

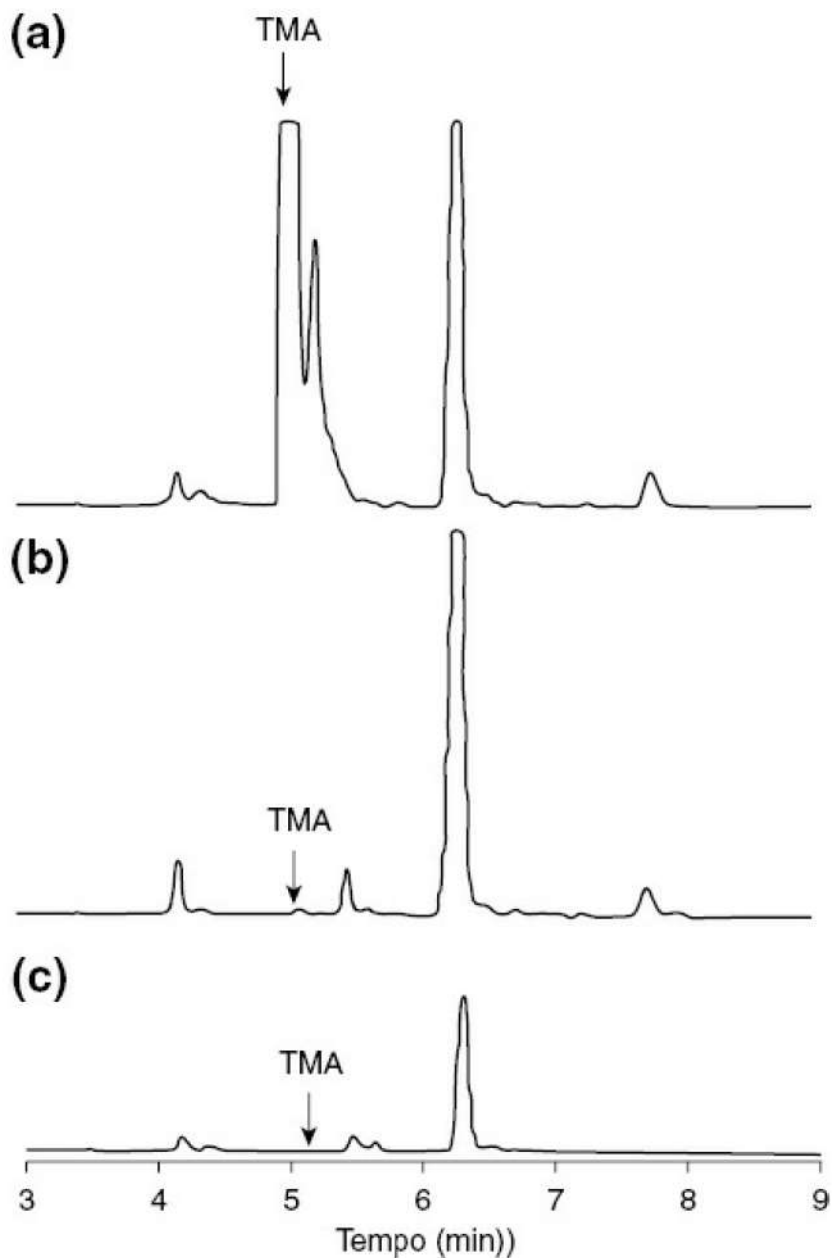
2-Decanona	De fruta, de mofo	0,19	Água	Siek <i>et al.</i> (1971)
2-Undecanona	Floral, herbáceo, de fruta	0,007-5,4	Água	Karahadian <i>et al.</i> (1985); Buttery <i>et al.</i> (1988)
		3,4	Óleo	Kubicková e Grosch (1998)

A TMA é oxidada por uma enzima hepática, a mono-oxigenase que contém flavina (FMO) em óxido de TMA, que não tem sabor nem cor (Hlavica e Kehl, 1977). É a oxidação deficiente da TMA que causa o odor de peixe (Pearson *et al.*, 1979; Spellacy *et al.*, 1979). A alimentação do gado com pasto de trigo foi particularmente associada ao surgimento do odor/sabor de peixe no leite (Mehta *et al.*, 1974; von Gunten *et al.*, 1976; Kim *et al.*, 1980). Utilizando a técnica do *headspace* dinâmico, seguida da análise por CG, Lunden *et al.* (2002a) mostraram que as amostras de leite com odor/sabor de peixe tinham > 1 mg de TMA/kg de leite, quando comparadas com as amostras de leite normal nas quais a TMA não foi detectada (Figura 12.2). Parece haver uma relação dependente de dose entre os teores de TMA e o surgimento do sabor de peixe.

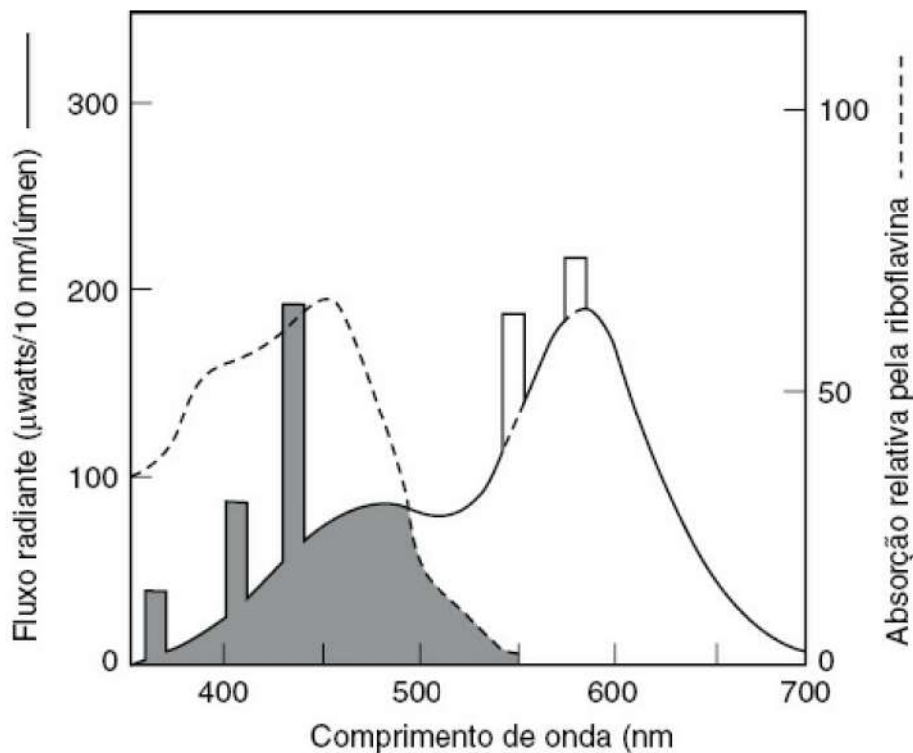
O odor de peixe ou a trimetilaminúria é um erro inato do metabolismo com herança autossômica recessiva que afeta humanos. Nessa condição, há uma secreção anormal de TMA no ar expirado, na urina, no suor, na saliva e nas secreções vaginais. Esse fenômeno parece ter origem na oxidação deficiente da TMA, que resulta de mutações com perda de função no gene *FMO3* que codifica uma isoforma da FMO (mono-oxigenase que contém flavina) (Dolphin *et al.*, 1997; Treacy *et al.*, 1998; Ackerman *et al.*, 1999; Basarab *et al.*, 1999; Forrest *et al.*, 2001). Lunden *et al.* (2002b) mostraram que a presença desse fenômeno no leite de vaca resulta de uma mutação *nonsense* (R238X) no gene ortólogo *FMO3* bovino. A substituição R238X não foi encontrada nas vacas suecas das raças *Holstein*, *Polled* ou *Jersey*, mas é surpreendentemente comum nas da raça *Red and White*.

