

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
CURSO SUPERIOR DE TECNOLOGIA EM ALIMENTOS

FRANCISLANEO ALVES QUEIROZ
SILVIO ROSALINO

**TEMPO DE VIDA ÚTIL DE LEITE PASTEURIZADO
PADRONIZADO DE DIFERENTES MARCAS
COMERCIALIZADAS NA REGIÃO DE LONDRINA - PR**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

LONDRINA
2013

FRANCISLANEO ALVES QUEIROZ
SILVIO ROSALINO

**TEMPO DE VIDA ÚTIL DE LEITE PASTEURIZADO
PADRONIZADO DE DIFERENTES MARCAS
COMERCIALIZADAS NA REGIÃO DE LONDRINA - PR**

Trabalho de Conclusão de Curso de graduação, apresentado à disciplina Trabalho de Conclusão de Curso 2 do Curso Superior de Tecnologia em Alimentos, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, campus Londrina, como requisito parcial para obtenção do título de Tecnólogo em Alimentos.

Orientador: Prof.^a Dra. MARLY SAYURI KATSUDA

LONDRINA
2013

TERMO DE APROVAÇÃO

TEMPO DE VIDA ÚTIL DE LEITE PASTEURIZADO PADRONIZADO DE DIFERENTES MARCAS COMERCIALIZADAS NA REGIÃO DE LONDRINA - PR

FRANCISLNAEO ALVES QUEIROZ

SILVIO ROSALINO

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi apresentado em 18 de abril de 2013 como requisito parcial para a obtenção do título de Tecnólogo em Alimentos. Os candidatos foram arguidos pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho aprovado.

Prof.^a Dra. Marly Sayuri Katsuda
Orientadora

Prof.^a Dra. Lyssa Setsuko Sakamaka
Membro titular

Prof.^a Dra. Caroline Maria Calliari
Membro titular

Dedicamos este trabalho a Deus,
família e amigos e todos que
buscam os seus objetivos com
dedicação e perseverança.

.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, agradecemos a Deus por nos dar saúde e força por esta conquista.

A toda nossa família, especialmente as nossas esposas; Márcia Rodrigues Pereira Queiroz e Márjori Beatriz Soares de Oliveira, que estiveram sempre do nosso lado nos dando incentivo e nos entendendo pelos momentos em que não pudemos estar junto a elas devido ao nosso compromisso assumido perante as nossas obrigações acadêmicas.

A Prof.^a Dra. Marly Sayuri Katsuda que dispôs do seu tempo e conhecimento para por nos orientar neste estudo.

A Prof.^a Ms. Karla B. Guergoletto, que nos auxiliou no início do estudo sempre que nós precisamos.

A Anselmo J. Guimarães, que nos apoiou em algumas etapas deste trabalho.

Aos nossos amigos de turma e todos aqueles que durante o tempo de certa forma nos ajudou quando precisamos.

Obrigado a todos!

Hoje, não poderia demais à minha
desconfiança, visto que, agora, não
é tempo de agir, mas apenas de
meditar e de conhecer.”

(René Descartes)

RESUMO

QUEIROZ, Francislane A.; ROSALINO, Silvio. **Tempo de vida útil de leite pasteurizado padronizado de diferentes marcas comercializadas na região de Londrina - PR.** 2013. 45 páginas. Trabalho de Conclusão de Curso (Tecnologia em Alimentos) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Londrina, 2013.

RESUMO: A vida útil de um produto pode ser comprometida se as etapas do processo produtivo e da distribuição apresentarem algumas irregularidades. Este estudo teve como objetivo analisar a qualidade microbiológica (*Staphylococcus* coagulase positivo, Contagem padrão, Coliformes a 35°C, Coliformes a 45°C e Psicotróficos) e físico-química (Acidez Titulável, Teste do Álcool, Teste de Fosfatase e Peroxidase e pH) de leite pasteurizado padronizado comercializado na região de Londrina-PR. Foram analisadas três marcas diferentes (A, B e C) ao longo do tempo de armazenagem, sendo dois lotes de cada marca, condicionadas paralelamente a temperaturas entre 5 e 7°C (temperatura recomendado e usual em câmaras industriais conforme legislação vigente) e entre 10 a 12°C (temperatura usual em residências e pontos de venda). Os resultados obtidos demonstraram que o efeito da temperatura (acima do recomendado pela legislação vigente), bem como a contagem inicial (em números mais elevados) diminuiu a vida útil do produto tendo estes sua estabilidade microbiológica e físico-química afetada. Um leite pasteurizado de boa qualidade e estocado sob temperatura de 5 a 7°C conforme recomendação da legislação vigente, pode ter um aumento significativo de vida útil.

Palavras-chave: Qualidade do leite, pasteurização, análise microbiológica, vida útil

ABSTRACT

QUEIROZ, Francislaneu A.; ROSALINO, Silvio. **Shelf life of standardized pasteurized milk of different brands sold in the region of Londrina - PR:** 2013. 45 p. Final course report (Food Technology) - Federal Technology University - Parana. Londrina, 2013.

SUMMARY: The useful life of a product can be compromised if the stages of production and distribution present some irregularities. This study aimed to assess the microbiological quality (coagulase positive, Count standard Coliforms at 35 ° C, Coliforms at 45 ° C and psychrotrophic) and physicochemical (Titratable Acidity, Test Alcohol Testing Phosphatase and Peroxidase and pH) of pasteurized standardized marketed in the region of Londrina. We analyzed three different marks (A, B, C) along the shelf, with two batches of each brand, conditioned parallel to temperatures between 5 and 7 ° C (temperature recommended and usual in industrial chambers as law) and from 10 to 12 ° C (usual temperature in homes and outlets). The results showed that the effect of temperature (above recommended by law), as well as the initial count (in greater numbers) decreased the life of the product with these microbiological stability and physicochemical affected. A good quality pasteurized and stored at temperatures 5-7 ° C as recommended by the current legislation, can have

Keywords: Quality of milk, pasteurizing, microbiological analysis, life cycle

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Avaliação da evolução da contagem de Coliformes a 35°C e a 45°C do primeiro lote de leite pasteurizado padronizado das marcas A, B e C, comercializado na região de Londrina-PR.....30

Quadro 2 – Avaliação da evolução da contagem de Coliformes a 35°C e a 45°C do segundo lote de leite pasteurizado e padronizado das marcas A, B e C, comercializado na região de Londrina-PR.....31

Quadro 3 – Resultados das análises de estabilidade ao álcool 72% v/v de dois lotes de leite pasteurizado padronizado das marcas A, B e C condicionados sob temperatura de 5-7°C e 10-12°C comercializado na região de Londrina-Pr.....35

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	10
2 OBJETIVOS	11
2.1 OBJETIVO GERAL	11
2.2 OBJETIVO ESPECÍFICO	11
3 REFERENCIAL TEÓRICO	12
3.1 LEITE	12
3.2 PASTEURIZAÇÃO	12
3.3 ARMAZENAMENTO	14
3.4 ASPECTOS MICROBIOLÓGICOS	15
3.5 VIDA ÚTIL	16
4 MATERIAIS E MÉTODOS	18
4.1 TIPO DE PESQUISA	18
4.2 MATERIAL EM ESTUDO	18
4.3 MÉTODOS	18
4.3.1 Material	18
4.3.2 Métodos	19
4.3.2.1 Contagem de aeróbios mesófilos (contagem padrão em placas)	19
4.3.2.2 Aeróbios psicotróficos	19
4.3.2.3 Coliformes a 35°C e a 45°C	20
4.3.2.4 <i>Staphylococcus</i> coagulase positivo	20
4.3.2.5 Determinação da acidez	20
4.3.2.6 Determinação do pH	21
4.3.2.7 Avaliação da estabilidade do leite pasteurizado ao álcool	21
4.3.2.8 Determinação de Peroxidase	21
4.3.2.9 Determinação de Fosfatase	22
4.4 TRATAMENTO DOS DADOS	22
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	23
5.1 AVALIAÇÃO DA CONTAGEM DE MESÓFILOS	23
5.2 AVALIAÇÃO DA CONTAGEM DE PSICOTRÓFICOS	27
5.3 CONTAGEM DE COLIFORMES A 35°C E A 45°C	31
5.4 CONTAGEM DE <i>Staphylococcus</i> COAGULASE POSITIVO	33
5.5 AVALIAÇÃO DA ACIDEZ TITULÁVEL E PH DAS AMOSTRAS DE LEITE PASTEURIZADO ARMAZENADAS EM DIFERENTES TEMPERATURAS	33
5.6 AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE AO ÁLCOOL DAS AMOSTRAS DE LEITE PASTEURIZADO ARMAZENADAS EM DIFERENTES TEMPERATURAS	36
5.7 PRESENÇA DAS ENZIMAS FOSFATASE E PEROXIDASE	38
5 CONCLUSÃO	40
REFERÊNCIAS	41

1 INTRODUÇÃO

Atualmente, o leite pasteurizado padronizado tem perdido mercado para o leite UHT (*Ultra High Temperature*), devido à praticidade que esta tecnologia oferece. Segundo dados da ABLV (Associação Brasileira de Indústria de Leite Longa Vida) em 2008, do total de leite de consumo, 47% pertencia ao leite longa vida, contrapondo os 15,9% do leite pasteurizado. A indústria leiteira por sua vez, precisa estar atenta às mudanças que o mercado de leite fluído vem sofrendo e tentar adequar o leite pasteurizado a esta nova realidade. Uma das formas possíveis de aumentar as vendas é estender o tempo de vida útil do produto, o que pode ser alcançado com matéria-prima de boa qualidade, eficiência nas etapas de processo de produção e adequação na distribuição e armazenamento, com base no controle de temperatura.

O leite é produto muito rico em nutrientes, constituindo-se uma importante fonte alimentar para o homem, entretanto também é um excelente meio de cultura para o desenvolvimento de micro-organismos, o que torna o produto mais propício à deterioração.

Shelf Life, ou vida útil, é o tempo que um alimento preparado permanece saudável, ou seja, é o período de tempo que alimentos, bebidas e outros produtos possuem antes de serem considerados inadequados para o consumo. Entre os fatores relacionados à diminuição da vida útil de um produto estão a alta carga microbiana e principalmente o armazenamento e distribuição inadequado.

Normalmente o leite pasteurizado apresenta um prazo de validade fornecido pelo fabricante de 4 a 7 dias, pois fica a critério da empresa estabelecer um prazo limite da validade de seu produto, uma vez que cada indústria (é responsável pela qualidade do mesmo). Entretanto, se o produto não sofrer alterações durante a cadeia de distribuição, sua vida útil pode ser estendida além do prazo estabelecido. Portanto este trabalho teve como objetivo analisar o tempo de vida útil de diferentes marcas de leite pasteurizado padronizado comercializados na região de Londrina.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a estabilidade microbiológica e físico-química de marcas distintas de leite pasteurizado padronizado comercializado na região de Londrina ao longo do tempo de estocagem sob diferentes temperaturas.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar o efeito de temperatura de estocagem na contagem de microorganismos psicrótrópicos e mesófilos de 3 marcas de leite pasteurizado padronizado comercializado na região de Londrina - PR;
- Monitorar contagem de coliformes a 35 e 45°C e *Staphylococcus* coagulase positiva ao longo do tempo de estocagem;
- Caracterizar alguns parâmetros físico-químicas na mesma periodicidade de coleta de análises microbiológicas do leite.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 LEITE

Leite pasteurizado é o leite fluido elaborado a partir do leite cru, oriundo da ordenha completa e ininterrupta, em condições de higiene, de vacas sadias, bem alimentadas e descansadas. Deve ser refrigerado na propriedade rural, apresentar as especificações de produção, de coleta e de qualidade dessa matéria-prima contidas em Regulamento Técnico próprio e transportado a granel até o estabelecimento processador (BRASIL, 2002).

