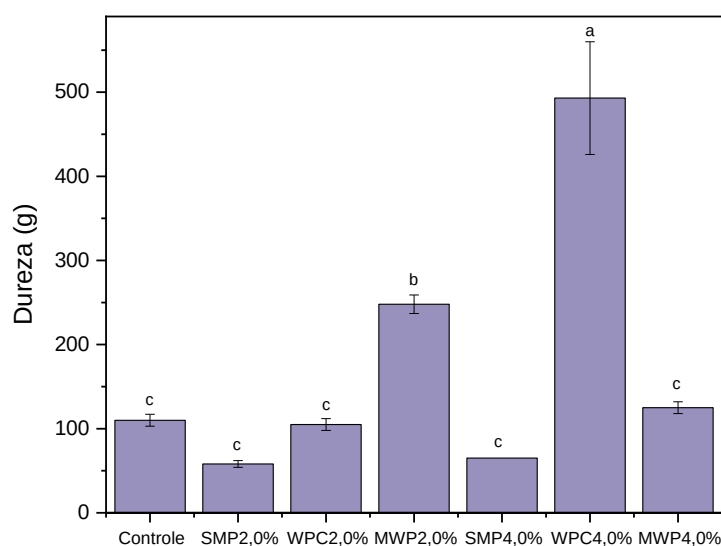
Tal fator pode estar atrelado a presença dos substitutos WPC e MWP no produto, visto que existe um maior teor de cálcio oriundo dos mesmos quando comparado ao leite, portanto justifica o aumento somente nestes produtos e não nos produtos substituídos com leite em pó. Portanto, à medida que há um aumento na concentração de WPC e MWP na amostra, ocorre o aumento do cálcio, sugerindo uma padronização no produto.

4.3.2.3 Textura

A análise de textura traz diversos parâmetros de um produto, três deles são: dureza, coesividade e gomosidade, os quais foram trazidos nesse tópico para discussão.

A dureza é definida como a força máxima necessária para comprimir um alimento durante a primeira deformação e está diretamente relacionada à resistência da matriz estrutural do produto (Bourne, 2002). De acordo com a Figura 2, a adição dos diferentes substitutos influenciou significativamente na dureza do leite condensado.

Figura 2 - Resultados de dureza para as amostras de leite condensado produzidas.



Fonte: Elaborado pelo autor (2026).

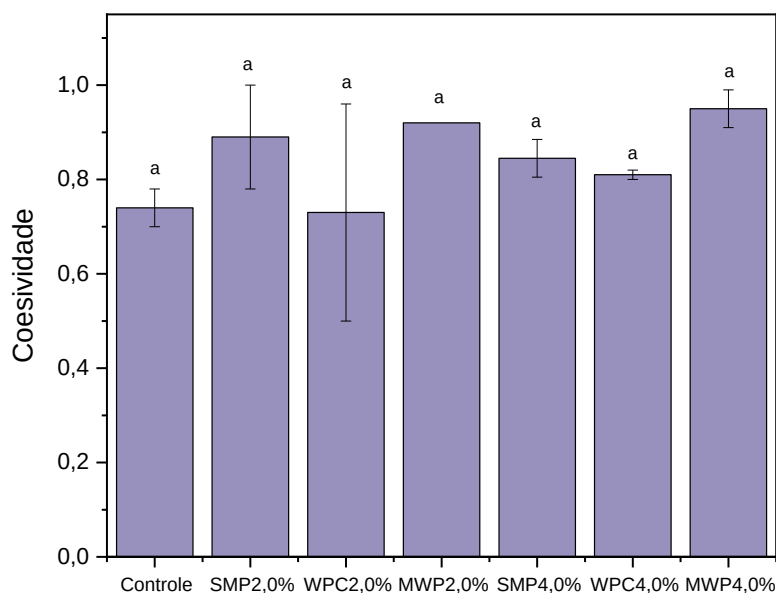
Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Abreviações: SMP – leite em pó desnatado; WPC – concentrado proteico do soro de leite; MWP – proteína do soro de leite microparticulada.

A formulação contendo WPC 4,0% apresentou os maiores valores, seguida pela MWP 2,0%, enquanto as demais formulações apresentaram valores inferiores e estatisticamente semelhantes. O aumento observado para a formulação contendo WPC em 4,0% pode ser atribuído às propriedades funcionais das proteínas do soro, especialmente β -LG e α -LA, que apresentam elevada capacidade de retenção de água e formação de agregados proteicos. Segundo Fox *et al.* (2015), proteínas do soro desnaturadas podem interagir entre si e com a κ -caseína por meio de ligações dissulfeto e interações hidrofóbicas, formando interações proteicas que modificam as propriedades funcionais e estruturais de sistemas lácteos. Nesse contexto, o aumento da dureza observado para a formulação contendo WPC 4,0% pode estar relacionado à maior capacidade de interação das proteínas do soro na matriz do leite condensado. De maneira semelhante, Singh (2007) descreve que o aquecimento promove a desnaturação das proteínas do soro e sua associação com as micelas de caseína, favorecendo interações proteína-proteína que podem influenciar as propriedades funcionais dos sistemas lácteos.

Em relação à coesividade (Figura 3), não foram observadas diferenças estatísticas significativas entre os tratamentos.

Figura 3 - Resultados de coesividade dos leites condensados.



Fonte: Elaborado pelo autor (2026).

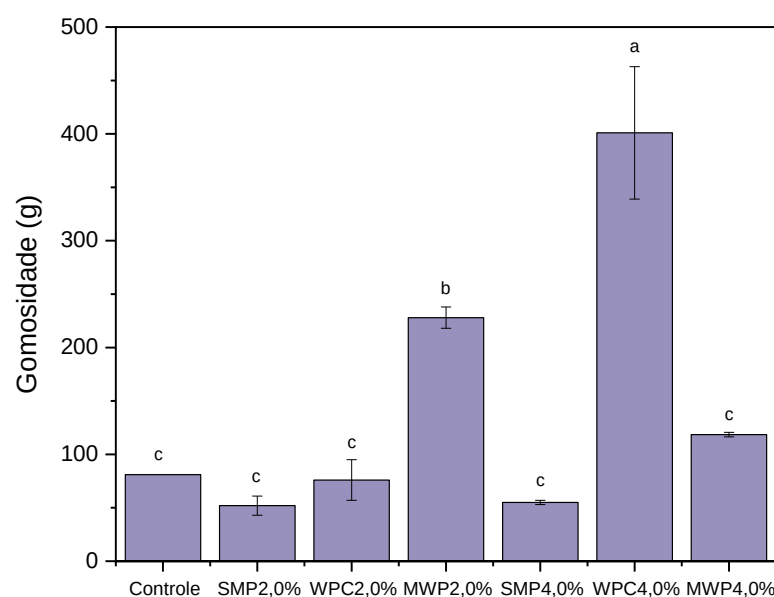
Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Abreviações: SMP – leite em pó desnatado; WPC – concentrado proteico do soro de leite; MWP – proteína do soro de leite microparticulada.