## E. Defeitos de sabor induzidos pela luz

Aurand *et al.* (1966) mostraram que a riboflavina é o principal fator responsável pelo surgimento, no leite, do sabor oxidado induzido pela luz e que o ácido ascórbico desempenha um papel secundário. No leite, a riboflavina atua como um fotossensibilizador ao acelerar a oxidação de aminoácidos, DNAs e ácidos graxos insaturados (Choe *et al.*, 2005). O uso de luzes fluorescentes nos expositores comerciais de produtos lácteos é responsável pela deterioração do sabor e pela perda da qualidade nutritiva do leite (Bradley, 1980; Dimick, 1982; Hoskin e Dimick, 1979; Sattar e deMan, 1975). A Figura 12.3 mostra os efeitos da luz fluorescente “branca”, que tem uma emissão espectral entre 350 e 750 nm, e picos em 470 e 600 nm, e é amplamente utilizada em supermercados. A energia radiante emitida pela luz fluorescente é absorvida pelos componentes do leite, como a riboflavina, e interage com eles (Dunk *et al.*, 1962). Quando exposta à luz, a riboflavina forma oxigênio singlete e ânions superóxido, a partir do oxigênio tripleto (Jernigan, 1985; Bradley e Min, 1992; Naseem *et al.*, 1993).



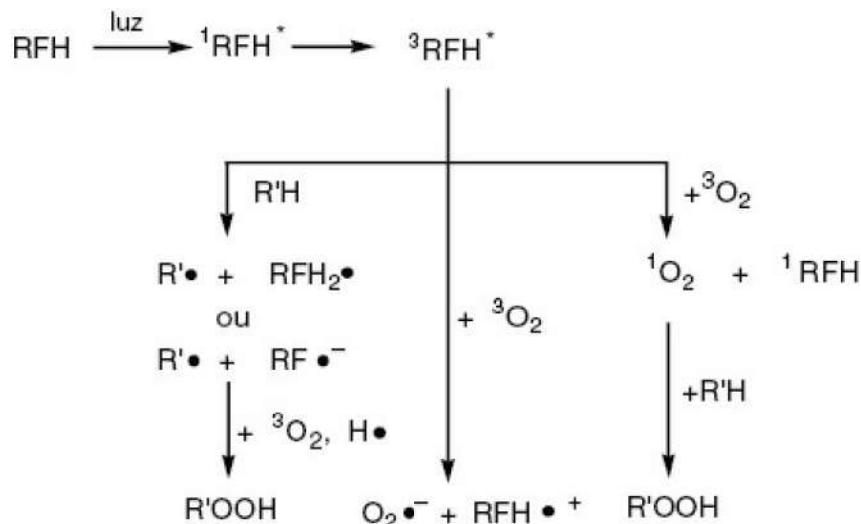
**FIGURA 12.2** Cromatografia gasosa com detector de ionização de chama: (a) amostra de leite com forte sabor de peixe; (b) leite suco normal; e (c) leite UHT suíço de referência. As amostras foram tratadas com o uso de um sistema de purga e armadilha (*purge-and-trap*) (análise do *headspace* dinâmico) e de cromatografia gasosa com detecção de ionização de chama. TMA: trimetilamina. Lunden *et al.* (2002a).



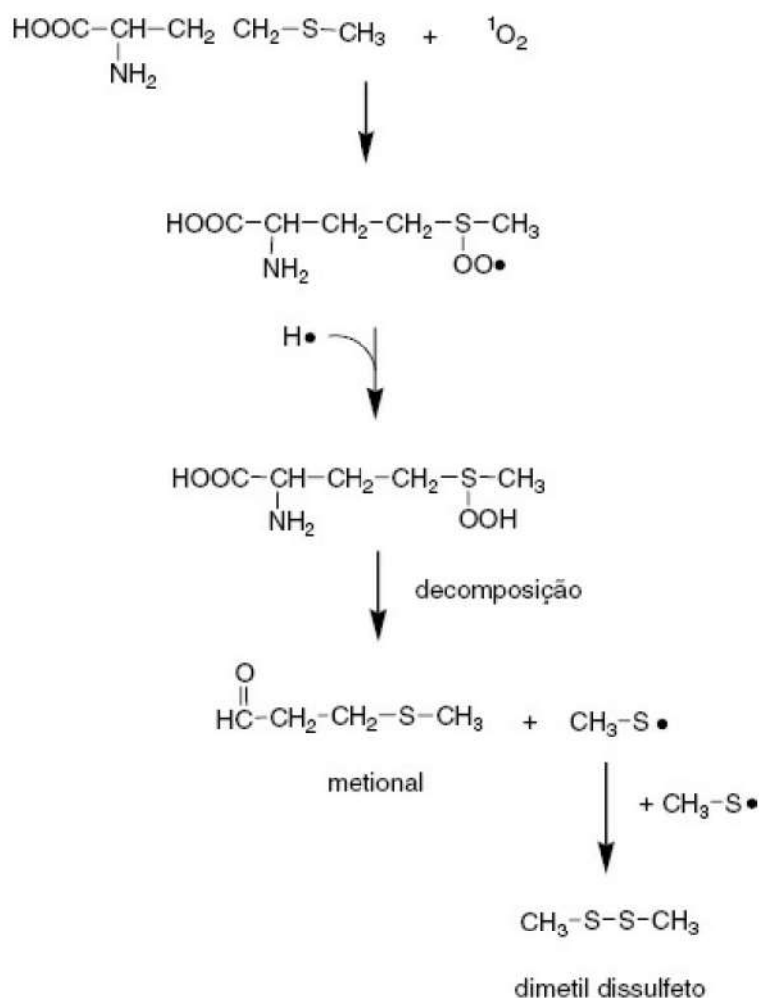
**FIGURA 12.3** Espectros de emissão de uma lâmpada fluorescente branca, fria, comparados com a absorção da riboflavina. Dunkley *et al.* (1962).

A ativação da riboflavina foi extensamente estudada e envolve vários mecanismos, denominados tipo I e tipo II (de la Rochette *et al.*, 2003). A excitação da molécula de riboflavina pela luz leva à formação do estado ativo tripleto da riboflavina, um dirradical (Choe *et al.*, 2005). O mecanismo de tipo I envolve a formação de radicais livres, por meio da transferência de hidrogênios ou elétrons entre o estado ativado tripleto da riboflavina ( $^1RF^*$ ) e os substratos (Edwards e Silva, 2001). O tipo II envolve a formação de oxigênio singleto ( $^1O_2^*$ ), por meio da transferência de energia do  $^1RF^*$  para o oxigênio molecular (Boff e Min, 2002). A Figura 12.4 mostra um esquema com os dois mecanismos (Choe *et al.*, 2005).

Os radicais da riboflavina são espécies oxidantes muito fortes, de modo que o surgimento no leite de defeitos de sabor induzidos pela luz (DSIL) depende da disponibilidade de oxigênio e luz ultravioleta. Os DSILs resultam da fotossensibilização de lipídeos e de grupos sulfurados de aminoácidos e dependem do comprimento de onda e da intensidade da luz, do tempo de exposição, da temperatura do produto e das propriedades da embalagem relativas à transmissão da luz. Os dois defeitos de sabor mais importantes e característicos do leite induzidos pela irradiação da energia luminosa são o sabor decorrente de luz solar e o sabor de papelão. O sabor decorrente de luz solar corresponde a um odor de queimado e oxidado que o leite adquire depois de ser exposto à luz por mais de dois dias. A metionina foi a primeira substância implicada por Patton e Josephson (1953) no surgimento do DSIL; sua oxidação leva à formação do dimetil dissulfeto (DMDS) e do metional. O mecanismo envolvido na formação do DSIL é um tanto controverso. Jung *et al.* (1998) relataram que o oxigênio singleto formado no leite a partir do oxigênio tripleto, na presença da riboflavina e sob a luz do sol reage com o metional, originando um hidroperóxido. A Figura 12.5 mostra que o hidroperóxido se decompõe, formando metional e radicais tiometila, e estes últimos produzem o dimetil sulfeto (DMS) (Choe *et al.*, 2005). Segundo Jung *et al.* (1998), a formação do DMDS possui alta correlação com os níveis sensoriais dos DSILs. Como o ácido ascórbico é um bom eliminador de oxigênios singletos, sua presença reduz a formação do DMDS. O sabor semelhante a papelão e o sabor metálico, que surgem depois da exposição prolongada do leite à luz, são causados por produtos secundários da oxidação lipídica, que incluem aldeídos, cetonas, alcoóis e hidrocarbonetos (Gaafar e Gaber, 1992). A técnica do *headspace* dinâmico já foi utilizada para avaliar os compostos voláteis hexanal, pentanal, DMDS, 2-butanona e 2-propanol (Kim e Morr, 1996).