A legislação brasileira estabelece padrões físico-químicos para o leite pasteurizado tipo C, sendo, no mínimo, 3% de gordura, acidez entre 14 e 18 °D (graus Dornic), densidade entre 1028 e 1034 g.L⁻¹, índice crioscópico máximo de -0,530 °H (graus Hortvet), no mínimo 11,5% de EST (Extrato Seco Total), no mínimo 8,4% de ESD (Extrato Seco Desengordurado) (BRASIL, 2002).

Quanto aos parâmetros microbiológicos, é permitida contagem padrão em placas (máximo de $8,0 \times 10^4$ Unidade Formadora de Colônia (UFC). mL⁻¹), contagem de coliformes a 35 °C (máximo de 4 Números Mais Provável (NMP).mL⁻¹) e contagem de coliformes a 45 °C (máximo de 2 NMP.mL⁻¹) (BRASIL, 2002).

Segundo Ponchio, Gomes e Paz (2005), sabe-se que produção de leite no Brasil vem apresentando um crescimento anual significativo desde o início dos anos 90. No período entre 1996 a 2004 este crescimento foi da ordem de 2,96% ao ano, quando a produção saltou de 19 para 23,3 bilhões de litros.

Para fazer frente a estas transformações, tem-se exigido de todos os agentes que compõem a cadeia produtiva do leite um esforço para a produção e a obtenção de leite e derivados lácteos com qualidade, visando atender aos atuais requisitos de segurança alimentar e de qualidade exigidos para os alimentos destinados ao consumo humano e para assegurar um rendimento industrial satisfatório.

Com esse intuito, do ponto de vista nutricional, o leite é considerado um dos alimentos mais completos, por apresentar em sua composição alto teor de proteína, vitaminas, sais minerais, além de ser importante fonte de cálcio, sendo

amplamente comercializado e consumido pela população. É por esse motivo que merece extrema dedicação no manuseio e cuidado no processamento, uma vez que se não for consumido em perfeitas condições pode causar intoxicações ou outros transtornos nutricionais e de saúde (TAMANINI, et al. 2007; MIGUEL et al., 2010).

3.2 PASTEURIZAÇÃO

A pasteurização do leite tem como objetivo principal eliminar os micro-organismos patogênicos que possam contaminar o leite, tornando-o um produto inócuo ao consumo humano. A legislação brasileira estabelece que a pasteurização deve ser realizada submetendo o leite a temperaturas entre 72°C a 75°C por 15 a 20 segundos, Seguindo-se de resfriamento imediato em aparelhagem a placas até temperatura igual ou inferior a 4°C (BRASIL, 2002).

Para verificar se a temperatura e tempo utilizados na pasteurização foram adequados, são realizadas pesquisas de duas enzimas encontradas no leite cru: a fosfatase e a peroxidase. A fosfatase deve ser inativada e a peroxidase deve permanecer ativa no leite no processo de pasteurização (BRASIL, 2002). Segundo Tronco (2008), a pasteurização entre 72°C a 75°C por 15 a 20 segundos, tem um efeito germicida de 99,0 – 99,5%, porém só será eficiente se ocorrer em condições sanitárias adequadas e com equipamentos próprios para esta função. Os micro-organismos patogênicos do leite são destruídos além da maior parte da flora saprófita (composta essencialmente por *Lactobacillus acidófilos* e Bifidobactérias) preservando a qualidade do produto durante seu armazenamento e aumentando a vida útil. No caso de leite pasteurizado a contagem total de micro-organismos reflete um índice de boas práticas de fabricação, portanto a contagem deve ser baixa se o leite cru for de qualidade satisfatória, ou seja, quanto maior a contagem inicial do leite cru, maior a contagem no leite após pasteurização. Catão e Ceballos (1998) analisaram 75 amostras de leite cru e 75 pasteurizado após envase de uma indústria de laticínio no estado da Paraíba – PB. As amostras de leite pasteurizado foram analisadas nos meses de março a abril/1998 (1º período de estudo), e apresentaram-se fora dos padrões para coliformes, sendo que a contaminação ocorreu pós-pasteurização, no envase ou na pasteurização deficiente. Em relação ao leite e seus

derivados, alertam que os cuidados higiênicos para evitar a contaminação devem ser iniciados desde a ordenha e continuados até a obtenção do produto final.

3.3 ARMAZENAMENTO

Após a pasteurização, o leite tipo A, B e C devem ser envasados com materiais adequados para as condições previstas de armazenamento e que garantam a hermeticidade da embalagem e a proteção apropriada contra contaminações, devendo ser transportados sob temperatura máxima de 4°C para alcançar os pontos de venda com temperatura não superior a 7°C (BRASIL, 2002).

A refrigeração é uma das formas de se evitar o desenvolvimento de microrganismos mesófilos, como os coliformes, em sua maioria patógenos; no entanto, essa redução de temperatura favorece outro grupo de microrganismos deterioradores, os psicotróficos. Buscando a melhoria da qualidade do leite produzido no Brasil, mudanças no setor lácteo estão sendo implantadas, dando-se ênfase à refrigeração do leite na propriedade e ao transporte a granel (SANTANA et al., 2001).

Segundo Azevedo (2005) embora haja milhares de pontos de venda, a estrutura de mercado de distribuição tende a ser relativamente concentrada nos bairros, cuja área de atendimento frequentemente é circunscrita ao bairro.

A questão de temperatura de armazenamento acaba sendo uma preocupação para a indústria, uma vez que o produto após ser entregue nos pontos de venda não se tem mais o controle da temperatura recomendada pela legislação. Soutier e Wilcieski (2002) avaliaram o desempenho das gôndolas fechadas e abertas no condicionamento do leite pasteurizado tipo C e encontraram médias de temperaturas de 9,0°C e 5,4°C, respectivamente. Em uma das suas conclusões, afirmam que no dia a dia, grande parte dos comércios não apresentam ambientes climatizados com exceção dos grandes supermercados e redes, expondo o produto, muitas vezes, em temperaturas acima do permitido, bem como variações das mesmas que pode ocorrer ainda em certas regiões do Brasil que o clima é mais quente. Neste caso, se torna uma questão delicada, uma vez que qualquer tipo de leite pasteurizado precisa ser mantido sob refrigeração constante mesmo em dias

mais frios, pois dependendo da contagem microbiana inicial com que o produto chega nas gôndolas, sua vida útil pode ser prejudicada.

3.4 ASPECTOS MICROBIOLÓGICOS

Para Timm et al. (2003), o leite, pela sua riqueza em nutrientes, constitui-se em importante fonte alimentar para o homem e excelente meio de cultura para o desenvolvimento de um grande número de microrganismos. E a qualidade e a conservação dos alimentos estão diretamente relacionados à sua carga microbiana.

Do mesmo modo, de acordo com Zocche et al. (2002), a qualidade microbiológica do leite é um termo muito amplo e genérico. Com relação às bactérias, o leite pode proporcionar o desenvolvimento de dois grandes grupos: mesófilos e os psicrotróficos.

Neste aspecto, diversos trabalhos estão sendo realizados em todo Brasil a fim de verificar a qualidade microbiológica no leite pasteurizado vendido no comércio.

Em estudo realizado por Silva et al. (2008), as amostras de leite apresentaram-se com elevada contagem de coliformes a 35 °C, coliformes a 45 °C, contagem de bactérias mesófilas e contagem de psicrotróficos sendo 194 (55,7%), 182 (52,3%), 87 (25,0%) e 16 (4,6%), respectivamente, a qual estava acima do permitido pela legislação em vigor, indicando contaminação após o processamento ou tratamento térmico insuficiente, uma vez que estes microrganismos são eliminados ou reduzidos a um nível aceitável, quando realizado tratamento térmico adequado.

No trabalho realizado por Tamanini et al. (2007), analisando 80 amostras de leite pasteurizado tipo C, verificou-se que a qualidade microbiológica do leite produzido na região norte do Paraná não foi satisfatória, pois um número elevado de amostras não atendeu aos padrões estabelecidos pela legislação. O grupo de coliformes totais foi o grupo de microrganismos encontrado com maior frequência.

Por outro lado Zocche et al. (2002) analisaram 40 amostras de leite pasteurizado, as quais encontraram insatisfatórias as condições físico-químicas do leite pasteurizado e produzido na Região Oeste do Paraná. Porém

microbiologicamente pode-se afirmar que o leite analisado, apresentou resultados satisfatórios, o que pode estar relacionado ao alto percentual de superaquecimento durante o processo de pasteurização do leite.

Conforme Timm et al. (2003) embora tenha sido encontrado um percentual de amostras fora dos padrões inferior aos dos trabalhos citados, os resultados indicam a necessidade de uma ação mais efetiva no controle de microrganismos no leite. Os resultados obtidos indicam que as rotinas de limpeza e sanificação precisam ser revistas e aperfeiçoadas, uma vez que o percentual de amostras fora dos padrões deveu-se, principalmente, à contagem de coliformes totais acima dos valores permitidos. Catão e Ceballos (1998) afirmam com base nos resultados das análises de coliformes totais e termotolerantes, que após as melhorias na higienização realizadas no segundo período (maio de 1998) houve uma significativa redução da contaminação por estes micro-organismos, e as amostras passaram a apresentar resultados aceitáveis pela legislação, durante quase todo o segundo período.

A qualidade bacteriológica deficiente do leite integral (tipo C) comercializado em Salvador-BA, em decorrência de resultados microbiológicos insatisfatórios nas análises de coliformes e contagem de bactérias aeróbias mesófilas, confirma que problemas sanitários têm ocorrido na obtenção, tratamento e conservação do leite, sugerindo ainda a implantação de ações que possam identificar falhas no processo de obtenção do produto, e maior fiscalização pelos órgãos competentes. Devem ainda ser implantados programas de qualidade que garantam um controle efetivo das condições higiênico-sanitárias das indústrias não somente no processo, mas até na distribuição e comercialização, para obtenção de um produto de melhor qualidade a para população (GUIMARÃES, 2002).

3.5 VIDA ÚTIL

No que diz respeito à vida útil, os estudos abordados neste trabalho são da Revista *Food Ingredients Brasil* (2011) devido à falta de estudos mais aprofundados sobre o tema. Isto é visto na dificuldade de se definir vida útil pela própria definição do IFT (*Institute of Food Technologists*, 1974) que define o prazo

de validade como o “período entre a fabricação e compra no varejo de um produto alimentício, durante o qual o produto é de qualidade satisfatória” (FOOD INGREDIENTS BRASIL, 2011).