Se trata de um parâmetro obtido na Análise de Perfil de Textura (TPA) e expressa a resistência das ligações internas do alimento à ruptura durante uma segunda deformação em relação à primeira (Bourne, 2002). A ausência de diferenças estatísticas sugere que os substitutos adicionados influenciaram principalmente a resistência mecânica do produto, sem promover alterações expressivas na integridade estrutural da matriz. Como a coesividade está relacionada à capacidade do alimento de suportar deformações sucessivas antes da ruptura, os resultados indicam que as modificações observadas ocorreram predominantemente nos parâmetros associados à firmeza da estrutura (Bourne, 2002).

Conforme observado na Figura 4, a gomosidade apresentou comportamento semelhante ao da dureza, com destaque novamente para a formulação WPC 4,0%, com a formulação contendo MWP 2,0% também apresentando aumento da dureza e da gomosidade quando comparada ao Controle.

Figura 4 - Resultados de gomosidade de todos os produtos.



Fonte: Elaborado pelo autor (2026).

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Abreviações: SMP – leite em pó desnatado; WPC – concentrado proteico do soro de leite; MWP – proteína do soro de leite microparticulada.

Segundo Bourne (2002), a gomosidade corresponde à energia necessária para desintegrar um alimento semissólido até o momento da deglutição e é calculada a partir da multiplicação entre dureza e coesividade. Dessa forma, considerando que a coesividade não

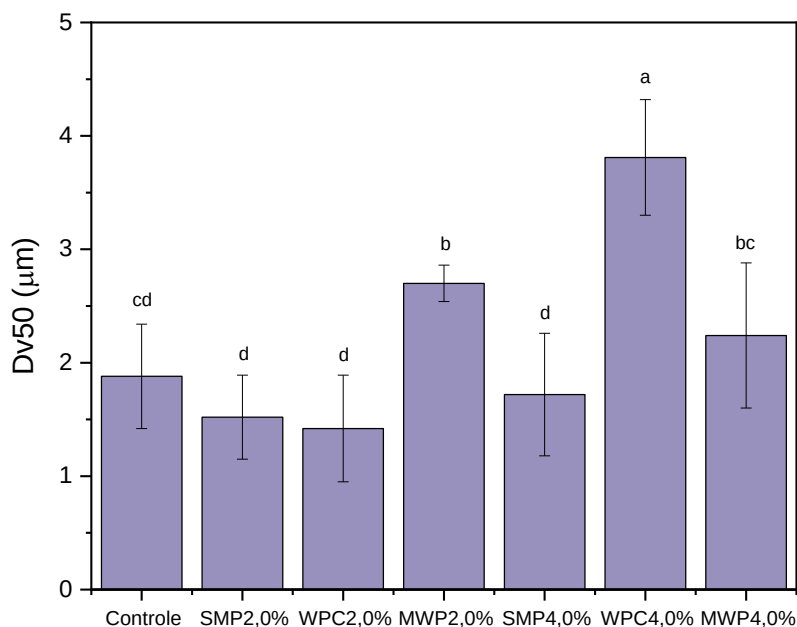
diferiu entre os tratamentos, as variações observadas para gomosidade refletem predominantemente os efeitos da dureza observados.

A proteína do soro microparticulada é obtida por tratamento térmico e mecânico controlado das proteínas do soro, originando partículas esféricas com tamanho semelhante ao dos glóbulos de gordura e, embora seja frequentemente utilizada como substituto de gordura e associada à melhoria da cremosidade, sua incorporação também pode contribuir para alterações estruturais, dependendo da concentração empregada e da composição da matriz a qual foi adicionada (Salama, 2025).

4.3.2.4 Tamanho de partículas

Foi realizada a análise de tamanho de partículas para cada uma das amostras produzidas (Figura 3).

Figura 5- Tamanho médio das partículas de cada formulação.



Fonte: Elaborado pelo autor (2026).

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Abreviações: SMP – leite em pó desnatado; WPC – concentrado proteico do soro de leite; MWP – proteína do soro de leite microparticulada.

O resultado mostrou uma maior distribuição média de tamanho de partículas (Dv_{50}) para as amostras WPC4,0%, MWP2,0% e MWP4,0%, com um destaque maior para a formulação WPC4,0%, visto que essa apresentou o maior valor, o que pode estar correlacionado ao tipo de substituto (WPC) e seu tamanho de partículas, que se mostra maior quando analisado e comparado ao MWP. Além disso, mostra uma falta de padronização relacionada ao substituto WPC, já que há um aumento expressivo entre a formulação 2,0% e 4,0% desse substituto, diferente do que é apresentado para os demais (SMP e MWP), porém não foram encontrados dados em literatura para comparação. Além disso, é importante ressaltar que pode ocorrer desnaturação térmica da α -LA devido a temperatura e tempo de exposição, tornando o tamanho de partículas ainda maior para amostras adicionadas de WPC.

4.3.2.5 Atividade de água

A atividade de água de cada produto foi monitorada durante 28 dias (em quatro semanas – D1, D7, D14 e D28), e os resultados estão dispostos na Tabela 12.

É possível observar que houve uma variação entre os valores durante o *shelf-life*. Quando é feita a comparação entre as amostras no mesmo dia de *shelf-life*, nota-se que os leites condensados adicionados de WPC e MWP apresentam os menores valores de atividade de água, porém, não apresentando diferença estatística entre si ($p > 0,05$).

Tabela 12 - Atividade de água (durante *shelf-life*) dos leites condensados produzidos.

Amostras	D1	D7	D14	D28
Controle	$0,835 \pm 0,004^{ab}$	$0,831 \pm 0,005^{ab}$	$0,836 \pm 0,009^a$	$0,835 \pm 0,005^a$
SMP2,0%	$0,835 \pm 0,003^{ab}$	$0,835 \pm 0,005^{ab}$	$0,837 \pm 0,002^a$	$0,836 \pm 0,001^a$
WPC2,0%	$0,824 \pm 0,014^b$	$0,831 \pm 0,012^{ab}$	$0,828 \pm 0,010^a$	$0,833 \pm 0,008^a$
MWP2,0%	$0,822 \pm 0,013^b$	$0,825 \pm 0,014^b$	$0,827 \pm 0,016^a$	$0,832 \pm 0,012^a$
SMP4,0%	$0,854 \pm 0,006^a$	$0,850 \pm 0,008^a$	$0,852 \pm 0,008^a$	$0,851 \pm 0,009^a$
WPC4,0%	$0,831 \pm 0,006^b$	$0,835 \pm 0,008^{ab}$	$0,831 \pm 0,011^a$	$0,834 \pm 0,008^a$
MWP4,0%	$0,831 \pm 0,006^b$	$0,832 \pm 0,006^{ab}$	$0,832 \pm 0,016^a$	$0,832 \pm 0,008^a$

Fonte: Elaborado pelo autor (2026).

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Abreviações: SMP – leite em pó desnatado; WPC – concentrado proteico do soro de leite; MWP – proteína do soro de leite microparticulada; D1 – Dia 1; D7 – Dia 7; D14 – Dia 14; D28 – Dia 28.

Os resultados obtidos são interessantes, visto que a partir disso é possível observar a capacidade de retenção de água da proteína, como mostrado por Kneifel & Seiler (1993), especialmente da proteína microparticulada, que apresenta valores numericamente menores para a substituição em 2,0% de D1 a D14, apesar de não apresentar diferença estatística ($p > 0,05$) em comparação a outros produtos a partir do D14. Vale ressaltar que para a indústria, a queda de atividade de água em determinados produtos é de interesse, já que assim, haveria menos água disponível para reagir e o produto resistiria por mais tempo (Schuck *et al.*, 2004).