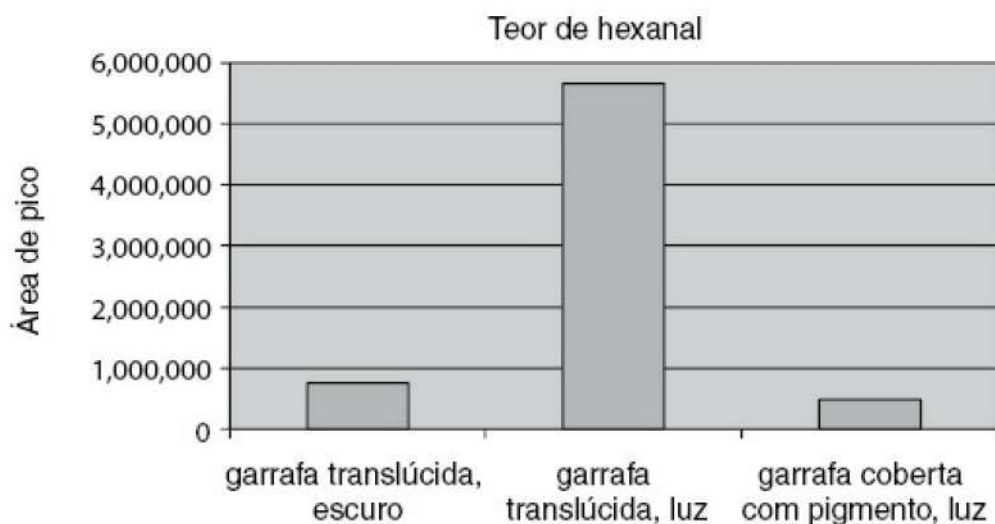
**FIGURA 12.4** Fotossensibilização da riboflavina e os mecanismos de tipo I e tipo II. Choe *et al.* (2005).



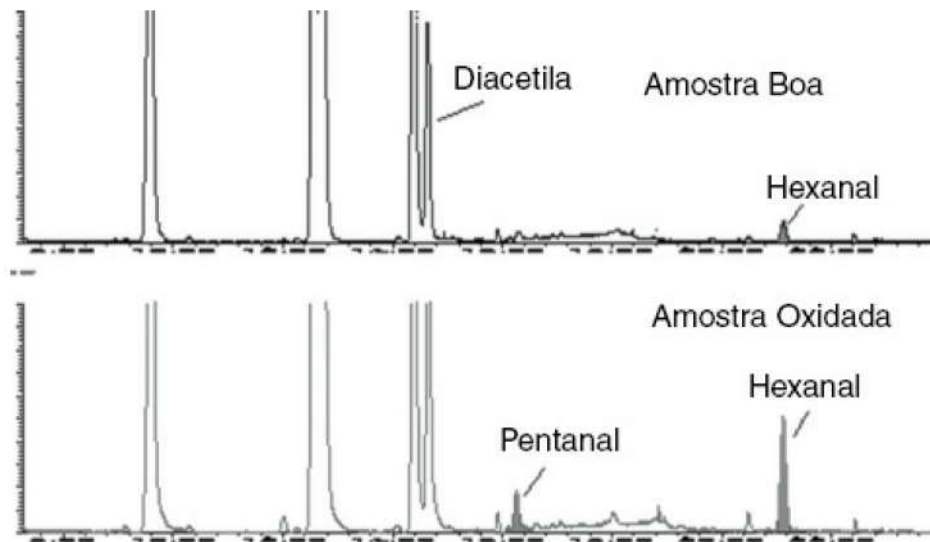
**FIGURA 12.5** Oxidação da metionina pelo oxigênio singlete. Choe *et al.* (2005).

A embalagem pode impedir de maneira direta o surgimento de DSILs, ao proteger o produto tanto da luz quanto do oxigênio. Todas as embalagens plásticas, como as de tereftalato de polietileno (PET) e de polietileno de alta densidade (HDPE), podem ser bastante convenientes, ao permitir a abertura e o fechamento fáceis, minimizando assim a recontaminação. As garrafas de PET pigmentado têm propriedades mecânicas excelentes e oferecem uma boa proteção contra o oxigênio e a luz. As garrafas de HDPE pigmentado, de monocamada ou multicamadas, com uma espessura maior que a das atuais garrafas de PET, são as mais adequadas para o mercado de embalagens para leite fresco (Cladman *et al.*, 1998). Moyssiadi *et al.* (2004) estudaram as características químicas

e sensoriais do leite pasteurizado com baixo teor de gordura, envasado em garrafas de materiais diferentes. Garrafas de HDPE pigmentado com  $\text{TiO}_2$  e em multicamadas, de HDPE em monocamada, de PET transparente e de PET pigmentado foram comparadas com embalagens de papelão durante sete dias. Quanto aos parâmetros microbiológicos e químicos analisados, os resultados mostraram que todos os materiais para embalagem forneceram uma boa proteção para o sabor do leite durante o período do teste. A garrafa de HDPE em multicamadas forneceu a melhor proteção total para o produto, seguida da garrafa de HDPE em monocamada. A degradação de compostos voláteis por reações químicas poderia explicar os resultados encontrados, como a oxidação causada pela difusão do oxigênio e pela transmissão da luz para o interior da embalagem. Em um trabalho não publicado dos autores, amostras de 2% de leite pasteurizado foram acondicionadas em garrafas de HDPE, de três modos diferentes: garrafas de HDPE translúcidas armazenadas no escuro, garrafas de HDPE translúcidas armazenadas sob uma luz fluorescente e garrafas de HDPE cobertas com pigmento bloqueador de luz e armazenadas sob uma luz fluorescente; o objetivo foi determinar a causa da oxidação. A técnica do *headspace* dinâmico demonstrou, claramente, que o leite envasado em garrafa de HDPE translúcida armazenado sob uma luz fluorescente apresentou concentrações muito mais altas de hexanal, heptanal e octanal que o leite armazenado no escuro ou envasado em garrafas que bloquearam a luz UV (dados não publicados dos autores). O teor de hexanal no leite envasado em garrafa de HDPE translúcida foi cinco vezes mais alto que o teor no leite armazenado no escuro ou envasado em garrafas que bloquearam a luz (Figura 12.6). Essa tendência também foi observada no queijo cremoso. Sua superfície apresentou uma formação muito maior de aldeídos que o centro do queijo cremoso (Figura 12.7), por causa da proteção deficiente oferecida pela embalagem (dados não publicados dos autores). Boccacci Mariani *et al.* (2006) realizaram um estudo similar para avaliar as diferenças sensoriais do leite acondicionado em materiais distintos. Não foi encontrado nenhum defeito de sabor no leite acondicionado em papelão durante o período de armazenamento estudado; no entanto, foi detectado um defeito de sabor no leite envasado em garrafa de PET (resultante das alterações oxidativas induzidas pela luz) depois de 1-2 dias de armazenamento (conforme avaliado por uma equipe treinada) e depois de 2-3 dias de armazenamento (conforme avaliado pelos consumidores). Além de oferecer proteção contra micro-organismos e contra a luz, o material da embalagem pode ser capaz de absorver um aroma ou um defeito de aroma da matriz alimentar; dependendo do produto, essa propriedade de remoção de um aroma pode ajudar a manter a qualidade do produto. A embalagem de polietileno apresenta uma adsorção muito mais forte de lactonas, aldeídos e AGs livres do leite UHT, quando comparada com as garrafas de vidro (Czerny e Schieberle, 2007).



**FIGURA 12.6** Teor de hexanal no leite armazenado em garrafas diferentes. Qian *et al.* (dados não publicados).



**FIGURA 12.7** Registro de cromatografia gasosa que mostra a oxidação do queijo cremoso. Qian *et al.* (dados não publicados).