Em geral as alterações microbiológicas são de fundamental importância para produtos de curta vida útil, sendo assim as empresas precisam ter os meios disponíveis para prever a vida útil do seu produto em determinadas condições de armazenamento. A temperatura assume papel importante no controle e na prevenção de contaminação microbiana e de organismos de deterioração. Uma vez que, o aumento da temperatura geralmente eleva-se a velocidade das reações químicas que podem resultar na deterioração (FOOD INGREDIENTS BRASIL, 2011).

A medição das características de armazenamento ocorre sob condições ambientais controladas, que raramente são cumpridas na prática, especialmente quando o produto sai do ambiente de varejo. O abuso térmico na cadeia de distribuição é comum, mas torna-se quase uma rotina em um ambiente doméstico (FOOD INGREDIENTS BRASIL, 2011).

Existe uma série de pontos na cadeia alimentícia, onde os fabricantes podem influenciar o *mix* de fatores intrínsecos e extrínsecos que afetam a vida útil, incluindo: seleção e qualidade das matérias-primas; formulação do produto e elaboração; ambiente de processamento; técnicas de processamento e preservação; embalagem; armazenamento e distribuição (FOOD INGREDIENTS BRASIL, 2011).

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 TIPO DE PESQUISA

O tipo de pesquisa do presente estudo foi de caráter qualitativo (referente a qualidade do leite pasteurizado de três marcas comercializadas na região de Londrina) e quantitativo (para avaliar o tempo de vida útil das amostras das marcas analisadas). As análises das amostras dos dois lotes foram realizadas entre 28/02/12 a 29/03/12 (lote 1) e entre 10/05/12 a 07/06/12 (lote 2).

4.2 MATERIAL EM ESTUDO

As amostras de leites pasteurizado padronizado utilizadas neste trabalho foram adquiridas em supermercado na região de Londrina, sendo 25 amostras para cada uma das três marcas escolhidas, totalizando 75 amostras no primeiro lote e 75 amostras no segundo lote. Foram utilizadas caixas de isopor com gelo gel para manter as amostras refrigeradas entre 5-7°C até seu transporte para a empresa Confepar-Agro-Industrial Cooperativa Central, local onde as mesmas foram expostas sob refrigeração nas temperaturas entre 5-7°C e entre 10-12°C para posteriores análises em uma periodicidade de dois em dois dias. Procedeu-se da mesma forma para os dois lotes analisados.

4.3 MÉTODOS

4.3.1 Material

Foram utilizadas para este estudo três marcas de leite pasteurizado padronizado. As amostras foram coletadas em um dos principais estabelecimentos da região de Londrina e identificadas de acordo com as marcas e lotes, as quais foram transportadas para o laboratório microbiológico da empresa Confepar, que foram mantidas refrigeradas entre 5-7°C e entre 10-12°C para posteriores análises. As despesas com custo das compras das amostras foram de responsabilidades dos autores do presente estudo e das análises físico-química e microbiológica foram arcadas pela mesma empresa.

4.3.2 Métodos

4.3.2.1 Contagem de aeróbios mesófilos (contagem padrão em placas)

Para a análise de contagem de mesófilos em placas, foi utilizada a metodologia conforme descrito na Instrução Normativa nº. 62 (BRASIL, 2003).

A contagem Total de Aeróbios Mesófilos em placas, (*Aerobic Plate Count*), também denominada Contagem Padrão em Placas, é o método mais utilizado como indicador geral de populações bacterianas em alimentos, pois, não diferencia tipos de bactéria, sendo utilizado para se obter informações gerais sobre a qualidade de produtos, práticas de manufatura, matérias primas utilizadas, condições de processamento, manipulação e vida útil (SILVA et al., 2007, p. 87,89,137)

4.3.2.2 Coliformes a 35°C e a 45°C

Para análises de Coliformes 35°C e a 45°C, foi utilizada a metodologia do Número Mais Provável (NMP/mL) conforme descrito na Instrução Normativa nº. 62 (BRASIL, 2003).

A fundamentação dessa análise é devido ao padrão estabelecido pela legislação vigente onde a técnica de Unidades Formadoras de Colônias (UFC/g ou mL) não atende a detecção da contagem mínima. A detecção de coliformes pelo NMP se determina com a presença de produção de gás e/ou ácido no meio de cultivo contendo lactose, característica dos coliformes.

4.3.2.3 Aeróbios psicrótróficos

Esta análise determina a quantificação de microrganismos que crescem em alimentos sob-refrigeração (0-7°C), mas apresentam temperatura ótima acima de 20°C. O plaqueamento foi realizado por superfície, uma vez que, se for efetuado por profundidade a temperatura do Agar (45°C) poderá interferir negativamente o resultado final. Para análises de contagem de psicrótróficos em placas, foi utilizada a metodologia conforme descrito na Instrução Normativa nº. 62 (BRASIL, 2003).

4.3.2.4 *Staphylococcus* coagulase positivo

Conforme Silva et al. (2007) a contagem de *Staphylococcus* coagulase positivo em alimentos será realizada para verificar se o alimento em questão é uma fonte potencial de *Staphylococcus* coagulase positivo ou indicar contaminação pós-processo (que geralmente ocorre ao contato com manipuladores ou com superfícies inadequadamente sanitizadas). A metodologia utilizada para detecção de *S.aureus* está descrito na Instrução Normativa nº. 62 (BRASIL, 2003).

4.3.2.5 Determinação da acidez

A titulação da acidez é de amplo uso na inspeção industrial e sanitária do leite e derivados, bem como na elaboração de laticínios, permitindo avaliar o estado de conservação e eventuais anormalidades do produto (TRONCO, 2008, p.106).

A análise se baseia na neutralização do ácido láctico, até o ponto de equivalência, com solução Dornic, na presença de indicador fenolftaleína.

Para a determinação da acidez, foi utilizada a metodologia de titulação, conforme descrito na Instrução Normativa nº. 68 (BRASIL, 2006).

4.3.2.6 Determinação do pH

Este método se baseia na determinação da atividade dos íons hidrogênio por meio da medida potenciométrica usando um eletrodo de vidro e um de referência ou um eletrodo de vidro combinado. O Instrumento de medida de pH é, incluindo o eletrodo combinado, calibrado e com soluções-tampão de pH conhecido. Foi utilizado o método conforme INSTITUTO ADOLFO LUTZ (2005).

4.3.2.7 Avaliação da estabilidade ao álcool do leite pasteurizado

Este método trata-se de uma prova rápida que permite medir a termoestabilidade do leite ao calor, ou seja, saber se o leite resiste ao processo de pasteurização, evitando que ocorra coagulação nas placas do pasteurizador (similar à prova do alizarol, sem indicador de cor). Ao acrescentar ao leite certa quantidade de álcool etílico, produz-se uma desidratação parcial ou total de certos colóides hidrófilos, podendo haver perda de equilíbrio e conseguinte floculação. Foi utilizada a metodologia, conforme descrito na Instrução Normativa nº. 68 (BRASIL, 2006).

A perda de estabilidade da caseína frente à prova do álcool, resulta em sua precipitação, sem entretanto o leite estar ácido, chamado leite LINA (Leite

instável não ácido), e isso pode provocar significativos prejuízos a cadeia produtiva do leite, pois altera as propriedades físico-químicas do leite (MARQUES et al. 2007)

4.3.2.8 Determinação de Peroxidase

Este método avalia se o processo de pasteurização foi eficiente, pois, a enzima peroxidase presente no leite é destruída quando o leite é aquecido acima de 75°C, por mais de 20 segundos (temperatura e tempo limites para a pasteurização do leite). Foi utilizado o método conforme INSTITUTO ADOLFO LUTZ (2005).

4.3.2.9 Determinação de Fosfatase

Este método avalia se houve processo de pasteurização, uma vez que a enzima alcalina fosfatase é sensível à temperatura de pasteurização. Foi utilizado o método conforme INSTITUTO ADOLFO LUTZ (2005).

4.4 TRATAMENTO DOS DADOS

Os dados encontrados, tanto microbiológicos como físico-químicos, referente as amostras analisadas foram anotados em planilha com os respectivos códigos de cada amostra referente as marcas A, B e C, data de produção e prazo de validade das mesmas. Após a finalização das análises dos dois lotes os resultados obtidos foram transferidos para planilhas do Excel para elaboração de gráficos e também em tabelas quando se fez necessário para discussão posterior dos resultados.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 AVALIAÇÃO DA CONTAGEM DE MESÓFILOS

O estudo consistiu na avaliação da contagem de mesófilos de amostras de dois lotes de três marcas (Figuras 1a e 1b), condicionados nas temperaturas de 5 - 7°C e 10 - 12°C. Pois é preciso saber se as indústrias leiteiras mantêm um padrão de qualidade de seus produtos no decorrer dos meses.

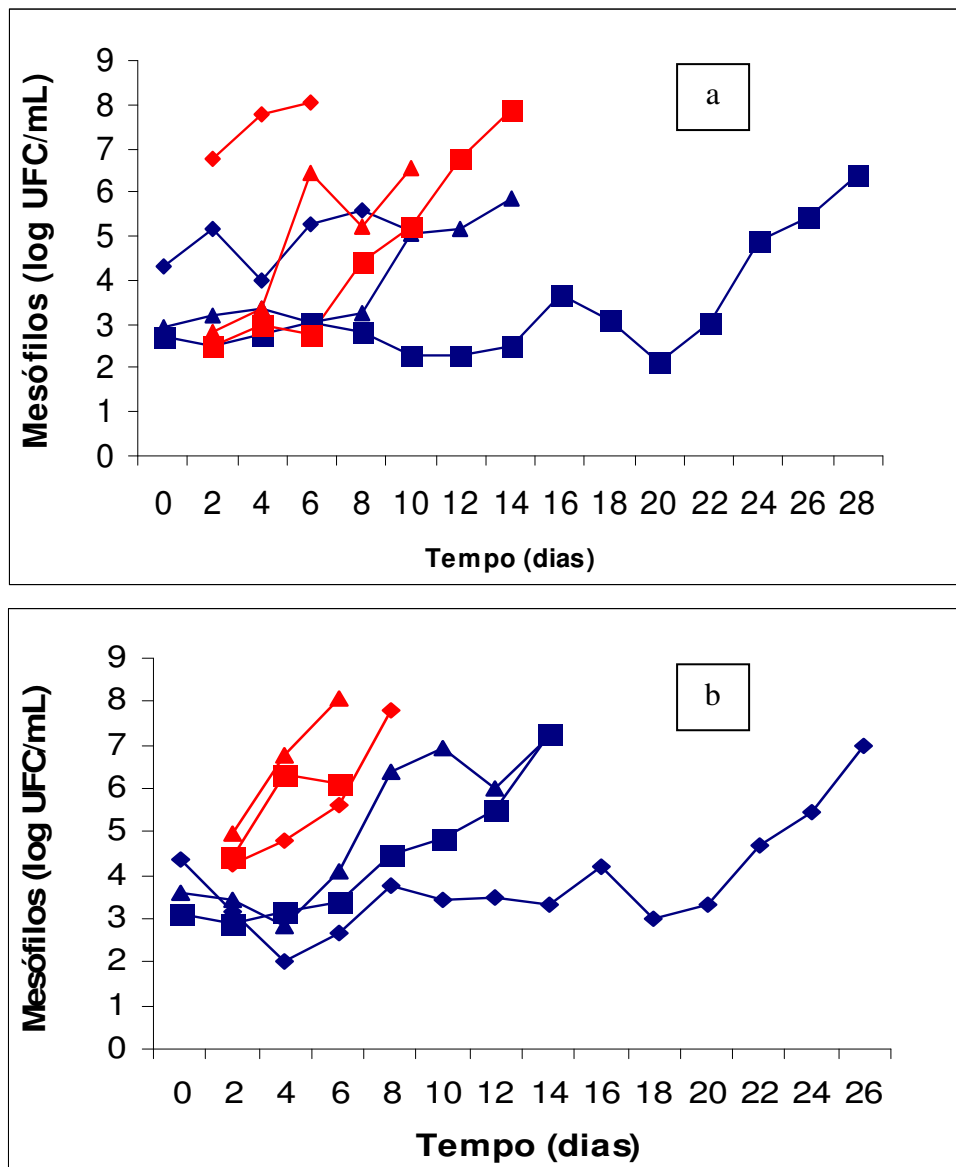


Figura 1 – Evolução da contagem de mesófilos aeróbios ao longo do período de estocagem de leite pasteurizado das marcas A (—■—), B (—▲—), C (—◆—) sob temperatura de 6 ± 1°C e 11 ± 1°C A (—■—), B (—▲—), C (—◆—) em dois lotes diferentes (a e b).