Conforme mostrado por Renhe *et al.* (2018), a atividade de água do leite condensado se encontra em torno de 0,85, valor este que se mostra similar ao produto SMP 4,0%. Os demais apresentam resultados abaixo de 0,836.

4.3.2.6 Quantificação dos indicadores da reação de Maillard

Quatro indicadores da reação de Maillard foram analisados nas amostras de leite condensado, sendo eles o 5-hidroximetilfurfural (HMF), 2-furaldeído (F), 5-metil-2-furfural (MF) e 2-furilmetilcetona (FMC), durante o primeiro (D1) e último dia (D28) de *shelf-life*. Entre os quatro indicadores monitorados, apenas o HMF foi encontrado, conforme apresentado na Tabela 13.

Os resultados obtidos para as sete produções apresentaram diferenças estatísticas entre si, em ambos os momentos do *shelf-life*, mostrando que a composição do produto influencia diretamente a formação de HMF no início e durante o armazenamento. No primeiro dia (D1), o produto Controle apresentou a menor concentração de HMF ($52,88 \mu\text{mol.kg}^{-1}$ de produto), diferindo estatisticamente da formulação MWP4,0%, que apresentou o maior valor ($85,36 \mu\text{mol.kg}^{-1}$ de produto). Esse comportamento sugere que a adição de proteínas, especialmente na forma microparticulada, pode intensificar a reação de Maillard ainda na etapa inicial, possivelmente devido ao aumento da disponibilidade de grupos amino reativos e à maior interação proteína-lactose no sistema (Meltretter *et al.*, 2007). Além disso, a MWP demonstrou maior potencial de formação de HMF, o que pode estar associado às alterações estruturais induzidas pelo processo de microparticulação. Estudos relatam que microgéis de proteína do soro apresentam grupos amina disponíveis que podem reagir com açúcares redutores, conforme evidenciado pela formação de conjugados proteína-açúcar e redução dos grupos amina livres após a reação de Maillard (Karbasi; Askari; Madadlou, 2021), o que pode favorecer a formação de compostos intermediários, como o HMF.

Tabela 13 - Quantificação de HMF* nos leites condensados no primeiro (D1) e último dia (D28) de *shelf-life*.

Amostras	D1 ($\mu\text{mol.kg}^{-1}$ de produto)	D28 ($\mu\text{mol.kg}^{-1}$ de produto)
Controle	52,88 $\pm$ 4,12 ^c	75,37 $\pm$ 9,66 ^b
SMP2,0%	71,73 $\pm$ 1,82 ^{ab}	89,44 $\pm$ 0,11 ^{ab}
WPC2,0%	73,54 $\pm$ 6,33 ^{ab}	95,45 $\pm$ 3,75 ^{ab}
MWP2,0%	77,83 $\pm$ 3,30 ^{ab}	99,50 $\pm$ 3,07 ^a
SMP4,0%	67,64 $\pm$ 3,10 ^{bc}	87,27 $\pm$ 0,60 ^{ab}
WPC4,0%	76,54 $\pm$ 0,33 ^{ab}	83,46 $\pm$ 5,73 ^{ab}
MWP4,0%	85,36 $\pm$ 6,95 ^a	96,60 $\pm$ 9,00 ^{ab}

Fonte: Elaborado pelo autor (2026).

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Abreviações: SMP – leite em pó desnatado; WPC – concentrado proteico do soro de leite; MWP – proteína do soro de leite microparticulada; D1 – Dia 1; D7 – Dia 7; D14 – Dia 14; D28 – Dia 28.

*HMF = 5-Hidroximetilfurfural.

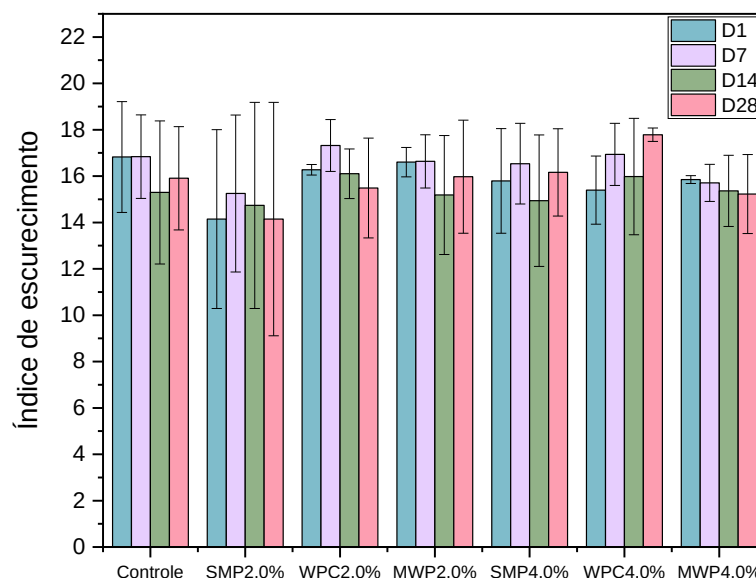
Ao final do *shelf-life* (D28), observou-se um aumento geral na concentração de HMF em todas as amostras, confirmando a progressão da reação de Maillard durante o armazenamento. O Controle apresentou aumento significativo, atingindo 75,37 $\mu\text{mol.kg}^{-1}$ de produto, enquanto as formulações proteicas alcançaram valores ainda mais elevados, com destaque para a MWP 2,0%, que apresentou a maior concentração de HMF (99,50 $\mu\text{mol.kg}^{-1}$ de produto). Os valores mais elevados observados nas amostras com WPC e, principalmente, MWP sugerem que a modificação estrutural das proteínas do soro influencia a intensidade da reação, potencializando a formação de intermediários como o HMF.

Por fim, o resultado obtido para amostra Controle foi comparado com dados da literatura, onde Mesa (2023) encontrou um valor de 57,2 $\mu\text{mol.kg}^{-1}$ de produto para leite condensado, muito próximo ao resultado encontrado nesse trabalho. Já Vitral *et al* (2025) afirmaram em seu trabalho que a adição de MWP em doce de leite resultou em maiores resultados de HMF em comparação ao produto sem adição.

4.3.2.7 Índice de escurecimento (BI)

O índice de escurecimento dos produtos foi analisado em quatro momentos, durante 28 dias (Figura 4).

Figura 6 - Índice de escurecimento dos leites condensados durante *shelf-life*.



Fonte: Elaborado pelo autor (2026).

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Abreviações: SMP – leite em pó desnatado; WPC – concentrado proteico do soro de leite; MWP – proteína do soro de leite microparticulada; D1 – Dia 1; D7 – Dia 7; D14 – Dia 14; D28 – Dia 28.