No entanto, muitos consumidores preferem uma embalagem que permite a visão do alimento que estão comprando (Sattar *et al.*, 1976; Rosenthal, 1992; Cladman *et al.*, 1998; Doyle, 2004). Por essa razão, o leite ainda é envasado em garrafas de HDPE ou PET, que transmitem entre 62% e 85% da luz com comprimentos de onda entre 300 e 700 nm. Absorvedores de luz UV, como os filmes iridescentes, podem ser adicionados aos materiais de embalagem à base de polímeros para bloquear os comprimentos de onda UV, sem afetar a transparência do material da embalagem. Webster *et al.* (2009) demonstraram a capacidade de proteção desses filmes contra o surgimento de DSILs em 2% do leite exposto a comprimentos de onda visíveis que excitam a riboflavina (400, 446 e 570 nm). No entanto, as pesquisas deixaram claro que o bloqueio da transmissão de todos os comprimentos de onda que excitam a molécula de riboflavina não foi suficiente para proteger totalmente contra o surgimento de DSILs. Esse resultado sugeriu o envolvimento de outros componentes do leite, como as clorinas e as porfirinas, identificadas previamente por Wold *et al.* (2005) na foto-oxidação do queijo.

## F. Defeitos de sabor induzidos pelo aquecimento

O tratamento térmico pode destruir as bactérias da decomposição e inativar enzimas, aumentando assim a vida de prateleira do leite. Os tratamentos térmicos mais populares, a pasteurização e o UHT, levam ao aparecimento de novos compostos voláteis que produzem sabores desejáveis e indesejáveis e afetam o gosto e a textura do leite. Os principais compostos voláteis que contribuem para o surgimento do sabor “aquecido” são produtos da reação de Maillard. A degradação térmica dos lipídeos gera um sabor de “envelhecido” ou “oxidado” durante o armazenamento. As reações térmicas que envolvem as cadeias laterais dos aminoácidos geram compostos sulfurados que são responsáveis pelo sabor indesejado do leite UHT. Outras reações induzidas pelo calor, como a hidrólise de ligações peptídicas, a desfosforilação de proteínas e a interação entre a oxidação lipídica e a reação de Maillard, também podem, até certo ponto, afetar o sabor. Os tratamentos térmicos, em particular o UHT, podem estimular o surgimento de compostos com sabor indesejado, como aldeídos, metil cetonas e diversos compostos sulfurados (Scanlan *et al.*, 1968; Jeon *et al.*, 1978; Moio *et al.*, 1994; Contarini *et al.*, 1997; Contarini e Povolo, 2002).

Contarini e Povolo (2002) estudaram o efeito do aquecimento sobre os compostos voláteis de amostras de leite processado para uso comercial. Para isso, utilizaram a técnica da microextração em fase sólida do espaço livre (*headspace*) das amostras associada à CG. Eles identificaram 11 compostos, e 5 deles (2-pentanona, 2-heptanona, 2-nonanona, benzaldeído e 2-undecanona) exibiram uma correlação com a intensidade do aquecimento. Vazquez-Landaverde *et al.* (2005) quantificaram alguns componentes aromáticos voláteis do leite submetido a diferentes

tipos de aquecimento. As concentrações de cetonas encontradas no leite cru e no leite pasteurizado não foram diferentes; porém, as concentrações de cetonas no leite UHT foram consideravelmente mais altas. Quando analisaram leites com o mesmo teor de gordura, o leite UHT apresentou quase 12 vezes a quantidade de cetonas do leite cru e do leite pasteurizado. Os componentes que mais contribuíram foram a 2-heptanona e a 2-nonanona, seguidas pela 2,3-butanediona, 2-pentanona e 2-undecanona. As concentrações de 2-heptanona e 2-nonanona no leite UHT foram 34 e 52 vezes mais altas, respectivamente, que as das amostras de leite cru e pasteurizado. Os valores da atividade do odor (VAOs – razão entre a concentração e o limiar sensorial) relativos à 2-heptanona e à 2-nonanona foram inferiores a 1 no leite cru e no leite pasteurizado, indicando que elas não contribuem de maneira significativa para a composição do aroma. No entanto, os VAOs no leite UHT ficaram na faixa de 4-10, sugerindo que talvez tais compostos possam ser contribuintes muito importantes para o aroma do leite aquecido. Contarini *et al.* (1997) e Contarini e Povolo (2002) relataram que as concentrações de 2-pentanona, 2-hexanona, 2-heptanona, 2-nonanona e 2-undecanona aumentaram em uma proporção direta com a intensidade do aquecimento e estavam associadas ao surgimento do sabor de “envelhecido” no leite UHT. Moio *et al.* (1994) identificaram a 2-heptanona e a 2-nonanona como os compostos aromáticos voláteis mais abundantes no leite UHT.

Embora as metil cetonas estejam naturalmente presentes no leite cru, elas podem ser formadas durante o aquecimento, por meio da  $\beta$ -oxidação de ácidos graxos saturados, seguida de descarboxilação (Nawar, 1996). A gordura do leite contém 10% (m/m) de ácidos graxos com 6C, 8C, 10C e 12C, que são os precursores das metil cetonas com número ímpar de carbonos (5C, 7C, 9C e 11C), produzidas durante o tratamento por calor. O teor de gordura parece ter um impacto sobre a concentração de metil cetonas do leite UHT, sendo constatado que a concentração de metil cetonas no leite com 3% de gordura é quase o dobro daquela encontrada no leite com 1% de gordura (Vazquez-Landaverde *et al.*, 2005). As metil cetonas também podem ser formadas pela descarboxilação direta dos  $\beta$ -cetoácidos presentes no leite cru. A gordura do leite contém cerca de 1% de lipídeos, no qual os ácidos graxos oxo com diferentes comprimentos de cadeia estão esterificados com glicerol. Esses ácidos graxos oxo podem ser liberados como  $\beta$ -cetoácidos e descarboxilados, originando metil cetonas de 6C-16C quando a gordura é aquecida na presença de água (Grosch, 1982; Jensen *et al.*, 1995).

Vazquez-Landaverde *et al.* (2005) constataram que a concentração de 2,3-butanediona no leite UHT era mais alta que no leite cru, enquanto sua concentração variou amplamente no leite pasteurizado. O VAO relativo aos leites UHT e pasteurizado foi superior a 1, sugerindo que a 2,3-butanediona contribui para a composição do aroma do leite aquecido. A 2,3-butanediona foi descrita como um composto muito importante que contribui para o intenso sabor de aquecido do leite UHT, dando um aroma amanteigado, semelhante à pastelaria (Scanlan *et al.*, 1968). Embora tenha sido sugerido que a formação dessa substância seja induzida pelo aquecimento do leite (Scanlan *et al.*, 1968), ela também é atribuída à atividade microbiana existente (Badis *et al.*, 2004); por essa razão, essa substância é um indicador ambíguo do tratamento por calor.

A concentração dos aldeídos também é afetada pelo aquecimento. Os compostos que contribuem para a composição do aroma e os limiares sensoriais estão resumidos na Tabela 12.5. Todos esses compostos voláteis estão associados ao odor de “verde” e ao odor semelhante a grama; o odor dos aldeídos de cadeia mais curta também é considerado penetrante e semelhante a malte; os aldeídos com cadeia mais longa têm uma nota de odor de gordura. De acordo com Vazquez-Landaverde *et al.* (2005), o leite UHT tem uma concentração mais alta de aldeídos totais que os leites cru e pasteurizado. As concentrações de hexanal, octanal e nonanal são mais altas no leite UHT com 3% de gordura, enquanto as concentrações de 2-metilpropanal, 3-metilbutanal, 2-furaldeído, heptanal e decanal são mais altas tanto no leite com 1% de gordura quanto no UHT leite com 3% de gordura. A concentração total de aldeídos do leite cru não foi diferente daquela do leite pasteurizado.