A temperatura de armazenamento entre 5-7°C aplicada neste estudo corresponde às exigências na Instrução Normativa n. 62 (BRASIL, 2011), a qual estabelece uma contagem máxima de mesófilos para leite pasteurizado padronizado de $8,0 \times 10^4$ UFC/mL. A temperatura de estocagem de 10 - 12°C simula as oscilações de temperaturas de gôndolas refrigeradas em estabelecimentos comerciais.

As amostras da marca A no primeiro lote (Figura 1a), armazenadas a temperatura de 5-7°C apresentou uma variação de contagem mesófilos de 2,69 log UFC/mL ($5,0 \times 10^2$ UFC/mL) a 6,38 log UFC/mL ($2,4 \times 10^6$ UFC/mL), enquanto o segundo lote (Figura 2 b), nesta mesma temperatura, a variação de contagem da amostra da marca A foi de 3,09 log UFC/mL ($1,24 \times 10^3$ UFC/mL) a 7,2 log UFC/mL ($1,7 \times 10^7$ UFC/mL). A contagem acima dos limites estabelecido pela IN 51 (BRASIL, 2002) das amostras da marca A nos dois lotes analisados se deu no 26º e 12º dia, respectivamente. A amostra B, (Figura 1a), no primeiro lote analisado, a 5 - 7°C, apresentou variação de contagem 2,95 log UFC/mL ($9,0 \times 10^2$ UFC/mL) a 5,83 log UFC/mL ($6,84 \times 10^5$ UFC/mL). No segundo lote (Figura 1b), a variação ficou entre 3,62 log UFC/mL ($4,2 \times 10^3$ UFC/mL) a 7,17 log UFC/mL ($1,5 \times 10^7$ UFC/mL). O leite da marca B ultrapassou o limite de mesófilos comparado aos limites estabelecidos pela legislação vigente no 10º dia para o primeiro lote e 8º dia no segundo. Em relação a amostra C, no primeiro lote, observou-se, que a variação de contagem ficou 4,29 log UFC/mL ($1,97 \times 10^4$ UFC/mL) a 5,60 log UFC/mL ($4,0 \times 10^5$ UFC/mL) (Figura 1a). No entanto, no segundo lote (Figura 1b), apresentou variação de contagem de log 2 ($1,0 \times 10^2$ UFC/mL) a 7,00 ($10,2 \times 10^7$ UFC/mL). As amostras da marca C apresentaram contagens superiores ao limite legal para mesófilos no 6º dia para o primeiro e 24º dia para o segundo lote.

O primeiro lote das amostras da marca A iniciou com uma baixa contagem de mesofilos estendendo sua vida útil para 24 dias. Situação contrária ocorreu no segundo lote, pois a vida útil do leite pasteurizado finalizou aos 10 dias de estocagem sob refrigeração a 5 – 7°C. Este estudo permitiu-se observar que os lotes de leite pasteurizado que apresentaram contagens inferiores a 10^3 UFC/ml apresentaram sua vida útil superior a 20 dias. Para as amostras que apresentaram contagens superiores a esse limite tiveram um acréscimo de estabilidade microbiológica não superior a 7 dias. Um fator importante para as amostras que apresentaram maior estabilidade microbiológica foram as baixas contagens iniciais.

Os resultados obtidos por Martins (2012), em seu estudo sobre a qualidade microbiológica de leites pasteurizados comercializados na cidade de Morada Nova, Ceará, comenta sobre a necessidade de maior controle higiênico-sanitário para alguns leites, pois, contagens elevadas podem indicar recontaminação do leite pós-pasteurização, provavelmente pela falta de Boas Práticas de Fabricação, devido, principalmente, às más condições de higienização das dos equipamentos de envase e/ou das embalagens e ineficiência do tratamento térmico para eliminação dos micro-organismos patogênicos e deteriorantes. Segundo Zocche et al. (2002), o processo de pasteurização não elimina a totalidade de mesófilos, e portanto, exige-se maior atenção nas condições de armazenamento do leite. Tronco (2008) menciona que o sistema de pasteurização baixa/lenta a temperatura de 62 – 65°C/30 minutos e a 72 – 75°C/15 segundos eliminam 95% e 99,0 - 99,5% da flora microbiana, respectivamente, não atingindo, em nenhum dos dois sistemas a eficiência máxima. Salientando dois grupos de micro-organismos não são eliminados pela pasteurização, os quais dividem-se em: termodúricos (sobrevivem à exposição de temperaturas relativamente elevadas, mesmo que não cresçam necessariamente nessas temperaturas) e termófilos (necessitam de temperaturas altas para crescer e desenvolver suas atividades metabólicas), os quais se contiver grandes quantidades no leite cru, a vida útil do leite pasteurizado será menor.

As amostras analisadas das marcas A, B e C a 5 - 7 °C apresentaram estabilidade durante o prazo de validade conforme especificado nas respectivas embalagens que eram de 7, 6 e 4 dias.

Na avaliação da contagem de mesófilos das amostras de leite pasteurizados armazenados na temperatura de 10 - 12°C (Figura 1a), as mesmas foram realizadas após 24 horas de condicionamento em câmaras a temperatura de 10 - 12°C, ou seja, neste período percorreu 2 dias de vida do produto na câmara fria.

A amostra da marca A armazenada na temperatura de 10 - 12°C (Figura 1a) no primeiro lote apresentou contagem acima dos limites conforme legislação de 5,20 log UFC/mL ($1,6 \times 10^5$ UFC/mL) no 10º dia. No segundo lote (Figura 1 b) alcançou contagem de 6,32 log UFC/mL ($2,1 \times 10^6$ UFC/mL) no 4º dia. Enquanto a amostra da marca B, no primeiro lote, apresentou uma contagem fora do padrão 6,46 log UFC/mL ($2,92 \times 10^6$ UFC/mL) no 6º dia e no segundo lote, sua contagem extrapolou o limite estabelecido pela legislação vigente no 4º dia. A situação inversa

foi observada para a amostra C, onde a contagem ultrapassou os limites legais no 2º dia, contendo 6,75 log UFC/mL ($5,7 \times 10^6$) e no segundo lote, o fim da vida útil ocorreu no 4º dia de estocagem com log 5,59 UFC/mL ($3,9 \times 10^5$ UFC/mL).

No presente estudo, o acondicionamento de leite em temperaturas de 10 - 12°C acelerou o crescimento de contagem de mesófilos diminuindo a vida útil das amostras antes do período de estocagem determinado no ensaio anterior, ou seja, na temperatura estabelecida pela legislação. Ao comparar o tempo de vida útil estabelecido pelas indústrias que comercializam as 3 marcas, o segundo lote da marca B e o primeiro lote da marca C apresentou problemas com contagens elevadas antes do final do prazo, o que demonstra que é importante obedecer à recomendação de estocagem pelas empresas para garantir a qualidade do produto dentro do prazo. Lembrando que a contagem inicial de cada marca e lote comprometeram a qualidade de algumas dessas amostras neste estudo.

A temperatura de armazenamento de leite pasteurizado fora da recomendação legal simula condições possíveis que pode ocorrer nas gôndolas de supermercados, padarias e mercearias entre outros estabelecimentos que comercializa leite pasteurizado demonstrando que tal negligência pode comprometer a estabilidade microbiológica do produto antes de chegar na casa do consumidor, e conseqüentemente, causar riscos a saúde do consumidor. Segundo Ceci e Gigante (2007), a temperatura de comercialização é um ponto crítico de controle, resultados encontrados em seu estudo mostraram que a temperatura de armazenamento do leite pasteurizado afetou a vida útil dos produtos, o qual durou 11 dias quando estes estavam armazenados a $5 \pm 1^\circ\text{C}$ e 6 dias sob $10 \pm 1^\circ\text{C}$.

Martins (2012), presença de micro-organismos mesófilos em grande número em alimentos pode ser indicativa de deficiente qualidade higiênica da matéria-prima devida à aplicação de processo tecnológico inadequado, manipulação higiênica incorreta ou manutenção em condições impróprias.

Sanvido (2007) avaliou o efeito do tempo de armazenamento do leite cru e da temperatura de estocagem do leite pasteurizado sobre sua qualidade físico-química, microbiológica e vida útil. Conforme resultados encontrados pelo autor, o tempo da fase lag apresentou tendência de ser maior quanto menor o tempo de armazenamento do leite cru (0 dias) e menor a temperatura ($5 \pm 1^\circ\text{C}$) de estocagem do leite pasteurizado. Relata que, nestas condições, a vida útil do leite pasteurizado foi de 10,7 dias. Por outro lado, quando o leite cru foi armazenado por 7 dias a

10±1°C, e após, foi submetido a pasteurização, sua vida útil reduziu para 2,3 dias. Este estudo permitiu concluir que o tempo de vida do leite pasteurizado depende, além da boa qualidade microbiológica e um curto tempo de armazenamento do leite cru, uma baixa temperatura para a estocagem do leite pasteurizado.

Os tipos de gôndolas nos estabelecimentos comerciais também podem influenciar na estabilidade microbiana do leite pasteurizado. O estudo de Soutier e Wilcieski (2002) consistiu na avaliação do desempenho das gôndolas abertas e fechadas no condicionamento do leite pasteurizado tipo C durante 13 dias em supermercados em um município do oeste do Paraná. Os autores concluíram que a gôndola aberta apresentou maior temperatura durante o monitoramento com média de 9,0°C enquanto que a gôndola fechada apresentou temperatura de armazenamento dentro do recomendado pela legislação que foi de 5,4°C.