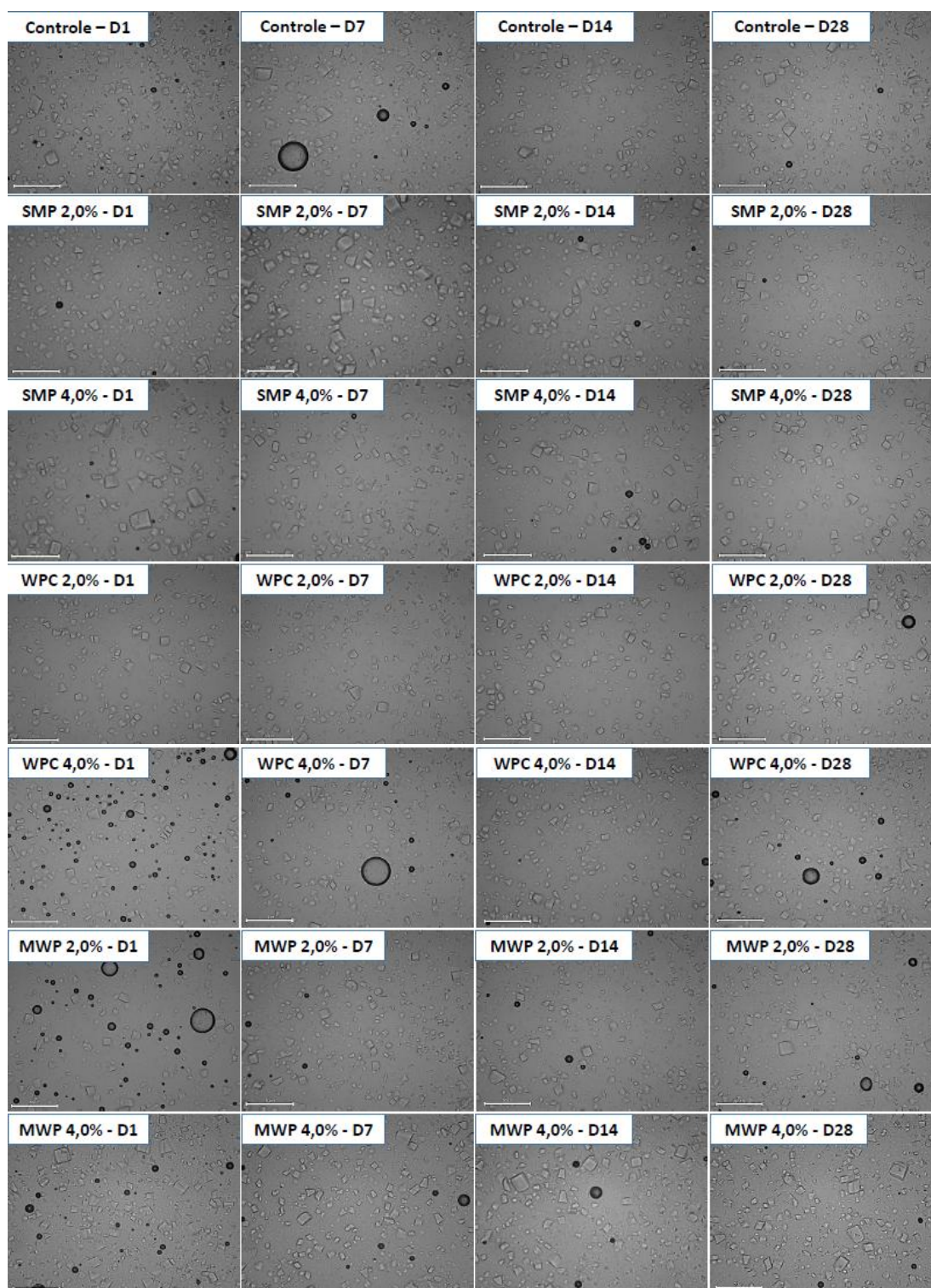
Quando avaliados numericamente, os produtos apresentaram aumento do BI do primeiro para o sétimo dia, com exceção dos produtos adicionados de MWP. Além disso, foi observado que duas semanas após a produção (D14), o BI de todas elas diminuíram em comparação ao D7, mas somente as amostras Controle, SMP4,0%, MWP2,0% e MWP4,0%, apresentam redução no BI quando comparadas ao primeiro dia. Quanto ao D28 houve variação entre aumento e queda do índice de escurecimento de cada amostra. Não houve diferença estatística ($p > 0,05$) entre os produtos no mesmo dia de *shelf-life* devido aos altos desvios.

Enquanto o produto MWP4,0% foi o único que apresentou um resultado constante do BI durante as 4 semanas, o produto MWP2,0% foi a amostra que se mostrou mais próxima do Controle.

4.3.2.8 Microscopia ótica

Através da análise de microscopia ótica foi possível observar o comportamento dos cristais de lactose em cada produto ao longo dos 28 dias (Figura 7).

Figura 7 – Monitoramento dos cristais de lactose durante o *shelf-life*.



Fonte: Elaborado pelo autor (2026)

Abreviações: SMP – leite em pó desnatado; WPC – concentrado proteico do soro de leite; MWP – proteína do soro de leite microparticulada; D1 – Dia 1; D7 – Dia 7; D14 – Dia 14; D28 – Dia 28.

A análise microscópica evidenciou a formação e crescimento dos cristais de lactose ao longo do período de armazenamento nas diferentes formulações produzidas. Além disso, foi possível observar que os cristais apresentaram morfologia típica de α -lactose monohidratada, com faces bem definidas e superfícies losangulares, podendo também apresentar hábito prismático, refletindo a estrutura angular (Wong; Hartel, 2014).

No primeiro dia de armazenamento (D1), já foi possível notar a presença de pequenos núcleos cristalinos dispersos na matriz do leite condensado em todas as formulações e tempos de armazenamento. Esse comportamento ocorre devido a cristalização induzida realizada após o processo de evaporação a vácuo, com a finalidade de se obter um leite condensado com melhores atributos sensoriais, o que pode evitar defeitos nesse tipo de produto, os quais muitas vezes são causados pela presença de grandes cristais.

No tratamento Controle, a microestrutura permaneceu relativamente estável entre os dias 1 e 28, com discreto aumento na quantidade e no tamanho aparente dos cristais ao longo do armazenamento. Esse comportamento sugere a continuidade do processo de cristalização da lactose durante a estocagem, sem alterações estruturais expressivas na matriz.

As formulações contendo SMP apresentaram distribuição de cristais semelhante à observada no Controle, tanto na concentração de 2,0% quanto de 4,0%, com exceção dos tamanhos dos cristais, que são visivelmente maiores. A adição de leite em pó desnatado não promoveu mudanças visuais marcantes na morfologia cristalina, indicando que esse ingrediente exerceu influência limitada sobre a organização microestrutural do sistema durante o armazenamento.

Para as amostras adicionadas de WPC, especialmente na concentração de 4,0%, observa-se maior ocorrência de estruturas circulares escuras, provavelmente associadas a bolhas de ar. Apesar disso, os cristais permaneceram distribuídos de forma homogênea e sem evidências de aglomeração excessiva, sugerindo que a incorporação das proteínas do soro não comprometeu a estabilidade microestrutural do produto.