**TABELA 12.5 Características do aroma e limiares sensoriais de alguns aldeídos voláteis**

Composto	Características do aroma	Limiar (ppm)	Meio	Referências
Acetaldeído	Penetrante, de fruta penetrante	0,025	Água	Guth e Grosch (1994)
		0,0002	Óleo	Buttery <i>et al.</i> (1995)
Propanal	Penetrante, acre, solvente	0,037	Água	Boelens e Van Gemert (1987)
		0,009	Óleo	Reiners e Grosch (1998)
2-Metilpropanal	De malte, cacau, verde, penetrante	0,002	Água	Amoore <i>et al.</i> (1976)
2-Metilbutanal	Cacau, café, amêndoa, de malte	0,002–0,14	Óleo	Guadagni <i>et al.</i> (1972); Reiners e Grosch (1998)
3-Metilbutanal	De malte, cacau	0,013	Óleo	Guadagni <i>et al.</i> (1972); Kubicková e Grosch (1998)
Butanal	Penetrante, de malte, verde	0,018	Água	Boelens e Van Gemert (1987)
Pentanal	De malte, maçã, verde	0,012–0,07	Água	Siek <i>et al.</i> (1971); Buttery <i>et al.</i> (1988)
Hexanal	De grama, verde, sebo	0,009–0,05	Água	Ahmed <i>et al.</i> (1978); Larsen e Poll (1992)
		0,19–0,3	Óleo	Siek <i>et al.</i> (1971); Guth e Grosch (1990)
(E)-2-Hexenal	Verde, doce, de folha, maçã	0,017–0,05	Água	Ahmed <i>et al.</i> (1978); Buttery <i>et al.</i> (1988); Larsen e Poll (1992)
		0,42	Óleo	Reiners e Grosch (1998)
Heptanal	De gordura, verde, de madeira, de fruta	0,031–0,25	Óleo	Siek <i>et al.</i> (1971); Guadagni <i>et al.</i> (1972)
Octanal	De gordura, cítrico	0,001	Água	Ahmed <i>et al.</i> (1978); Buttery <i>et al.</i> (1988)
		0,056	Óleo	Reiners e Grosch (1998)
Nonanal	Cítrico, verde, de gordura, floral	0,002	Água	Ahmed <i>et al.</i> (1978)
		1	Óleo	Siek <i>et al.</i> (1969)
Decanal	De cera, floral, cítrico	0,002	Água	Ahmed <i>et al.</i> (1978); Boelens e Van Gemert (1987)
Dodecanal	Cítrico, forte	0,0005–0,002	Água	Ahmed <i>et al.</i> (1978); Boelens e Van Gemert (1987)
Furfural	Doce, amêndoa, penetrante	3	Água	Guadagni <i>et al.</i> (1972)
Fenil acetaldéido	Floral, jacinto, verde	0,002	Água	Whetstine <i>et al.</i> (2005)

Com base nos VAOs, o nonanal e o decanal parecem ser compostos importantes que contribuem para o aroma dos leites cru, pasteurizado e UHT, enquanto o octanal, o hexanal, o 2-metilbutanal, o 3-metilbutanal e o 2-metilpropanal são importantes somente para o aroma do leite UHT. Contarini e Povolo (2002) constataram que o 3-metilbutanal aumentou com a intensidade do aquecimento, enquanto o hexanal e o heptanal não. A presença de 2-metilpropanal, 2-metilbutanal e 3-metilbutanal no leite aquecido se deve à degradação de Strecker dos aminoácidos, durante as reações de Maillard (Damodaran, 1996). Os aldeídos hexanal, heptanal, octanal, nonanal e decanal resultam da auto-oxidação dos ácidos graxos insaturados (C18:1 e C18:2) e também da decomposição espontânea dos hidroperóxidos estimulada pelo aquecimento (Grosch, 1982). O hexanal também pode ser transferido para o leite pela alimentação da vaca (Scanlan *et al.*, 1968) ou se originar da oxidação dos lipídeos induzida pela luz (Marsili, 1999). Rerkrai *et al.* (1987) afirmaram que o aumento da concentração dos aldeídos saturados com 2C e 7C-9C é a principal causa do sabor de “envelhecido” do leite UHT, em razão de seus limiares baixos. O 2-furaldeído foi encontrado no leite UHT (Vazquez-Landaverde *et al.*, 2005), mas o VAO era baixo demais para que fosse considerado um contribuinte importante para o aroma do leite. No entanto, ele é considerado um bom indicador do tratamento pelo calor, porque é o precursor das melanoidinas das reações de Maillard entre os açúcares e o grupo amino livre das proteínas e dos aminoácidos do leite (BeMiller e Whistler, 1996).

Vazquez-Landaverde *et al.* (2005) constataram que a concentração do acetato de etila aumenta até 10 vezes no leite UHT, quando comparado com o leite cru. Foi apurado ainda que o acetato de etila é formado pela esterificação do etanol e do ácido acético, por meio da reação de Fisher, catalisada pelo calor (Hart, 1991). No entanto, seu VAO muito baixo nas amostras analisadas sugere que esse composto não contribui muito para a composição do aroma do leite.

O processamento térmico pode gerar no leite um defeito de sabor “cozido”, sulfuroso, semelhante a repolho



(Shipe, 1980). Pesquisadores descobriram que o sulfeto de hidrogênio ( $H_2S$ ), o metanetiol (MeSH), o dissulfeto de carbono ( $CS_2$ ), o sulfeto de dimetila (DMS), o dissulfeto de dimetila (DMDS) e o trissulfeto de dimetila (DMTS) estão relacionados com o defeito de sabor “cozido” (Shipe, 1980; Christensen e Reineccius, 1992; Simon e Hansen, 2001; Datta *et al.*, 2002). Vários outros compostos sulfurados, entre eles o benzotiazol, o dimetil sulfóxido (DMSO), a dimetil sulfona ( $Me_2SO_2$ ), o sulfeto de carbonila (COS), o dióxido de enxofre, o butanetiol e o tiofeno, foram encontrados no leite aquecido, mas seus papéis na composição do sabor do leite ainda não foram bem esclarecidos (Scanlan *et al.*, 1968; Shibamoto *et al.*, 1980; Shipe, 1980; Moio *et al.*, 1994).

A concentração dos compostos sulfurados está relacionada com a intensidade do tratamento do leite pelo calor. Vazquez-Landaverde *et al.* (2006a) constataram que o leite UHT contém concentrações significativamente mais altas de  $H_2S$ , MeSH,  $CS_2$ , DMTS e DMSO que os leites cru e pasteurizado. O  $H_2S$  foi o composto sulfurado que apresentou o maior aumento na concentração, de até sete vezes. O MeSH aumentou cerca de cinco vezes, e a concentração do DMSO aumentou quase três vezes mais no leite UHT que no leite cru (Vazquez-Landaverde *et al.*, 2005).

Os compostos sulfurados têm um limiar sensorial muito baixo. Os VAOs calculados sugerem que muitos dos compostos sulfurados contribuem de modo significativo para a composição do sabor tanto do leite aquecido quanto do leite cru. Os VAOs relativos ao MeSH e ao DMTS de amostras de leite UHT foram muito maiores que 1, indicando que eles contribuem para o aroma. Tendo em vista a magnitude de seu VAO, talvez o MeSH seja o composto sulfurado que mais contribui para a composição do aroma do leite UHT; sua concentração nesse tipo de leite é 80-119 vezes mais alta que seu limiar registrado. O MeSH tem um aroma forte e desagradável de repolho, semelhante a enxofre (Rychlik *et al.*, 1998). Foi encontrada uma correlação entre o aumento da concentração desse composto e o aumento do defeito de sabor “cozido”, resultante do tratamento do leite pelo calor (Badings *et al.*, 1981; Christensen e Reineccius, 1992; Simon e Hansen, 2001). Acredita-se que o MeSH seja liberado durante o aquecimento, por meio da degradação da cadeia lateral sulfurada da metionina (Damodaran, 1996), porém a verdadeira via ainda não foi esclarecida. Apesar da importância do MeSH para a composição do sabor do leite e dos produtos lácteos, seu estudo é limitado, em razão de sua alta reatividade e volatilidade. Somente alguns pesquisadores relataram técnicas de quantificação confiáveis para o composto (Burbank e Qian, 2005; Fang e Qian, 2005).