5.2 AVALIAÇÃO DA CONTAGEM DE PSICROTRÓFICOS

O estudo consistiu na avaliação de contagem de psicotróficos de amostras de dois lotes acondicionados nas temperaturas de 5 - 7°C e 10 - 12°C (Figura 2a e 2b respectivamente).

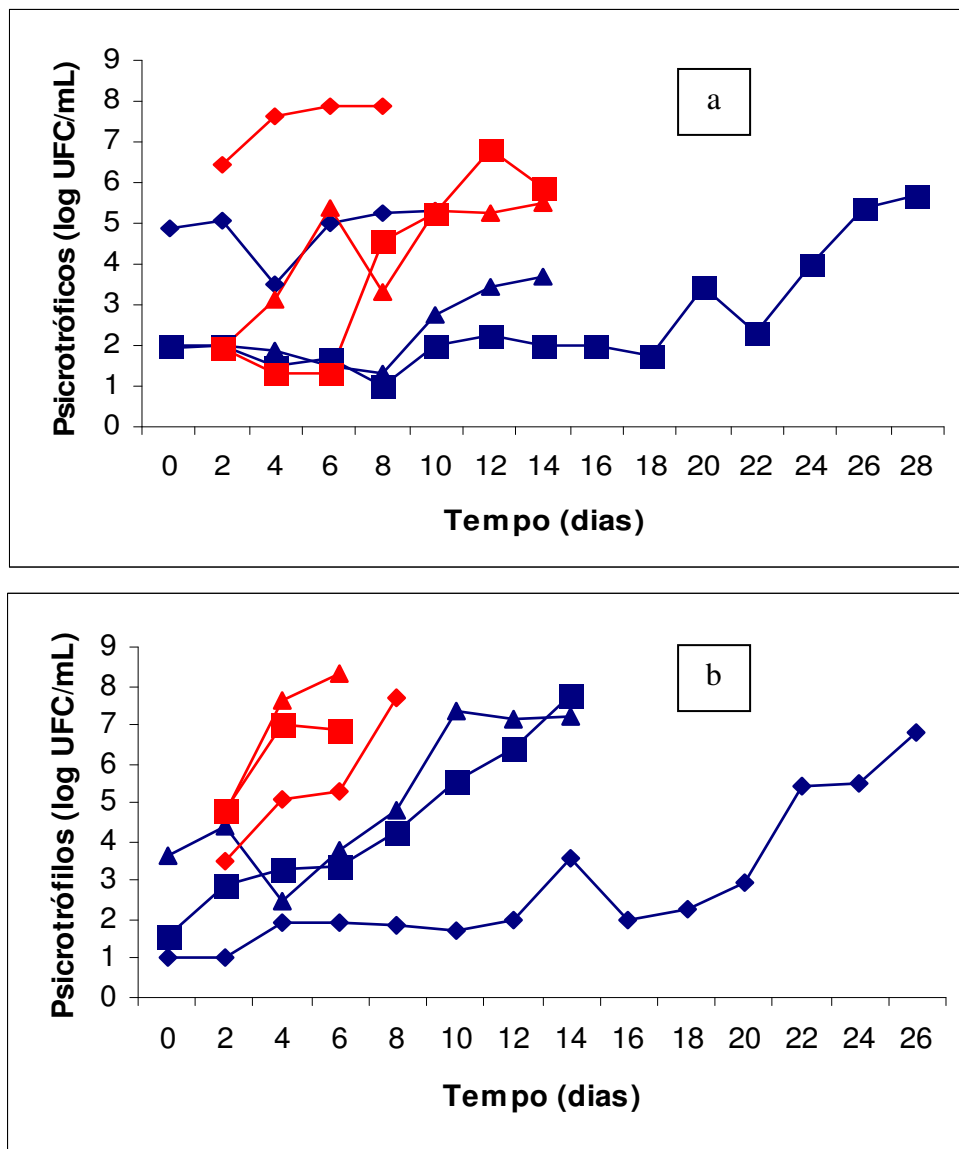


Figura 2 – Evolução da contagem de psicrotróficos ao longo do período de estocagem de leite pasteurizado das marcas A (■), B (▲), C (◆) sob temperatura de $6 \pm 1^\circ\text{C}$ (Azul) e $11 \pm 1^\circ\text{C}$ A (■), B (▲), C (◆) (vermelho) em dois lotes diferentes (a e b).

No primeiro lote analisado, a amostra da marca A, na (Figura 2 a), temperatura de $5-7^\circ\text{C}$, apresentou variação de contagem entre 2 log UFC/mL ($1,0 \times 10^2$ UFC/mL) a 5,69 log UFC/mL ($5,0 \times 10^5$ UFC/mL). No segundo lote, (figura 2 b), a variação de contagem se deu entre 1,6 log UFC/mL ($4,0 \times 10^1$ UFC/mL) a 7,77 log UFC/mL ($6,0 \times 10^7$). As contagens superaram os limites estabelecidos pela legislação no 26º para o primeiro lote e 10º dias para o segundo. As amostras da marca B, nesta mesma temperatura, apresentaram contagem inicial 1,95 log UFC/mL ($9,0 \times 10^1$ UFC/mL) e manteve uma baixa contagem até o 15º dia de estocagem em que finalizou-se as análises em geral para esta marca. No segundo

lote (Figura 2b), a contagem variou entre 3,66 log UFC/mL ($4,6 \times 10^3$ UFC/mL) a 7,20 log UFC/mL ($1,6 \times 10^7$ UFC/mL). A contagem elevada se deu apenas no segundo lote no 10º dia. No caso da amostra C, no primeiro lote, desde a primeira análise já apresentou uma contagem elevada de 4,9 log UFC/mL ($8,0 \times 10^4$ UFC/mL) variando até log UFC/mL 5,34 ($2,2 \times 10^5$ UFC/mL). No segundo lote, ocorreu o contrário, a contagem variou 1 log UFC/mL ($1,0 \times 10^1$ UFC/mL) a 6,8 log UFC/mL ($6,8 \times 10^6$ UFC/mL) e somente no 22º dia extrapolou a contagem, apresentando a amostra da marca C melhores resultados comparado com as demais amostras. Avaliando os resultados, (Figuras 2a e 2b), verificou-se que a marca que apresentou contagem inicial de psicotróficos elevada, também obteve menor vida útil. Santos e Fonseca (2003), mencionam que os micro-organismos psicotróficos em condições de refrigeração mantêm sua capacidade de multiplicação e tendem a se tornar predominantes na microbiota do leite cru após dois a três dias de estocagem, e pode prevalecer no leite pasteurizado.

Segundo Andreatta et al. (2012), que avaliaram três marcas de leite pasteurizado tipo B comercializados no município de Campinas-SP, para os psicotróficos, não há padrão impostos pela legislação vigente. A contaminação dos produtos lácteos por bactérias psicotróficas pode originar-se do suprimento de água de qualidade inadequada, deficiências de procedimentos de higiene e mastite. Portanto, procedimentos de higienização empregados na cadeia produtiva do leite constituem pontos críticos para a obtenção de uma matéria-prima de alta qualidade (PINTO et al. 2006).

As amostras armazenadas em temperatura de 10 - 12°C, (Figura 2 a), no primeiro lote a amostra da marca A, apresentou variação de contagem 1,95 log UFC/mL ($9,0 \times 10^1$) a 6,80 log UFC/mL ($6,4 \times 10^6$ UFC/mL), com contagem elevada no 10º dia. No segundo lote (Figura 2b), a contagem elevada ocorreu no início das análises com 4,77 log UFC/mL ($6,0 \times 10^4$ UFC/mL) a 7 log UFC/mL final ($1,0 \times 10^7$ UFC/mL). As amostras da marca B (Figura 2 a), no primeiro lote, apresentou variação de contagem 1,95 log UFC/mL ($9,0 \times 10^1$ UFC/mL) a 5,47 log UFC/mL ($3,0 \times 10^5$ UFC/mL). No segundo lote (Figura 2b), apresentou variação de contagem de 4,75 log UFC/mL ($5,7 \times 10^4$ UFC/mL) a 8,3 log UFC/mL ($5,7 \times 10^4$ UFC/mL). As amostras da marca C, no primeiro lote apresentou variação de contagem 6,43 log UFC/mL ($2,75 \times 10^6$ UFC/mL) a 7,89 log UFC/mL ($7,8 \times 10^7$ UFC/mL) apresentando contagem alta desde o início das análises. No segundo lote observou-se uma

variação de contagem 3,47 log UFC/mL ($3,0 \times 10^3$ UFC/mL) a 7,7 log UFC/mL ($5,1 \times 10^7$ UFC/mL) tendo um aumento de contagem no 4º dia. Observou-se que as amostras da marca A expostas a temperatura de 10 - 12°C, apresentou 14 dias de vida útil a menos comparado quando exposta a 5 - 7°C, evidenciando a consequência da temperatura acima do permitido sobre a contagem de psicotróficos no produto durante estocagem em temperaturas elevadas não somente para a marca A, mas também nos produtos das amostras das demais marcas analisadas. No caso da amostra C, a vida útil já estava comprometida desde o início das análises para as duas faixas de temperatura. Para Fox (1989) apud Martins et al. (2013), as bactérias psicotróficas, aparentemente, não são significativas quanto à proteólise, a menos que a população exceda 10^6 UFC/mL. Segundo Santos (2009), os micro-organismos psicotróficos limitam a qualidade do leite e derivados, pois as enzimas produzidas resistem ao processo de pasteurização. As variações de contagem desses micro-organismos durante a estocagem do leite sob refrigeração podem ser explicadas pelas diferentes temperaturas e tempos de estocagem. Segundo Lorenzetti (2006), as enzimas lípases e proteases, mesmo em baixas concentrações, podem levar ao sabor amargo e rançoso tanto no leite quanto nos demais produtos lácteos estocados sob refrigeração entre 2º - 10°C, independentemente de sua temperatura ótima de crescimento.

5.3 COLIFORMES A 35°C E A 45°C

Todas as marcas das amostras apresentaram contagem de coliformes a 35°C e a 45°C dentro dos limites estabelecidos pela legislação ao longo do período de estocagem nas temperaturas de 5-7°C e 10-12°C no primeiro e segundo lotes neste estudo (Tabelas 1 e 2).

Tabela 1 – Avaliação da evolução da contagem de Coliformes a 35°C e a 45°C do primeiro lote de leite pasteurizado padronizado das marcas A, B e C, comercializado na região de Londrina-PR.