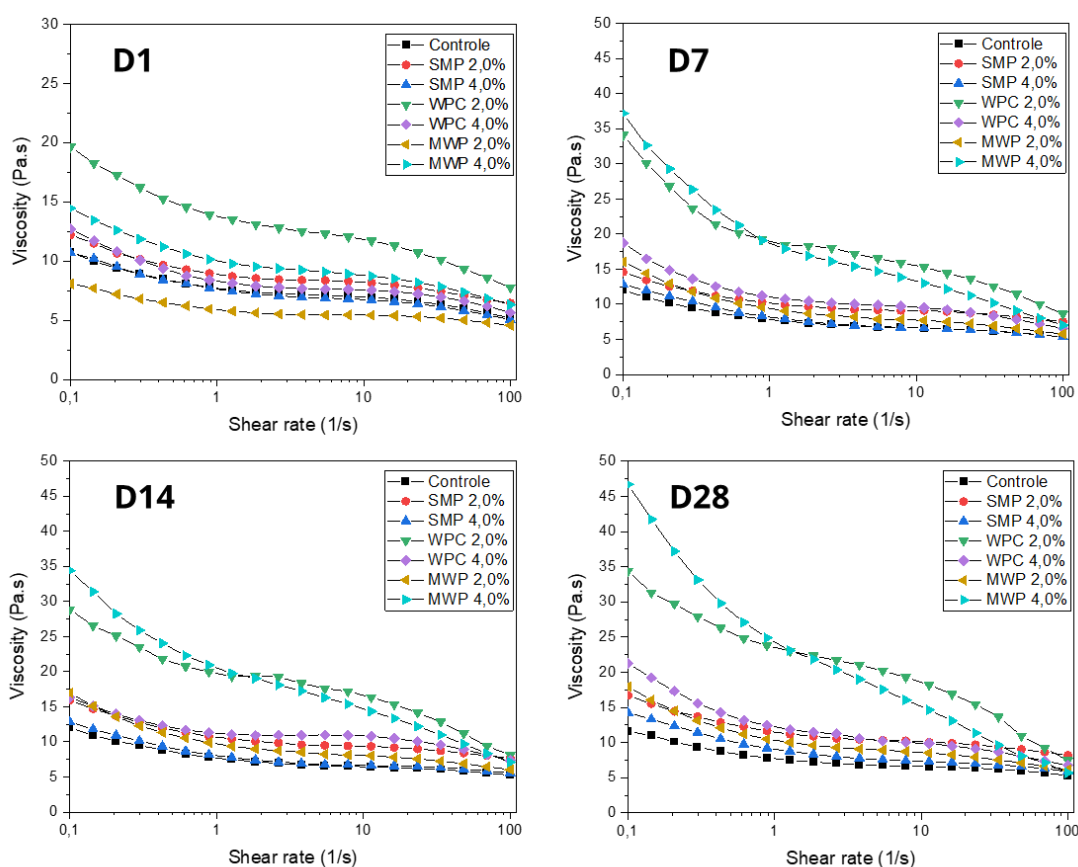
As formulações contendo MWP apresentaram comportamento semelhante ao observado para o WPC, porém com distribuição aparentemente mais uniforme dos cristais ao longo dos tempos de armazenamento, além de em alguns momentos apresentar cristais menores, especialmente quando comparada a formulações substituídas com SMP ou até mesmo o Controle. Dessa forma, a presença das proteínas microparticuladas pode ter contribuído para uma organização mais homogênea da matriz, reduzindo a ocorrência de regiões com elevada concentração de cristais. Esse resultado indica que a microparticulação das proteínas do soro

pode ter alguma influência sobre o comportamento dos cristais. Tal fator pode ser considerado tecnologicamente relevante, uma vez que cristais menores estão associados a uma melhor qualidade sensorial e menor percepção de arenosidade em produtos lácteos concentrados, como o leite condensado (Alves *et al.*, 2020).

4.3.2.9 Reologia

A análise reológica foi realizada nos 7 produtos desenvolvidos ao longo do *shelf-life* de 28 dias (D1, D7, D14, D28). Na figura 8 é possível observar as curvas de viscosidade aparente pela taxa de cisalhamento.

Figura 8 - Viscosidade dos produtos em cada semana de *shelf-life* (D1, D7, D14 e D28), com base no decaimento da taxa de cisalhamento de $0,1 \text{ s}^{-1}$ a 100 s^{-1} .



Fonte: Elaborado pelo autor (2026).

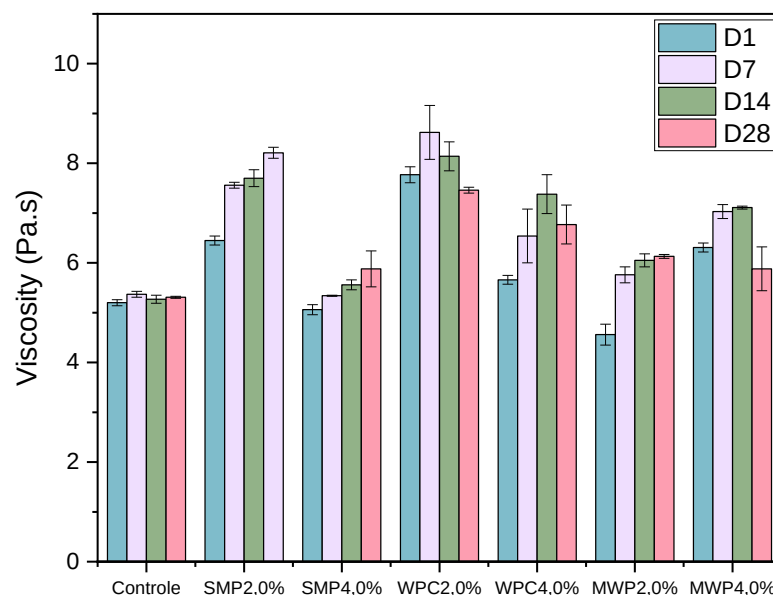
Abreviações: SMP – leite em pó desnatado; WPC – concentrado proteico do soro de leite; MWP – proteína do soro de leite microparticulada; D1 – Dia 1; D7 – Dia 7; D14 – Dia 14; D28 – Dia 28.

Foi aplicada a uma variação de cisalhamento de 100 s^{-1} até $0,1 \text{ s}^{-1}$ para realização da análise. Para todos os produtos durante o *shelf-life* foi possível perceber um decaimento do valor de viscosidade com o aumento da força aplicada nos produtos que tendem a convergir para valores próximos entre si. Esse resultado também é relatado em literatura para outras aplicações de MWPs em produtos lácteos e pode estar relacionado a quebra da estrutura formada no leite condensado (Vital, *Et Al*, 2025; Spiegel, 1999; Sulejmani *et al*, 2021). Além disso, em alguns casos é possível observar um aumento da viscosidade aparente sob o mesmo cisalhamento durante os dias de análise, podendo resultar na despadronização do produto.

Visando compreender como ocorreu o processo de mudança da viscosidade durante o *shelf-life*, foi realizada a elaboração de um gráfico (Figura 9) utilizando os dados em 100 s^{-1} para comparar os leites condensados. Os produtos adicionados de SMP apresentaram aumento do valor da viscosidade ao passar do tempo, sendo esses valores mais expressivos no produto com substituição de 2,0%. Para os produtos adicionados de WPC foi possível observar uma flutuação da viscosidade ao longo do tempo sem uma padronização dessa variação. O mesmo perfil foi observado para o leite condensado adicionado com MWP 4,0%. Já o produto adicionado de MWP 2,0%, embora tenha apresentado um aumento da viscosidade entre os dois primeiros dias de análises depois se manteve estável. Essa manutenção da viscosidade é bem similar ao observado para o produto Controle e pode gerar benefícios para aplicações das proteínas microparticuladas na fabricação de leite condensado visando um produto com uma maior viscosidade sem a necessidade de adicionar algum outro modulador, além de evitar problemas de espessamento tardio, ou até mesmo posteriormente, problemas de *shelf-life* durante o tempo de prateleira do leite condensado.