A concentração de  $H_2S$  no leite aumenta linearmente com a intensidade do calor (Hutton e Patton, 1952; Christensen e Reineccius, 1992). Além disso, o log da concentração do  $H_2S$  tem uma forte relação linear com a intensidade do sabor “aquecido” do leite (Badings, 1978). Esse composto também é responsável, de modo indireto, pela formação de outros compostos sulfurados (Zheng e Ho, 1994). O  $H_2S$  é produzido principalmente a partir de grupos sulfidríla ativados pela temperatura de aminoácidos sulfurados (cisteína) da b-lactoglobulina (Badings *et al.*, 1981; Damodaran, 1996); esses grupos são oxidados, formando  $H_2S$ . Sugeriu-se que talvez o  $H_2S$  seja o composto com a contribuição mais importante para o sabor “cozido” do leite, por ser o principal composto sulfurado formado nos leites aquecidos (Badings *et al.*, 1978; Jaddou *et al.*, 1978; Badings *et al.*, 1981; Rerkrai *et al.*, 1987; Christensen e Reineccius, 1992) e ter um aroma característico semelhante a enxofre (Rychlik *et al.*, 1998). No entanto, Vazquez-Landaverde *et al.* (2006a) mostraram que a concentração de  $H_2S$  no leite UHT é apenas um pouco mais alta que seu limiar registrado, e os VAOs calculados indicam que talvez o  $H_2S$  seja menos importante para a composição do aroma do leite aquecido do que se acreditava.

Embora o DMS esteja presente naturalmente no leite cru (Toso *et al.*, 2002), ele também pode ser formado a partir do grupo sulfidríla das proteínas do leite submetido à desnaturação térmica (Datta *et al.*, 2002). É provável que a formação do DMDS resulte da oxidação do MeSH (Ferreti, 1973; Chin e Lindsay, 1994). Jaddou *et al.* (1978) relataram que a concentração do DMDS aumentou no leite UHT, mas diminuiu nas amostras esterilizadas. O DMDS tem aroma de enxofre, semelhante a repolho (Rychlik *et al.*, 1998) e limiares baixos. A concentração do

DMTS é baixa no leite, mas seu limiar sensorial também é muito baixo, o que indica que esse composto talvez contribua para a composição do aroma sulfuroso do leite aquecido, conquanto seja provável que não tenha a importância do MeSH.

Embora sua origem não seja bem conhecida, o dissulfeto de carbono ( $CS_2$ ) foi identificado como um produto da degradação de outros compostos sulfurados (Urbach, 1993). Visto que há uma correlação entre o  $CS_2$  e os tratamentos pelo calor (Vazquez-Landaverde *et al.*, 2006a), esse composto poderia ser um bom indicador do tratamento pelo calor. Ele tem um aroma doce, etéreo, levemente verde e semelhante ao enxofre (Rychlik *et al.*, 1998). Por causa de seu limiar sensorial alto, é provável que não contribua para a composição do sabor do leite.

Propôs-se que a dimetil sulfona ( $DMSO_2$ ) seja produzida no leite pela oxidação induzida pelo calor do DMS e que, nessa reação, o DMSO atue como intermediário (Shibamoto *et al.*, 1980). Em condições oxidativas, a metionina é facilmente oxidada por sulfóxido de metionina e sulfona de metionina, as quais sofrem degradação produzindo DMSO e  $DMSO_2$ , respectivamente (Damodaran, 1996). Shibamoto *et al.* (1980) constataram que a concentração de  $DMSO_2$  diminui quando o leite é submetido a tratamentos entre 60°C e 90°C, e que começa a aumentar de maneira considerável para temperaturas acima de 90°C. Moio *et al.* (1994) constataram que a concentração de  $DMSO_2$  é menor no leite UHT que nas amostras de leite cru e pasteurizado. O  $DMSO_2$  tem um aroma definido como semelhante a leite quente, a couro e a suor bovino (Rychlik *et al.*, 1998).

Pesquisadores observaram uma tendência geral: a concentração de  $H_2S$ , MeSH e DMTS no leite aquecido aumenta com o teor de gordura do leite (Vazquez-Landaverde *et al.*, 2006a), sugerindo que a formação (induzida pelo calor) de compostos sulfurados no leite é afetada por tal teor, mas o mecanismo ainda não é claro. De Koning *et al.* (1990) propuseram que as proteínas da membrana dos glóbulos de gordura do leite contribuem para a formação dos sulfetos.

As lactonas podem ser importantes contribuintes para o sabor do leite aquecido. São ésteres cíclicos que têm aromas pronunciados de frutas, como pêssegos, damascos e cocos (Tabela 12.6). Da g-hexalactona à g-dodecalactona, ou da d-hexalactona à d-dodecalactona, os limiares sensoriais dessas substâncias na água geralmente diminuem com o aumento do comprimento da cadeia. As lactonas podem ser formadas na glândula mamária dos ruminantes, a partir da hidrólise de ácidos graxos saturados e da subsequente ciclização dos hidroxiácidos livres (Dumont e Adda, 1978). Por essa razão, estão presentes em quantidades muito pequenas no leite fresco não aquecido. As lactonas também podem ser formadas durante o tratamento do leite por calor, por degradação térmica dos g- e d-hidroxiácidos mediante esterificação intramolecular, na qual a perda de água resulta na formação do anel (Fox *et al.* 2000). Trabalho recente realizado pelos autores deste capítulo demonstrou que a concentração de lactonas é muito mais alta no leite UHT do que no leite pasteurizado, contendo igual teor de gordura (Figura 12.8).