Tempo (dias)	Amostra A (NMP/mL)				Amostra B (NMP/mL)				Amostra C (NMP/mL)			
	5-7°C		10-12°C		5-7°C		10-12°C		5-7°C		10-12°C	
	Colif. 35°C	Colif. 45°C	Colif. 35°C	Colif. 45°C	Colif. 35°C	Colif. 45°C	Colif. 35°C	Colif. 45°C	Colif. 35°C	Colif. 45°C	Colif. 35°C	Colif. 45°C
0	<0,3	<0,3	-	-	<0,3	<0,3	-	-	<0,3	<0,3	-	-
2	<0,3	<0,3	<0,3	<0,3	<0,3	<0,3	<0,3	<0,3	<0,3	<0,3	2,3	<0,3
4	<0,3	<0,3	<0,3	<0,3	<0,3	<0,3	<0,3	<0,3	<0,3	<0,3	24	2,3
6	<0,3	<0,3	<0,3	<0,3	<0,3	<0,3	24	<0,3	0,73	<0,3	24	15
8	<0,3	<0,3	<0,3	<0,3	<0,3	<0,3	24	<0,3	0,91	<0,3	24	24
10	<0,3	<0,3	<0,3	<0,3	<0,3	<0,3	24	<0,3	0,91	<0,3		
12	<0,3	<0,3	<0,3	<0,3	<0,3	<0,3	24	<0,3				
14	<0,3	<0,3	<0,3	<0,3	<0,3	<0,3	24	<0,3				
16	<0,3	<0,3										
18	<0,3	<0,3										
20	<0,3	<0,3										
22	<0,3	<0,3										
24	<0,3	<0,3										
26	<0,3	<0,3										
28	<0,3	<0,3										

A Instrução Normativa n. 62 (BRASIL, 2011) estabelece o limite máximo de 4 NMP/mL para Coliformes a 35°C e de 2 NMP/mL para Coliformes a 45°C. No lote 1 (Tabela 1), a marca B ultrapassou os limites legais de contagens para coliformes a 35°C a partir do 6º dia de armazenamento quando condicionados a temperatura de 10-12°C. Já a amostra C apresentou fora do padrão no 4º dia de armazenamento a 10-12°C. Ao avaliar a incidência de Coliformes a 45°C somente a amostra C apresentou contagem fora dos limites legais a partir do 4º dia de armazenamento a 10-12°C.

No segundo lote as marcas A e B ultrapassaram os limites legais para coliforme a 35°C a partir do 10º dia quando condicionados a 5-7°C (Tabela 2).

Tabela 2 – Avaliação da evolução da contagem de Coliformes a 35°C e a 45°C do segundo lote de leite pasteurizado e padronizado das marcas A, B e C, comercializado na região de Londrina-Pr.

Tempo (dias)	Amostra A Coliformes				Amostra B Coliformes				Amostra C Coliformes			
	5-7°C		10-12°C		5-7°C		10-12°C		5-7°C		10-12°C	
	C. a 35°C	C. a 45°C	C. a 35°C	C. a 45°C	C. a 35°C	C. a 45°C	C. a 35°C	C. a 45°C	C. a 35°C	C. a 45°C	C. a 35°C	C. a 45°C
0	<0,3	<0,3	24	0,94	0,3	<0,3	24	2,3	0,62	<0,3	24	4,3
2	<0,3	<0,3	24	0,94	9,3	2,3	24	0,91	0,91	0,36	24	9,3
4	2,3	<0,3	24	2	0,36	0,3	24	2,9	2,3	0,36	24	15
6	2,3	<0,3			1,5	<0,3			2	0,36	24	9,3
8	2	<0,3			1,5	<0,3			0,73	0,73		
10	24	<0,3			24	24			0,36	<0,3		
12	24	<0,3			2,3	<0,3			<0,3	<0,3		
14	24	<0,3			24	<0,3			<0,3	<0,3		
16									<0,3	<0,3		
18									<0,3	<0,3		
20									9,3	<0,3		
22									24	<0,3		
24									<0,3	<0,3		

Embora a amostra B tenha apresentado problemas de contaminação de coliformes a 35°C e a 45°C no 2º dia de estocagem sob a mesma temperatura, entende-se que foi uma amostra com algum problema de contaminação no momento do envase. Pois, as amostras posteriores continuaram dentro dos limites legais até o 20º dia de estocagem sob refrigeração.

Em contrapartida a amostra C condicionada à temperatura de 5-7° C apresentou problemas com coliformes a 35°C ultrapassando os padrões legais somente no 20º e 22º dias. No entanto sob temperatura de refrigeração de 10-12° C a marcas A, B e C apresentaram contagens acima dos limites máximos para coliformes a 35°C a partir do 2º dia. Ao estimar a ocorrência de coliformes a 45° C sob a mesma temperatura de estocagem, apenas a marca C apresentou não conformidade em todas as suas amostras.

As amostras que apresentaram contagens elevadas de coliformes a 35°C e a 45° C evidencia que esse problema pode ser proveniente do setor produtivo da empresa. Timm et al. (2003) mencionam que os coliformes são destruídos na pasteurização, e que a presença de uma grande quantidade de Coliformes totais no leite, a qual foi corretamente pasteurizado é sinal de recontaminação. Assim as atenções devem ser redobradas com relação a sanificação de máquinas e equipamentos que entram em contato com o leite após a pasteurização. A presença de coliformes em leite pasteurizado indica a necessidade de uma ação mais efetiva

no controle do tempo e temperatura do pasteurizador e na seleção de fornecedores de leite cru (SILVA et al., 2008).

5.4 CONTAGEM DE *Staphylococcus* COAGULASE POSITIVO

Quanto à pesquisa de *Staphylococcus* coagulase positivo, verificou-se que todas as amostras (marcas A, B e C) não apresentaram contagem desse micro-organismo em ambas as temperaturas de estocagem e lotes. Hartmann et al. (2010) avaliaram a velocidade de inativação das colônias de *Staphylococcus aureus*, e observaram que as amostras de leite contaminadas com 8,11 Log UFC/mL foi totalmente eliminada após 25 minutos do processo de pasteurização lenta. Ataíde et al. (2008) constatou que as amostras analisadas de leite pasteurizado tipo C embalado não foi detectado a presença de *Staphylococcus* coagulase positivo. É relevante destacar que elevadas contagens desse micro-organismo são indicativos da presença de enterotoxinas estafilocócicas, sendo um risco à saúde do consumidor (CASTRO et al., 2007).

5.5 AVALIAÇÃO DA ACIDEZ TITULÁVEL E pH DAS AMOSTRAS DE LEITE PASTEURIZADO ARMAZENADAS EM DIFERENTES TEMPERATURAS

A evolução do pH das amostras condicionadas sob temperaturas de armazenamento de 5-7°C e 10-12°C no primeiro lote demonstraram que estes encontraram-se entre 6,6 a 6,8 indicando que houve pequenas alterações ao longo do tempo de estocagem (Figura 3)

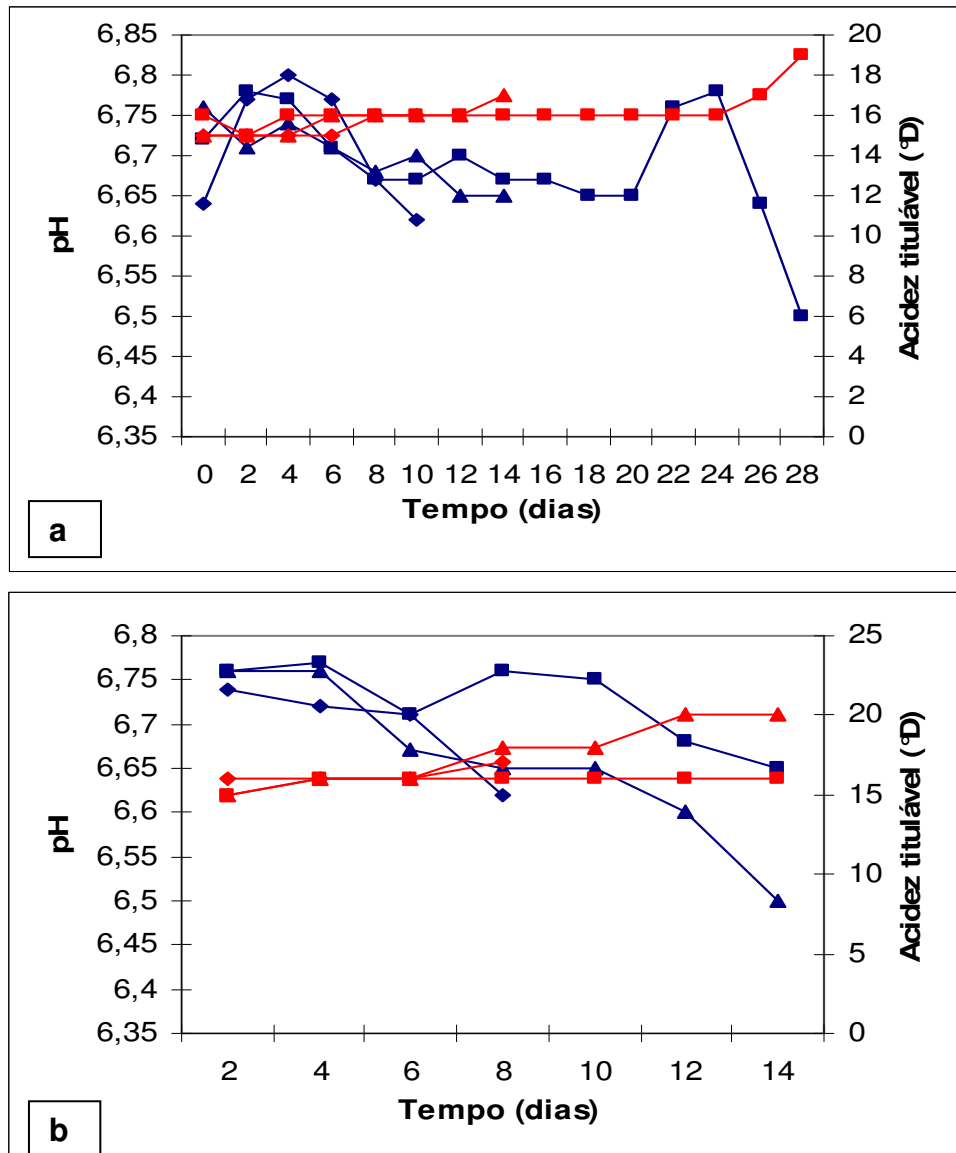


Figura 3 – Evolução do pH e acidez ao longo do período de estocagem de leite pasteurizado das marcas A, B e C condicionadas a temperatura de 5-7°C (a) e 10-12°C (b). A - pH (■), B - pH (▲), C - pH (◆) (pH-Azul) e A - Ac. (■), B - Ac. (▲), C - Ac. (◆) (Acidez-vermelho) no primeiro lote.

Os teores de acidez das amostras no primeiro lote variaram entre 15 a 18°D para ambas temperaturas de condicionamento (Figura 3 a e b).

Por outro lado, as amostras do segundo lote quando estocado a 5-7°C apresentou a mesma variação, embora sob temperaturas elevadas a acidez variou de 15 a 65°D e o pH desenvolveu entre 4,65 a 6,8 (Figura 4 a e b).