Os resultados encontrados se mostraram próximos ao que foi relatado em literatura (Kalinina; Kovalenko; Kornilova, 2014). Anema *et al.* (2004) relataram que alterações na viscosidade de produtos lácteos podem estar relacionadas a mudanças no pH, na acidez, no tamanho das partículas e na deposição de proteínas durante o armazenamento.

Figura 9 - Viscosidade dos produtos durante 28 dias de *shelf-life* (100 s^{-1}).



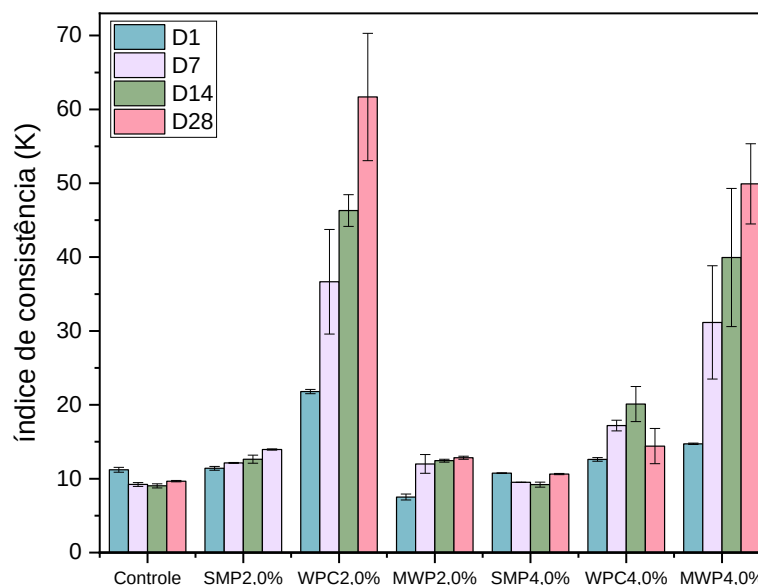
Fonte: Elaborado pelo autor (2026).

Abreviações: SMP – leite em pó desnatado; WPC – concentrado proteico do soro de leite; MWP – proteína do soro de leite microparticulada; D1 – Dia 1; D7 – Dia 7; D14 – Dia 14; D28 – Dia 28.

Outros dados obtidos para os produtos em taxa de cisalhamento de 100 s^{-1} foram determinados pelo modelo de Herschel-Bulkley (Figura 10). O índice de consistência (K) está relacionado à consistência do produto, o produto Controle apresentou valores variando entre 9,04 e 11,21 Pa.s^n durante as semanas mostrando uma baixa variação da consistência do leite condensado.

Os valores de K para o WPC nas concentrações 2,0% e 4,0%, assim como MWP4,0%, aumentaram ao longo do tempo, mostrando um aumento da consistência, o que pode não ser um resultado interessante para futuras aplicações. Já os produtos com SMP nas duas concentrações mantiveram valores constantes e similares ao Controle, mesmo apresentando uma flutuação da viscosidade. Os produtos WPC 2,0% e o MWP 4,0% apresentaram os maiores valores durante todo o *shelf-life* e uma grande variação entre os tratamentos com o passar dos dias. Por fim, o leite condensado MWP 2,0% também apresentou resultados próximos ao do Controle, o que novamente sugere um potencial de aplicação do microparticulado nessa concentração em leite condensado, visto que ele foi capaz de modular a viscosidade e o índice de consistência de forma mais controlada.

Figura 10 - Índice de consistência (K) dos produtos durante *shelf-life* de 28 dias conforme modelo de Herschel-Bulkley.



Fonte: Elaborado pelo autor (2026).

Médias seguidas pela mesma letra na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Abreviações: SMP – leite em pó desnatado; WPC – concentrado proteico do soro do leite; MWP – proteína do soro do leite microparticulada; K – índice de consistência.

O outro parâmetro analisado pelo modelo Herschel-Bulkley é o comportamento de fluxo (n), que está diretamente relacionado ao comportamento pseudoplástico dos produtos. Todos os valores encontrados ficaram abaixo de 1, indicando que todos os leites condensados são considerados pseudoplásticos, onde os tratamentos WPC 2,0% e MWP 4,0% apresentaram valores mais pronunciados (resultados mais próximos de 0), podendo dificultar a padronização. Os demais produtos demonstraram resultados próximos entre si.

5 CONCLUSÃO

Os leites condensados foram produzidos com substituição parcial dos sólidos lácteos por leite em pó desnatado (SMP), concentrado proteico do soro (WPC) e proteína do soro microparticulada (MWP), nas concentrações de 2,0% e 4,0%. De forma geral, a substituição parcial do leite por leite em pó desnatado, concentrado proteico do soro de leite e proteína do soro de leite microparticulada permitiu a obtenção de formulações de leite condensado que atenderam aos requisitos estabelecidos pela legislação brasileira quanto aos parâmetros de composição. As modificações promovidas pelos substitutos não comprometeram a identidade do produto, evidenciando a viabilidade tecnológica de sua utilização nas concentrações avaliadas.

Embora as alterações na composição centesimal tenham sido discretas, diferenças importantes foram observadas nas propriedades tecnológicas dos produtos. A adição de WPC e MWP influenciou significativamente parâmetros relacionados à textura e ao tamanho de partículas. O WPC, especialmente na concentração de 4,0%, promoveu aumento da dureza, da gomosidade e do tamanho médio das partículas, indicando maior interação proteica e formação de estruturas mais resistentes na matriz do leite condensado, o que de certa forma pode acabar sendo prejudicial em termos de produção em escala industrial e também afetar o sensorial do produto, podendo não ser tão agradável para o consumidor. Por outro lado, as formulações contendo proteína microparticulada apresentaram comportamento intermediário, demonstrando potencial para modificar propriedades físicas sem causar alterações excessivas na estrutura do produto.

Entre os marcadores da reação de Maillard avaliados, apenas o HMF foi detectado, com aumento ao longo do armazenamento e valores mais elevados nas formulações contendo proteínas do soro, especialmente MWP, indicando maior intensidade da reação nesses sistemas. Os resultados de atividade de água foram reduzidos para amostras adicionadas de WPC e MWP, demonstrando a capacidade de retenção de água da proteína. Esse comportamento pode representar uma vantagem tecnológica importante, uma vez que contribui para a estabilidade físico-química e microbiológica dos produtos durante o armazenamento.

Do ponto de vista reológico, todos os produtos apresentaram comportamento pseudoplástico. A formulação contendo MWP 2,0% apresentou maior estabilidade da viscosidade e da consistência ao longo do armazenamento, com menor variação e comportamento semelhante ao Controle. Em contrapartida, concentrações mais elevadas

resultaram em maiores oscilações reológicas. Esses resultados demonstram que a MWP foi capaz de modular as propriedades reológicas do leite condensado, contribuindo para a estabilidade estrutural do produto evitando problemas durante fabricação, armazenamento e *shelf-life*.