## **G. Processamento não térmico e formação de sabores indesejados**

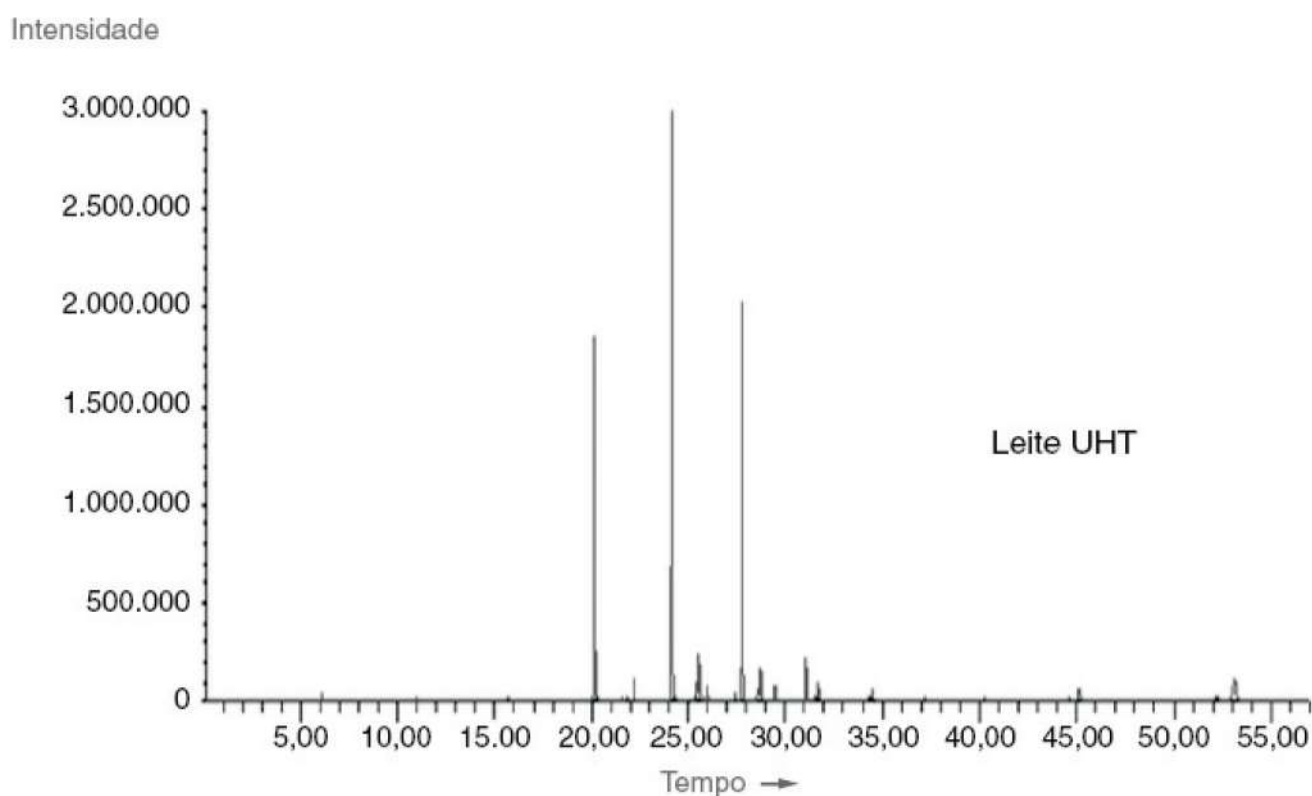
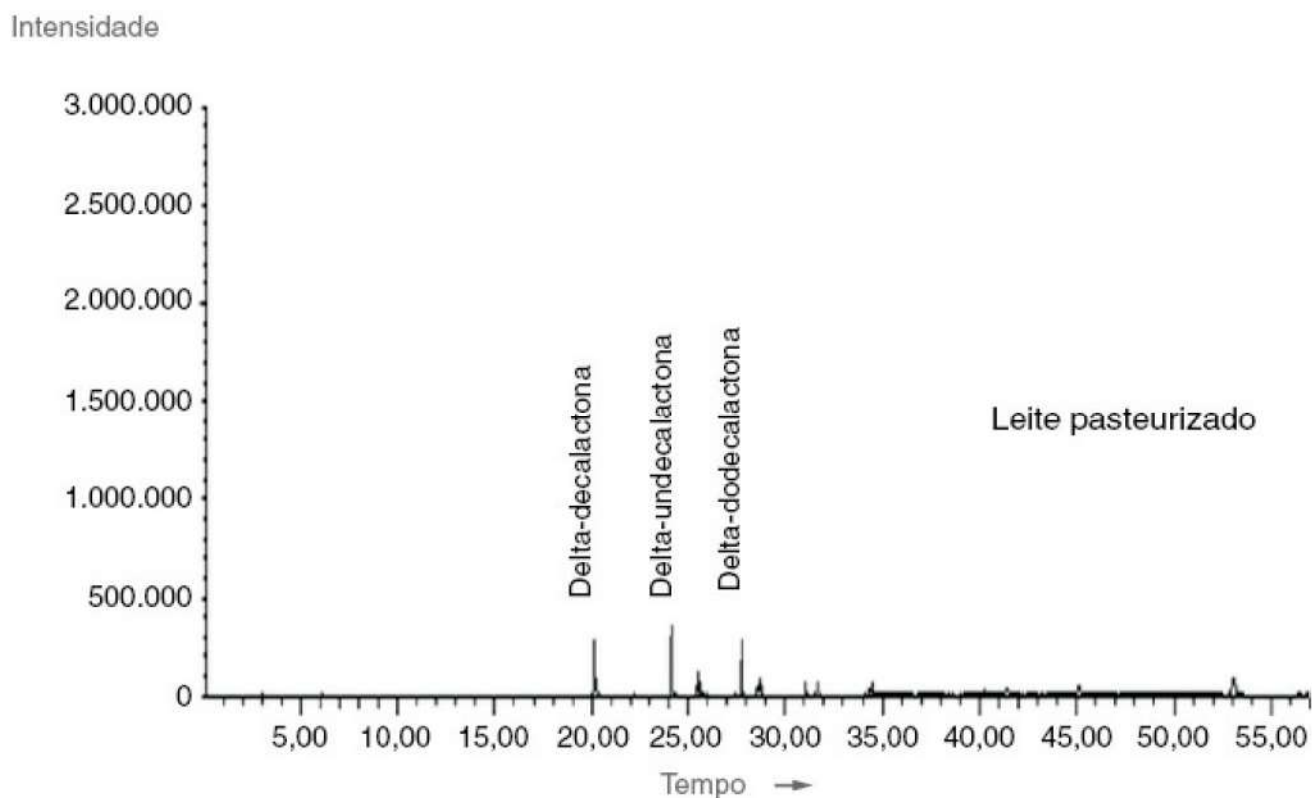
Há necessidade de uma nova tecnologia de processamento para aumentar a vida de prateleira do leite sem comprometer seu sabor natural. O processamento térmico é o método habitual para obter a segurança microbiana e a estabilidade da vida de prateleira do leite. Embora a pasteurização do leite por HTST (normalmente a 72°C durante 15 segundos) seja aceitável para a maioria dos consumidores, o processo confere um leve sabor “cozido”, com notas de enxofre, e a vida de prateleira do produto final é de apenas 20 dias nas temperaturas de refrigeração. O processamento por UHT (135°C-150°C durante 3-5 segundos) gera um produto que é estável em temperatura ambiente por até 6 meses; no entanto, esse processo pode levar ao surgimento de um forte aroma indesejado de “cozido” no leite (Shipe, 1980), o que limita sua comercialização nos Estados Unidos e em muitos outros países (Steely, 1994).

**TABELA 12.6 Características do aroma e limiares sensoriais de algumas lactonas importantes**

Composto	Características do aroma	Limiar (ppm)	Meio	Referências
$\gamma$ -Hexalactona	Coco, de fruta, doce	1,6–13	Água	Siek <i>et al.</i> (1971); Engel <i>et al.</i> (1988)
		8	Óleo	Siek <i>et al.</i> (1971)
$\gamma$ -Heptalactona	Coco, de fruta, de noz	0,52	Água	Siek <i>et al.</i> (1971)
		3,4	Óleo	Siek <i>et al.</i> (1971)
$\delta$ -Octalactona	Coco, animal	0,4–0,57	Água	Siek <i>et al.</i> (1971); Engel <i>et al.</i> (1988)
		0,1–3	Óleo	Siek <i>et al.</i> (1971); Urbach <i>et al.</i> (1972)
$\gamma$ -Octalactona	Coco, de fruta	0,095	Água	Siek <i>et al.</i> (1971)
		3,5	Óleo	Siek <i>et al.</i> (1971)
$\gamma$ -Nonalactona	Coco, pêssego	0,065	Água	Siek <i>et al.</i> (1971)
		2,4	Óleo	Siek <i>et al.</i> (1971)
$\delta$ -Decalactona	Coco, damasco	0,1–0,16	Água	Siek <i>et al.</i> (1971); Urbach <i>et al.</i> (1972); Engel <i>et al.</i> (1988)
		0,4–1,4	Óleo	Siek <i>et al.</i> (1971); Preininger <i>et al.</i> (1994)
$\gamma$ -Decalactona	Coco, damasco, de gordura	0,005–0,09	Água	Siek <i>et al.</i> (1971); Engel <i>et al.</i> (1988); Larsen <i>et al.</i> (1992)
		1	Óleo	Siek <i>et al.</i> (1971)
$\delta$ -Dodecalactona	De fruta fresca, pêssego	0,1–1	Água	Siek <i>et al.</i> (1971)
		0,12–10	Óleo	Siek <i>et al.</i> (1971); Schieberle <i>et al.</i> (1993)
$\gamma$ -Dodecalactona	Pêssego, manteiga, doce, floral	0,007	Água	Engel <i>et al.</i> (1988)
		1	Óleo	Urbach <i>et al.</i> (1972)

Métodos não térmicos promissores, que incluem a filtração por membrana, o processamento por alta pressão (HPP) e o tratamento com campo elétrico pulsado, são utilizados para obter uma vida de prateleira microbiana similar à do leite UHT, minimizando a geração de compostos de sabor indesejado. Para conservar o sabor “fresco” do leite, o HPP é estudado como uma alternativa para a pasteurização do leite. Obteve-se uma redução microbiológica semelhante àquela do leite pasteurizado com o uso de tratamentos com pressão de 400 MPa por 15 minutos ou de 500 MPa por 3 minutos em temperatura ambiente (Rademacher e Kessler, 1996). Em uma temperatura moderada (55°C), o HPP (586 MPa por 5 minutos) pode prolongar de modo significativo a vida de prateleira do leite para 45 dias, bem mais que a vida de prateleira do leite pasteurizado (Tovar-Hernandez *et al.*, 2005). Embora, de modo geral, acredite-se que o HPP em baixa temperatura não modifique o aroma nem o sabor do produto (Cheftel, 1995; Berlin *et al.*, 1999; Velazquez *et al.*, 2002), há relatos de que, sob certas condições, o HPP altera a concentração de alguns componentes importantes do sabor. Hofmann *et al.* (2005) relataram que o HPP pode influenciar a formação de compostos derivados da reação de Maillard em uma solução modelo de açúcar e aminoácido.