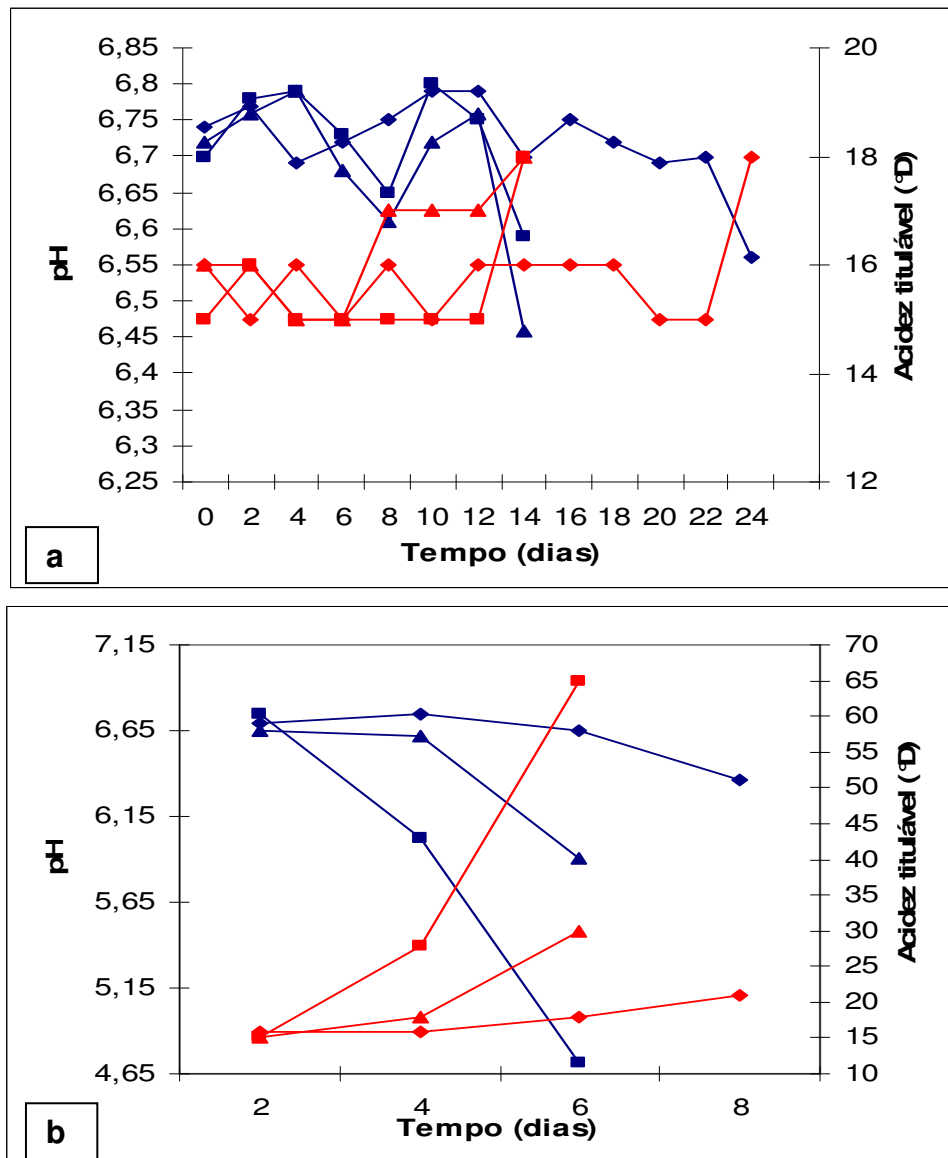


Figura 4 – Evolução do pH e acidez ao longo do período de estocagem de leite pasteurizado das marcas A, B e C armazenadas à temperatura de 5-7°C (a) e 10-12°C (b). A - pH (■), B - pH (▲), C - pH (◆) (pH-Azul) e A - Ac. (■), B - Ac. (▲), C - Ac. (◆) (Acidez-vermelho) no segundo lote.

As amostras estocadas sob temperatura de 10-12° C apresentaram alterações na sua estabilidade físico-químicas no 12° e 14° dia para a amostra B (Figura 3b). No segundo lote as amostras A e B demonstraram alterações no 6° dia de estocagem sob essa mesma temperatura, enquanto a amostra C ocorreu no 8° dia (Figura 4b).

O parâmetro pH é rotineiramente utilizado nos laboratórios das indústrias leiteiras para avaliar e ter-se um controle da qualidade da matéria-prima e do produto acabado, sendo que os valores ideais para as indústrias encontram-se na faixa de pH entre 6,60 e 6,80. Sabe-se que o pH não é tido como um padrão físico-

químico para leite segundo a legislação vigente, no entanto segundo Venturini et al. (2007) o pH do leite recém ordenhado de uma vaca sã pode variar entre 6,4 a 6,8 e também pode ser um indicador da qualidade sanitária e da estabilidade térmica do leite. Nos casos graves de mastite o pH pode chegar a 7,5 e na presença de colostro pode cair a 6,0.

Os resultados obtidos para os valores de pH das amostras das marcas apresentaram-se dentro das faixas de padrão no tempo de vida do produto estabelecido pelas empresas na embalagem, tanto para o lote 1 (Figura 3a) como para o lote 2 (Figura 4a). Contudo as amostras das marcas armazenadas a 10-12° C no primeiro lote (Figura 3b) apresentaram faixas de pH dentro do padrão na vida útil das amostras. Em contrapartida, as amostras conservadas a 10-12° C no segundo lote (Figura 4a e b) apresentaram pH abaixo de 6,60, a partir do 4° dia para a amostra A e no 6° dia para a amostra B, diferente da amostra C, que ficou fora do padrão no 8° dia com um pH de 6,36 para a mesma temperatura. A amostra C apresentava descrito na embalagem validade de 5 dias e as amostras A e B de 7 dias.

A acidez avaliada neste estudo consistiu na avaliação de suas concentrações de ácidos orgânicos em graduação Dornic. De acordo com Giombelli et al. (2011) a temperatura ambiente permite multiplicação das bactérias que continuam acidificando o leite e a acidez determinada no leite pelo método Dornic possibilita quantificar acidez de origem microbiana. As bactérias fermentam a lactose produzindo ácido láctico. Pelo presente trabalho observou-se que as amostras das marcas A, B e C nos seus respectivos prazos de validade condicionadas a 5-7° C no primeiro e segundo lote (Figura 3 e 4) estavam em conformidade com a legislação vigente, que preconiza limite de 0,14 a 0,18 g de ácido láctico/100mL (BRASIL, 2011). Nessa mesma temperatura somente a amostra A ficou fora do padrão no 28° dia (Figura 3a).

5.6 AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE AO ÁLCOOL DAS AMOSTRAS DE LEITE PASTEURIZADO ARMAZENADAS EM DIFERENTES TEMPERATURAS

Os dados obtido da análise de estabilidade ao álcool demonstram que todas as amostras apresentaram estáveis a graduação alcoólica de 72% quando estocadas sob 5-7° C (Tabela 03).

Enquanto no segundo lote as amostras A e B apresentaram instáveis a partir do 14º dia estocados a 5-7°C.

Ao acondicionar as amostras sob temperatura de 10-12°C observou-se que no primeiro lote somente a amostra B perdeu sua estabilidade ao álcool no 8º dia de estocagem. No segundo lote a amostra A e B encontraram instáveis na graduação exigida pela legislação no 4º dia de armazenamento sob a mesma temperatura.

Tabela 3 – Resultados das análises de estabilidade ao álcool 72% v/v de dois lotes de leite pasteurizado padronizado das marcas A, B e C condicionados sob temperatura de 5 a 7°C e 10 a 12°C, comercializados na região de Londrina-Pr.

Tempo (dias)	Primeiro teste: Lote 1						Primeiro teste: Lote 1					
	Amostra A		Amostra B		Amostra C		Amostra A		Amostra B		Amostra C	
	5- 7°C	10- 12°C	5- 7°C	10- 12°C	5- 7°C	10- 12°C	5- 7°C	10- 12°C	5- 7°C	10- 12°C	5- 7°C	10- 12°C
	Álcool		Álcool		Álcool		Álcool		Álcool		Álcool	
0	78		78		78		78		78		78	
2	78	78	78	78	78	78	78	78	78	78	78	78
4	78	78	78	78	78	78	78	72+	78	72 +	78	78
6	78	78	78	78	78	78	78	72 +	78	72 +	78	78
8	78	78	78	72 +	78	78	78		76		78	72
10	78	78	78	72 +	78		78		72		78	
12	78	78	78	72 +			78		76		78	
14	78	78	76	72 +			72 +		72 +		78	
16	78										78	
18	78										78	
20	78										78	
22	78										78	
24	78										72 +	
26	74											
28	72 +											

O teste do alizarol é largamente utilizado pelas indústrias leiteiras, a qual muitas vezes é substituído pelo álcool, a legislação brasileira determina uma concentração mínima de 72% v/v (BRASIL, 2011).

Das amostras analisadas, todas as marcas das amostras apresentaram estabilidade ao álcool dentro dos limites estabelecidos pela legislação no início deste estudo.

A marca A extrapolou os limites legais de estabilidade ao álcool somente no último dia de análise (28º dia) no primeiro lote (tabela 3) de armazenamento quando condicionadas a temperaturas de 5-7°C. Já as amostras A e B no 14º dia e a amostra da marca C no 24º dia no segundo lote (tabela 3) apresentaram fora do padrão sob a mesma temperatura.

Ao avaliar a estabilidade do álcool de 72% v/v das amostras condicionadas a 10-12°C, as amostras das marcas B a partir do 8º dia no primeiro

lote e A e B a partir 4º dia do segundo lote (tabela 3) apresentaram instabilidade ao álcool 72°GL, portanto ficando fora dos padrões exigidos pela legislação.

O teste do álcool apesar de ser um parâmetro exigido pela legislação brasileira, há autores que são contrários a essa avaliação. Marques et al. (2007) avaliaram que o leite LINA (leite instável não ácido) sofre alterações nas propriedades físico-químicas do leite, entre essas a principal é a perda da estabilidade da caseína frente à prova do álcool, resultando em precipitação sem, entretanto, o leite estar ácido.

Outras causas que podem promover instabilidade a caseína podem ser hidrólise enzimática da caseína, tratamento térmico, excesso de íons cálcio, altas contagens de células somáticas e adição de etanol (O'CONNELL et al., 2006 *Apud* SILVA, 2012, p. 55-60.).

Silva et al. (2012), avaliaram 85 amostras de leite cru no município de Sapopema-Pr, das quais 53 encontraram-se instáveis ao alizarol 72% (v/v) apesar de 16 (30,19%) delas apresentarem acidez acima de 18° Dornic. As demais amostras apresentaram acidez Dornic entre 14 e 18°D. Entretanto para o atual trabalho as amostras que apresentaram acidez 18°D e instável ao álcool 72% (v/v) não se enquadram no leite LINA, pois essas amostras estavam com contagem de mesófilos, ou psicrotóxicos e/ou coliformes acima do padrão exigido pela legislação e isto pode ter causado a instabilidade ao álcool 72 °GL. Para o mesmo autor o principal fator que pode promover a instabilidade da caseína é a fermentação da lactose por microrganismos incorporados ao leite durante a etapa produtiva.

5.7 ENZIMAS FOSFATASE E PEROXIDASE

Em relação aos testes realizados para averiguar a presença das enzimas fosfatase e peroxidase nas amostras de leite pasteurizado das marcas A, B e C, demonstrou-se, para todas as amostras, a enzima peroxidase estava ativa e a enzima fosfatase alcalina estava inativada, resultado semelhante foi encontrado por Tamanini et al. (2007) ao analisaram 80 amostras de leite pasteurizado tipo C da região norte do Paraná. Timm et al. (2003) e Ferreira et al. (2006), observaram, respectivamente, que 88 e 30 amostras de leite pasteurizado integral apresentaram-

se em acordo com a legislação vigente para a pesquisa das enzimas peroxidase e fosfatase, indicando que houve pasteurização adequada para o produto.