Em conclusão, a proteína do soro microparticulada mostrou elevado potencial de aplicação em leite condensado, especialmente na concentração de 2,0% (m.m⁻¹), promovendo melhorias na estabilidade reológica e na microestrutura, sem comprometer a composição, destacando-se como uma alternativa promissora para aplicação tecnológica e desenvolvimento de produtos lácteos. Além disso, o estudo contribui para ampliar as possibilidades de aproveitamento tecnológico do soro de leite, agregando valor a um importante coproduto da indústria de laticínios.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados obtidos neste estudo demonstraram o potencial da proteína do soro de leite microparticulada como ingrediente tecnológico para aplicação em leite condensado. Entre as formulações avaliadas, a adição de MWP na concentração de 2,0% apresentou o comportamento mais promissor, contribuindo para a estabilidade microestrutural e reológica do produto durante o armazenamento.

Embora a formulação contendo 4,0% de MWP também tenha apresentado características satisfatórias para alguns dos parâmetros analisados, seus resultados não foram iguais ou melhores aos observados para a concentração de 2,0%, sugerindo que concentrações mais elevadas podem ser um limitante na substituição. Dessa forma, seria interessante, em estudos futuros, investigar concentrações intermediárias de MWP, entre 2,0% e 4,0%, visando identificar a melhor concentração para se utilizar a MWP como ingrediente em leite condensado.

REFERÊNCIAS

- ALVES, Natália Maria Germano et al. Estudo da temperatura de fusão e solubilidade dos cristais de lactose em leite condensado utilizando microscopia óptica e espectroscopia Raman. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 75, n. 4, p. 222-231, 2020.
- ANEMA, Skelte G. The whey proteins in milk: Thermal denaturation, physical interactions, and effects on the functional properties of milk. **Milk proteins**, p. 325-384, 2020.
- ANEMA, Skelte G.; LOWE, Edwin K.; LI, Yuming. Effect of pH on the viscosity of heated reconstituted skim milk. **International Dairy Journal**, v. 14, n. 6, p. 541-548, 2004.
- AOAC ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. Official Method 991.20: Nitrogen (Total) in Milk. Kjeldahl Method. In: **Official Methods of Analysis of AOAC International**. 16. ed. Arlington, VA: AOAC International, 1994.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. ABNT NBR 12651: Leite e produtos lácteos - **Determinação do extrato seco total - Método da estufa**. Rio de Janeiro, 1992. (Adaptado da norma IDF 15 (ISO 6734)).
- BONNAILLIE, Laetitia M.; TOMASULA, Peggy M. Whey protein fractionation. **Whey processing, functionality and health benefits**, p. 15-38, 2008.
- BOURNE, Malcolm. Food texture and viscosity: concept and measurement. **Elsevier**, 2002.
- BRASIL. **Determinação do Resíduo Mineral Fixo em Leite e Derivados Lácteos**. RS, 2014.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 47, de 26 de outubro de 2018. **Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Leite Condensado. Diário Oficial da União: seção 1**, Brasília, DF, 26 out. 2018.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 94, de 18 de setembro de 2020. **Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Soro de Leite. Diário Oficial da União: seção 1**, Brasília, DF, 18 set. 2020.
- ÇAKIR-FULLER, Esra. Enhanced heat stability of high protein emulsion systems provided by microparticulated whey proteins. **Food Hydrocolloids**, v. 47, p. 41-50, 2015.
- CELESTINO, Jaqueline de Almeida. **Efeito do teor de adição de sacarose ao leite sobre a composição, rendimento, viscosidade, cor e marcadores químicos da reação de Maillard em doce de leite**. 2023. [S. l.], 2023.
- CHUNG, Cheryl; DEGNER, Brian; MCCLEMENTS, David Julian. Development of reduced-calorie foods: Microparticulated whey proteins as fat mimetics in semi-solid food emulsions. **Food research international**, v. 56, p. 136-145, 2014.
- CODEX ALIMENTARIUS. CXS 282-1971 Standard for Sweetened Condensed Milk. Rev. 2023. Rome: **FAO/WHO**, 2023. Disponível em: <https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh->

proxy/ua/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252FStandards%252FCXS%2B282-1971%252FCXS_282e.pdf. Acesso em: 23 fev. 2026.

DA SILVEIRA, Michelle Fernandes et al. Simultaneous Determination of Lactulose and Lactose in Conserved Milk by HPLC-RID. **Journal of Chemistry**, v. 2015, n. 1, p. 185967, 2015.

DE PAULA, Igor L. et al. Influence of carbohydrate on the microparticulation process of whey proteins: structural modifications and indicators of the Maillard Reaction. **International Dairy Journal**, p. 106615, 2026a.

DE PAULA, Igor L. et al. Microparticulated whey proteins: a literature review. **International Dairy Journal**, v. 178, p. 106617, 2026b.

DE WIT, J. N. Thermal stability and functionality of whey proteins. **Journal of Dairy Science**, v. 73, n. 12, p. 3602-3612, 1990.

DOS ANJOS PINTO, Caroline Barroso et al. Use of milk permeate as an inducer of lactose crystallisation in sweetened condensed milk. **International Journal of Dairy Technology**, v. 78, n. 2, p. e70012, 2025.

EDWARDS, Patrick JB; JAMESON, Geoffrey B. Chapter 7—Structure and stability of whey proteins. **Milk Proteins**, p. 201-242, 2014.

FIL-IDF (1987). Milk - Determination of fat content - Reference method. **FIL-IDF 1C:1987**.

FOX, P. F. et al. Heat-induced changes in milk. In: Dairy chemistry and biochemistry. 2. ed. **Cham: Springer International Publishing**, 2015. Capítulo 9.

GE, X. et al. α -Lactalbumin: Functional properties and potential health benefits. **Food Bioscience**, v. 60, n. April, p. 104371, 2024.

GOŁĘBIEWSKI, A. *et al.* Functionalization of Alpha-Lactalbumin by Zinc Ions. **ACS Omega**, v. 7, n. 43, p. 38459–38474, 2022.

ISO; IDF. Fermented milks — Determination of titratable acidity — **Potentiometric method. ISO/TS 11869**, [S. l.], p. 1–7, 2012.

JAFARI, Somayeh; JOUKI, Mohammad; SOLTANI, Mostafa. Modification of physicochemical, structural, rheological, and organoleptic properties of sweetened condensed milk by maltodextrin, fructose, and lactose. **Journal of Food Measurement and Characterization**, v. 15, n. 4, p. 3800-3810, 2021.

JOUKI, Mohammad et al. Characterization of functional sweetened condensed milk formulated with flavoring and sugar substitute. *Food Science & Nutrition*, v. 9, n. 9, p. 5119-5130, 2021.
KALININA, Olena; KOVALENKO, Oleksandr; KORNILOVA, Olga. Investigation of viscosity of whole hydrolyze sweetened condensed milk. **Ukrainian food journal**, n. 3, Issue 2, p. 193-201, 2014.

KARBASI, Mehri; ASKARI, Gholamreza. Modification of whey protein microgel particles with mono-oligo-and polysaccharides through the Maillard reaction: Effects on structural and techno-functional properties. **Food Structure**, v. 28, p. 100184, 2021.

KERCHE, Fernanda; WETERINGS, Martijn; BEYRER, Michael. The effect of temperature and shear upon technological properties of whey protein concentrate: Aggregation in a tubular heat exchanger. **International Dairy Journal**, v. 60, p. 32-38, 2016.