Em outro estudo usando leite, Vazquez-Landaverde *et al.* (2006b) constataram que a pressão, a temperatura e o tempo, bem como suas interações, têm efeitos significativos ( $p < 0,001$ ) sobre a geração de sabores indesejados no leite. Os maiores efeitos da pressão e do tempo foram observados a 60°C, enquanto os efeitos da pressão e do tempo foram quase insignificantes a 25°C. Observou-se que a geração de sabores indesejados nas amostras aquecidas a 60°C, mas com pressão, foi diferente naquelas amostras que foram apenas aquecidas. O tratamento pelo aquecimento a 60°C tendeu a promover principalmente a formação de metanetiol, H<sub>2</sub>S e metil cetonas, enquanto o tratamento com pressão alta na mesma temperatura formou, de maneira predominante, H<sub>2</sub>S e aldeídos, como o hexanal e o octanal. Os resultados demonstraram que a geração de sabores indesejados, com alta pressão e temperatura moderada, diferiu daquela sob o efeito da pressão atmosférica.



**FIGURA 12.8** Cromatografia gasosa- espectrometria de massas (monitoramento de íons selecionados, 99  $m/z$ ) de amostras de leite UHT e leite pasteurizado, por meio de extração sortiva em barra de agitação. Qian *et al.* (dados não publicados).

Embora os verdadeiros mecanismos de formação de compostos de sabor com tratamento com alta pressão não sejam conhecidos, a pressão elevada torna o oxigênio mais solúvel, o que aumenta potencialmente a formação de hidroperóxidos, levando à produção de mais aldeídos. De acordo com o princípio de Le Chatelier (Galazka e Ledward, 1996), se a formação de hidroperóxidos a partir de oxigênio e ácidos graxos envolver reações em equilíbrio com redução de volume, a pressão alta favorecerá essa reação e, assim, haverá a formação de mais aldeídos. Outra possibilidade bastante provável é que a pressão hidrostática afete a velocidade de formação de

acordo com o volume da reação de ativação ( $\Delta V^*$ ), definido como a diferença entre o volume molar parcial do estado de transição, ou ativado, e aquele do reagente sob mesma temperatura e pressão (McNaught e Wilkinson, 1997). Quando uma pressão é aplicada,  $\Delta V^* < 0$  leva a um aumento na velocidade da reação, ao passo que  $\Delta V > 0$  tem o efeito oposto. A sensibilidade de uma reação química à pressão aumentará com o valor absoluto de  $\Delta V^*$  (Mussa e Ramaswamy, 1997). A formação de  $H_2S$  parece ser afetada tanto pela pressão quanto pelo tempo de processamento (Vazquez-Landaverde *et al.*, 2006b). Observou-se um aumento considerável de  $H_2S$  nos tratamentos que envolvem pressão alta, inclusive a 25°C. A concentração de MeSH também aumentou a 25°C e pressão alta. No entanto, quando a pressão aumentou para 620 MPa, a concentração de MeSH diminuiu (Vazquez-Landaverde *et al.*, 2006b). Embora pareça que a formação do metanetiol tenha sido inibida pela pressão, é provável que ele tenha sido convertido em outros compostos. Além disso, é possível que a formação e a conversão do metanetiol sejam dependentes do pH, por causa das mudanças de pH induzidas pela pressão.

Um estudo cinético realizado por Vazquez-Landaverde *et al.* (2007) possibilitou uma compreensão melhor dos mecanismos da formação dos compostos voláteis do leite, submetido a uma pressão hidrostática elevada. A formação do hexanal, heptanal, octanal, nonanal e decanal seguiu a cinética de primeira ordem, com constantes de velocidade que aumentaram com a pressão e a temperatura. As energias de ativação relativas a esses cinco aldeídos de cadeia reta diminuíram com a pressão, o que sugere que a pressão tenha efeito catalítico sobre as reações de formação desses compostos no leite. A formação dos compostos 2-metilpropanal, 2,3-butanediona e  $H_2S$  seguiu a cinética de ordem zero, com constantes de velocidade que aumentaram com a temperatura, mas o efeito da pressão não ficou claro. As energias de ativação relativas ao 2-metilpropanal e à 2,3-butanediona aumentaram com a pressão, ao passo que os valores relativos ao  $H_2S$  permaneceram constantes no intervalo de pressão estudado. As concentrações dos outros compostos de sabor indesejado estudados, inclusive do poderoso composto metanetiol, permaneceram inalteradas em todas as amostras tratadas com pressão. No caso das metil cetonas 2-pentanona, 2-hexanona, 2-heptanona, 2-octanona, 2-nonanona, 2-decanona e 2-undecanona, a concentração dessas substâncias não dependeu do tempo nem da pressão. Os resultados corroboraram uma sugestão prévia (Vazquez-Landaverde *et al.*, 2007) de que a pressão hidrostática alta afeta de modo diferente a cinética da formação dos compostos com sabor indesejado do leite: ela inibe alguns, enquanto estimula outros. O tratamento convencional de produtos alimentícios pelo calor produz respostas diferentes, dependendo da energia livre (DG) ou da energia livre de ativação ( $DG^*$ ) das diferentes reações. Mas as reações que normalmente são observadas durante o tratamento pelo calor não serão percebidas durante o HPP, a menos que haja uma via de reação opcional que envolva a aplicação de uma redução mecânica do volume, definida como a principal diferença entre a pressão alta e o processamento térmico (Galazka e Ledward, 1996). Embora seja necessário controlar a temperatura durante os tratamentos com HPP para que o sabor do leite não se altere, Vazquez-Landaverde e Qian (2007) sugeriram que a combinação de pressão alta, calor e antioxidantes poderia ser utilizada para desenvolver um produto comercial muito mais estável nas prateleiras e, ao mesmo tempo, possivelmente reduzir – ou até eliminar por completo – o defeito de sabor “cozido”.

## REFERÊNCIAS

- Ackerman, B.R., Forrest, S., Chow, L., Youil, R., Knight, M., Treacy, E.P., 1999. Two novel mutations of the *FM03* gene in a proband with trimethyl-aminuria. *Hum. Mutat.* 13, 376-379.
- Ahmed, E., Dennison, P.A., Dougherty, R.H., Shaw, I.E., 1978. Flavor and odor thresholds in water of selected orange juice components. *J. Agric. Food Chem.* 26, 187-191.
- Amoore, J.E., Forrester, L.J., Pelosi, P., 1976. Specific anosmia to isobutyraldehyde – malty primary odor. *Chem. Senses Flavour* 2, 17-25.
- Amoore, J., Venstrom, D., Davis, A.R., 1968. Measurement of specific anosmia. *Percept. Mot. Skills* 26, 143-164.
- Anderson, M., 1982. Factors Affecting the distribution of lipoprotein-lipase activity between serum and casein micelles in bovine-milk. *J. Dairy Res.* 49, 51-59.
- Antolovich, M., Prenzler, P., Patsalides, E., McDonald, S., Robards, K., 2002. Methods for testing antioxidant activity. *Analyst* 127, 183-198.
- Aurand, L.W., Singleton, J.A., Noble, B.W., 1966. Photooxidation reactions in milk. *J. Dairy Sci.* 49, 138-143.
- Badings, H.T., 1978. Reduction of cooked flavor in heated milk and milk products. In: Land, D.G., Nursten, H.E. (Eds.), *Progress in Flavor Research*. Applied