6 CONCLUSÃO

Após análise dos dados obtidos durante o estudo, verificou-se que os lotes das marcas apresentaram uma qualidade microbiológica diferente. Deste modo, observou-se que a qualidade inicial da matéria prima influenciou na estabilidade microbiana do produto. A temperatura de estocagem elevada do leite agravou o tempo estimado para a vida útil do leite pasteurizado, uma vez que, as amostras estocadas a temperatura de 5-7°C apresentaram uma vida útil maior comparada com as amostras que foram armazenadas a 10-12°C. Ocorreram alterações tanto microbiológicas quanto físico-químicas para todas as marcas analisadas nos dois lotes. Sobretudo, neste trabalho, observou-se a necessidade de maior controle da qualidade da matéria prima, processamento, limpeza de equipamentos e controle da temperatura na distribuição e no armazenamento do produto no comércio em geral.

REFERÊNCIAS

ANDREATTA, E.; ROSA, J.P.; SANTOS, A.L. **Avaliação de três marcas de leite pasteurizado tipo B comercializados no município de Campinas, SP.** Revista Higiene Alimentar, São Paulo, SP – vol.26 – nº 206/207 –março/abril, 2012.

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Laboratório Nacional de Referência Animal – LANARA. **Métodos Analíticos para Controle de Produtos Origem Animal e seus Ingredientes – Métodos Físico-químicos.** Diário Oficial da União, Brasília, 1998, p. XIV1 – 22.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA DE LEITE LONGA VIDA – ABLV. Disponível em: http://www.ital.sp.gov.br/tecnolat/arquivos/palestras_tecnolactea/ablv.pdf. Acesso em: 20 de Set de 2011.

ATAIDE, Walécia Souza de et al. **Avaliação microbiológica e físico-química durante o processamento do leite pasteurizado.** Rev. Inst. Adolfo Lutz (Impr.), São Paulo, v. 67, n. 1, abr. 2008. Disponível em <http://periodicos.ses.sp.bvs.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0073-98552008000100010&lng=pt&nrm=iso>. acessos em 05 mar. 2013.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº. 62, de 26 de agosto de 2003. **Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água.** Disponível em: <<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=2851>>. Acesso em: 15 de out. de 2011.

_____. Instrução Normativa 51, 18 set 2002, Revoga Portaria n. 146, 7mar. 1996. **Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade de Produtos Lácteos.** Diário Oficial da União, Brasília, 20 set. 2002.

_____. Ministério da Saúde. Regulamentos Técnicos. **Princípios Gerais para Estabelecimento de Critérios e Padrões Microbiológicos para alimentos.** Diário Oficial da União, 22 set. 1997. Seção 1, p. 21005-210112.

CASTRO, V. de S.; NASCIMENTO, V. L. V. do; OLIVEIRA, D. S. V. de; SOARES, M. J. dos S.; SILVA, M. de J. M. da. **Pesquisa de Coliformes e *Staphylococcus coagulase positivo* em queijo minhas frescal comercializado em teresina – PI.** II Congresso de Pesquisa e Inovação da Rede Norte Nordeste de Educação Tecnológica, João Pessoa, 2007.

CATÃO, R.M.R.; CEBALLOS, B.S.O. **Listeria spp., Coliformes totais e Fecais e *E.coli* no leite cru e pasteurizado de uma indústria de laticínios no estado da Paraíba – PB.** Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas, SP, 21(3):281-287, set-dez.2001. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/%0D/cta/v21n3/8544.pdf>. Acesso em: 24 de mar. de 2013.

CECY, M.N.; GIGANTE, M.L. **Efeito da temperatura de armazenamento sobre a vida de prateleira do leite pasteurizado.** Faculdade de Engenharia de Alimentos - FEA, Unicamp, São Paulo, 2007.

GIOMBELLI, C. J.; TAMANINI, R.; BATAGLINI, A. P. P.; MAGNANI, D. F.; ÂNGELA, H. L. de; BELOTI V. Avaliação da qualidade microbiológica, físico-química e dos parâmetros enzimáticos de leite pasteurizado e leite tipo B, produzidos no Paraná. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 32, n. 4, p. 1539-1546, out./dez. 2011.

HARTMAN, W.; ANDRADE, U. V. C. de; CORADIN, M. A. **Estimativa da redução da contagem de Staphylococcus aureus através de tratamento térmico em amostras de leite experimentalmente contaminadas.** Tuiuti: Ciência e Cultura, n. 43, p. 73-83, Curitiba, 2010.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos.** 4ª ed. p.104, 848-850, Brasília – DF, 2005.

LORENZETTI, D.K. **Influência do tempo e da temperatura no desenvolvimento de micro-organismos psicotróficos no leite cru de dois estados da região sul.** Curitiba, PR, 2006.

MARQUES, L.; ZANELA, M. B.; RIBEIRO, M. E.; STUMPF JÚNIOR, W.; FISCHER, V. **Ocorrência do leite instável ao álcool 76% e não ácido (LINA) e efeito sobre os aspectos físico-químicos do leite.** R. Bras. Agrociência, Pelotas, v.13, n.1, p.91-97, jan-mar, 2007.

MARTINS, J.N.; SANTOS, D. C.; OLIVEIRA, E.N.A.; ALBUQUERQUE, E.M.B. **Qualidade microbiológica de leites pasteurizados comercializados na cidade de Morada Nova, Ceará.** Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável, Ceará, CE – vol.7, n.3 – 2012. Disponível em: www.gvaa.com.br. Acesso em: 10 de jan. de 2013.

MIGUEL, Julianna Zilocchi; MAGALHÃES, Marcelo Correia de; GERON, Luiz Juliano Valério; BOTINI Tatiani; SAENZ, Edgar Collao; CRUZ, Cristiano. **Caracterização físico-químico de leite obtido de diferentes tipos de comercialização em Pontes e Lacerdas - MT.** Revista de Ciências Agro-Ambientais, Alta Floresta, v.8, n.1, p.103- 111, 2010.

PINTO, C.L.O.; MARTINS, M.L.; VANETTI, M.C.D. **Qualidade microbiológica de leite cru refrigerado e isolamento de bactérias psicotróficas proteolíticas.** Ciências de Tecnologia em Alimentos, Campinas – São Paulo, 26(3):645-651, jul-set.2006

PONCHIO, Leandro A; GOMES, Alexandre L; PAZ, Erica da. **Perspectiva de consumo de leite no Brasil.** Publicado em Julho de 2005. Disponível em: http://www.cepea.esalq.usp.br/pdf/artigo_leite_04.pdf. Acesso em: 26 de Set de 2011.

REVISTA FOOD INGREDIENTS BRASIL. **Shelf life**. Food Ingredients Brasil. www.revista-fi.com, n° 18, p. 67-73, 2011. Disponível em: <http://www.revista-fi.com/materias/188.pdf>. Acesso em: 25 de Set de 2011.

SANTANA, Elsa Helena Walter de; BELOTI, Vanerli; BARROS, Márcia de Aguiar Ferreira; MORAES, Luciane Bilia de; GUSMÃO, Viviane Vieira; PEREIRA, Mykel Stefanni. **Contaminação do leite em diferentes pontos do processo de produção: I. Microrganismos aeróbios mesófilos e psicrotróficos**. **Semina: Ci. Agrárias**, Londrina, v. 22, n.2, p. 145-154, jul./dez. 2001.

SANTOS, P. A.; SILVA, M.A.P.S.; SOUZA, C.M.; ISPON, J.S.; OLIVEIRA, A.N.; NICOLAU, E. S. **Efeito do tempo e da temperatura de refrigeração no desenvolvimento de micro-organismos psicrotróficos em leite cru refrigerado coletado na macroregião de Goiânia,GO**. *Revista Ciência Animal Brasileira*. Goiânia, GO, v.10, n.4, 2009.

SANVIDO, G. B. **Efeito do tempo de armazenamento do leite cru e da temperatura de estocagem do leite pasteurizado sobre sua vida de prateleira**. Faculdade de Engenharia de Alimentos – FEA. Campinas São Paulo, 2007.

SILVA, L. C. C. da; BELOTI, V. TAMANINI, R.; YAMADA, A. K.; GIOMBELLI, C. J.; SILVA, M. R. **Estabilidade térmica da caseína e estabilidade ao álcool 68, 72, 75 e 78%, em leite bovino**. *Rev. Inst. Latic. “Cândido Tostes”*, Jan/Fev, n° 384, 67: 55-60, 2012

SILVA, M. C. D da; SILVA, Juliana V. L. da; RAMOS, Alécio C. S.; MELO, Rossana de O.; OLIVEIRA, Juliana Omena. **Caracterização microbiológico e físico-química de leite pasteurizado destinado ao programa do leite no Estado de Alagoas**. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, v.28 (1): p.226-230, Jan-Mar, 2008.

SILVA, N.; *et al.* **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. 3ªed. Livraria Varela Ltda, São Paulo, 2007, n.536 p- 87,89,138.

SOUTIER, F., WILCIESKI, G.A. **Avaliação do desempenho das gôndolas abertas e fechadas no acondicionamento do leite pasteurizado tipo C**. Centro Federal de Educação Tecnológica do Paraná – CEFET/PR. Medianeira – PR, 2002.

TAMANINI, Ronaldo; SILVA, Livia Cavaletti C. da; MONTEIRO, Alexandre, Amorim; MAGNANI, Douglas Furtado; BARROS, Márcio de Aguiar F.; BELOTI, Vanerli. **Avaliação da qualidade microbiológica e dos parâmetros enzimáticos da pasteurização de leite tipo “C” produzido na região norte do Paraná**. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v.28, n. 3, p. 449-454, jul./set. 2007.

TIMM, Cláudio Dias; GONZALES, Helenice de Lima; OLIVEIRA, Daniele dos Santos de; BUCHLE, Juliano; ALEXIS, Milene Andrade; COELHO, Francisco José Otto; PORTO, Cintia Rosa. **Avaliação da qualidade microbiológica do leite pasteurizado integral produzido em microusinas da região sul do Rio Grande do Sul**. *Revista Higiene Alimentar*, São Paulo, v. 17, n. 106, p. 100-104, 2003.

TRONCO, V.M. **Manual para Inspeção da Qualidade do Leite**. 3 ed. Santa Maria-RS: Ed da UFSM, 2008. P. 59-61.

VENTURINI, K. S.; SARCINELLI, M. F.; SILVA, L. C. **Características do Leite**. Universidade Federal do Espírito Santo – UFES – Espírito Santo, 2007.

ZOCHE, F.; BERSOT, L. S.; BARCELLOS, V. C.; PARANHOS, J.K.; ROSA, S. T.M.; RAYMUNDO, N. K. Microbiological and physicalchemistry quality of pasteurized milks produced in the west region, Paraná. **Archives of Veterinary Science**, v. 7, n. 2, p. 59-67, 2002.