KNEIFEL, W.; SEILER, A. Water-holding properties of milk protein products-A review. **Food Structure**, v. 12, n. 3, p. 3, 1993.

MELTRETTER, Jasmin et al. Site-specific formation of Maillard, oxidation, and condensation products from whey proteins during reaction with lactose. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 55, n. 15, p. 6096-6103, 2007.

MESA, Natalia Casas. **Assessment of the influence of vanillin, vanilla extract and sodium metabisulfite on Maillard reaction in sweetened condensed milk and doce de leite**. 2023. Dissertação (Mestrado em Química) — Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, MG, Brasil. Disponível em: <https://repositorio.ufjf.br/jspui/handle/ufjf/15892>. Acesso em: 23 fev. 2026.

ONWULATA, Charles; HUTH, Peter (Ed.). Whey processing, functionality and health benefits. **John Wiley & Sons**, 2009.

PAULA, Igor L. de et al. Development and Validation of a Methodology for Quantification of Whey Protein Fractions in Microparticulate Ingredients. **Química Nova**, v. 48, n. 3, p. e-20250038, 2024.

PAULA, Igor Lima De; TEIXEIRA, Eduarda B. S.; FRANCISQUINI, Júlia D. Almeida.; STEPHANI, Rodrigo; PERRONE, Ítalo Tuler; DE CARVALHO, Antônio Fernandes; DE OLIVEIRA, Luiz Fernando Cappa. Buffalo powder dairy products with and without lactose hydrolysis : Physical-chemical and technical-functional characterizations. **Lwt**, [S. l.], v. 151, n. July, 2021. b. DOI: 10.1016/j.lwt.2021.112124.

PERMYAKOV, E. A. α -Lactalbumin, amazing calcium-binding protein. **Biomolecules**, v. 10, n. 9, p. 1–50, 2020.

PINTO, Caroline Barroso dos Anjos. **Estudo da concentração de ácido sórbico e de indicadores da reação de Maillard em doce de leite e o uso de permeado de leite como indutor da cristalização de lactose em leite condensado**. 2023. UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA, [S. l.], 2023.

QUEIROZ, Elza Sales; LOPES REZENDE, Ana Luiza; PERRONE, Ítalo Tuler; FRANCISQUINI, Júlia d. Almeida.; FERNANDES DE CARVALHO, Antônio; GERMANO ALVES, Natália Maria; CAPPAL DE OLIVEIRA, Luiz Fernando; STEPHANI, Rodrigo. Spray drying and characterization of lactose-free goat milk. **Lwt**, [S. l.], v. 147, n. January, 2021. DOI: 10.1016/j.lwt.2021.111516.

RENARD, Denis et al. Heat-induced flocculation of microparticulated whey proteins (MWP); consequences for mixed gels made of MWP and β -lactoglobulin. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 24, n. 1, p. 73-85, 2002.

RENHE, Ísis Rodrigues Toledo et al. Characterization of physicochemical composition, microbiology, sensory evaluation and microscopical attributes of sweetened condensed milk. **Food science and technology**, v. 38, p. 293-298, 2018.

ROGERS, L. A.; DEYSHER, E. F.; EVANS, F. R. Factors influencing the viscosity of sweetened condensed milk. **Journal of Dairy science**, v. 3, n. 6, p. 468-485, 1920.

RYABOVA, Anastasia E.; TOLMACHEV, Vladislav A.; GALSTYAN, Aram G. Phase transitions of sweetened condensed milk in extended storage temperature ranges. 2022.

SALAMA, Mohamed et al. Animal protein-based fat replacers: new prospective and applications in dairy products and their analogues. **Food Reviews International**, v. 41, n. 3, p. 857-882, 2025.

SCHUCK, Pierre et al. Séchage des lactosérums et dérivés: rôle du lactose et de la dynamique de l'eau. **Le Lait**, v. 84, n. 3, p. 243-268, 2004.

SHIMODA, M. et al. Volatile flavor compounds of sweetened condensed milk. **Journal of food science**, v. 66, n. 6, p. 804-807, 2001.

SINGH, Harjinder. Interactions of milk proteins during the manufacture of milk powders. **Le Lait**, v. 87, n. 4-5, p. 413-423, 2007.

SPIEGEL, T.; HUSS, M. Whey protein aggregation under shear conditions—effects of pH-value and removal of calcium. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 37, n. 5, p. 559-568, 2002.

SPIEGEL, Thomas. Thermische Denaturierung und Aggregation von Molkenproteinen in Ultrafiltrationsmolkenkonzentraten: Reaktionskinetik und Partikulieren im Schabewärmetauscher. **Shaker**, 1999.

Sulejmani, E.; Boran, O.S.; Huppertz, T.; Hayaloglu, A.A. Rheology, microstructure and sensory properties of low-fat milk jam: Influence of inulin type, sucrose content, sodium bicarbonate and calcium chloride. **Int. Dairy J.** 2021, 123, 105162.

SUN, Chanchan et al. Effect of superfine grinding on the structural and physicochemical properties of whey protein and applications for microparticulated proteins. **Food science and biotechnology**, v. 24, n. 5, p. 1637-1643, 2015.

TANGER, Caren Alexandra. **Functionalisation of Pea Protein: Extraction, Gelation, and Microparticulation**. 2022. Tese de Doutorado. Technische Universität München.

TAVARES, G. M. Proteínas do soro de leite: aspectos físico-químicos e estruturais. **Química e tecnologia do soro de leite**, p. 19-29, 2020.

TEODORO, Larissa da Costa. **Investigação do espessamento em leite condensado integral: caracterização física, química e microbiológica**. 2023. Dissertação (Mestrado Profissional em Ciência e Tecnologia do Leite e Derivados) — Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, MG, Brasil. 150 f. Disponível em: <https://repositorio.ufjf.br/jspui/handle/ufjf/16972>. Acesso em: 23 fev. 2026.

TOLKACH, Alexander; KULOZIK, Ulrich. Reaction kinetic pathway of reversible and irreversible thermal denaturation of denaturation of β -lactoglobulin. **Le Lait**, v. 87, n. 4-5, p. 301-315, 2007.

VIEIRA, Maria Eduarda Martins. **Uso de proteínas do soro do leite microparticuladas na**

fabricação de requeijão cremoso. 2024. Dissertação (Mestrado) — Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, 2024. Disponível em: <https://repositorio.ufjf.br/jspui/handle/ufjf/17866>. Acesso em: 27 fev. 2026.

VITRAL, Julia Maria Pires de Matos et al. Use of Microparticulated Whey Protein in Production of Doce de Leite. **Dairy**, v. 6, n. 5, p. 55, 2025.

WIJAYANTI, Heni B.; BANSAL, Nidhi; DEETH, Hilton C. Stability of whey proteins during thermal processing: A review. **Comprehensive reviews in food science and food safety**, v. 13, n. 6, p. 1235-1251, 2014.

WOLFSCHOON-POMBO, A. F. Nota sobre o método semi-micro Kjeldahl. **Revista de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, p. 39–40, 1980.

WONG, Shin Yee; HARTEL, Richard W. Crystallization in lactose refining—A review. **Journal of Food Science**, v. 79, n. 3, p. R257-R272, 2014.