

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
COORDENAÇÃO DE ALIMENTOS
TECNOLOGIA DE ALIMENTOS**

**ANDRESSA MARIA DE SOUZA DERBIS
PRISCILA ARCOVERDE WOSIACK**

**AVALIAÇÃO DA QUALIDADE FÍSICO-QUÍMICA E
MICROBIOLÓGICA DO LEITE PASTEURIZADO SUBMETIDO À
CONDIÇÕES DE TRANSPORTE E ARMAZENAMENTO**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

PONTA GROSSA

2011

**ANDRESSA MARIA DE SOUZA DERBIS
PRISCILA ARCOVERDE WOSIACK**

**AVALIAÇÃO DA QUALIDADE FÍSICO-QUÍMICA E
MICROBIOLÓGICA DO LEITE PASTEURIZADO SUBMETIDO À
CONDIÇÕES DE TRANSPORTE E ARMAZENAMENTO**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentada como requisito parcial à
obtenção do título de Tecnólogo, da
coordenação de Alimentos, da
Universidade Tecnológica Federal
do Paraná.

Orientador: Prof. Dr. Julio Cesar
Stiirmer

PONTA GROSSA

2011



Ministério da Educação
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Campus Ponta Grossa

Diretoria de Graduação e Educação Profissional



TERMO DE APROVAÇÃO

AVALIAÇÃO DA QUALIDADE FÍSICO-QUÍMICA E MICROBIOLÓGICA DO LEITE PASTEURIZADO SUBMETIDO À CONDIÇÕES DE TRANSPORTE E ARMAZENAMENTO

por

ANDRESSA MARIA DE SOUZA DERBIS
PRISCILA ARCOVERDE WOSIACK

Este Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) foi apresentado em de Novembro de 2011 como requisito parcial para a obtenção do título de Tecnólogo em Alimentos em Tecnologia em Alimentos. O(s) candidato(s) foi arguido pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho aprovado.

Prof. Dr. Júlio César Stiimer

Professor Orientador

Luciano Fernandes

Membro da Banca

Maria Regina Parise

Membro da Banca

Andressa Maria de Souza Derbis
Priscila Arcoverde Wosiack

Responsáveis pelo Trabalho de
Conclusão de Curso

Prof. Dr. Sabrina Ávila Rodrigues

Coordenadora do Curso Superior Tecnologia
em Alimentos

**Dedicamos este trabalho a nossos
familiares, orientador, amigos e a
todos que contribuíram durante
esta pesquisa.**

AGRADECIMENTOS

Á Deus...

Agradecemos aos nossos familiares pelo apoio, incentivo e preocupação.

Agradecemos à empresa Lactobom, por ceder o espaço para pesquisa, arcar com os custos das análises e auxiliar a realização de um trabalho de pesquisa.

Ao Coordenador de Processo da empresa Lactobom, Julio César Barczsz pelo auxílio e por todo o conhecimento técnico repassado, o qual foi de grande importância para iniciar e concluir este trabalho.

Ao Professor Júlio César Stiimer por aceitar o convite de ser orientador, e pela orientação durante o processo.

“Seu trabalho vai preencher boa parte de sua vida, e a única maneira de estar realmente satisfeito com isso é fazer o que você acredita ser um ótimo trabalho, e a única maneira de realizar um ótimo trabalho é amando o que você faz. Se você não encontrou isso ainda, continue procurando e não se acomode! Como em todas as questões do coração, você saberá quando encontrá-lo, e como em qualquer ótima relação, só tende a melhorar com o passar dos anos. Então continue procurando, não desista!”

Steve Jobs (2005).

RESUMO

DERBIS, Andressa Maria De Souza; WOSIACK, Priscila Arcoverde. **Avaliação da Qualidade Físico-Química e Microbiológica do Leite Pasteurizado Submetido à Condições de Transporte e Armazenamento**. 2011. 54 p. Trabalho de Conclusão do Curso Tecnologia em Alimentos – Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Ponta Grossa, 2011;

O leite é um dos mais completos alimentos presentes na dieta, de grande importância nutricional e de caráter funcional. O leite é rico em nutrientes, o que possibilita a rápida multiplicação de microrganismos. Desta maneira, para garantir sua qualidade, o leite cru deve passar por processos de conservação, um dos quais é conhecido como pasteurização. A pasteurização elimina os microrganismos patogênicos e garante uma maior vida útil para o leite. Após a pasteurização o leite deve ser armazenado em condições próprias, de modo a assegurar sua boa qualidade. Neste trabalho realizaram-se testes com amostras de leite pasteurizado, as quais foram submetidas a diferentes condições de armazenamento, um grupo foi armazenado no veículo utilizado para o transporte do leite, e o outro grupo ficou acondicionado na geladeira do laboratório da empresa. Foram realizadas análises das características físico-químicas e microbiológicas do leite pasteurizado inicial e todas as amostras durante dez dias de testes. Os resultados foram comparados com a legislação vigente do leite pasteurizado padronizado, de maneira a verificar a qualidade do produto após o período de teste. Os resultados indicaram que após os dez dias as amostras acondicionadas no refrigerador bem como as amostras mantidas no veículo de transporte mantiveram a qualidade físico-química e microbiológica descrita pela legislação vigente, apesar das condições de transporte estarem inadequadas. Ainda foi possível analisar a qualidade sensorial das amostras, e notou-se diferença no sabor das amostras armazenadas no veículo após oito dias de armazenamento. Já as amostras acondicionadas no refrigerador não demonstraram alterações sensoriais. A temperatura do veículo de transporte estava superior ao intervalo determinado pela legislação, o que refletiu em um aumento da acidez e na contagem de bactérias mesófilas das amostras que estavam no caminhão. A maioria das análises após o fim dos testes apresentaram características dentro dos requisitos legais, o que se justifica pela boa qualidade da amostra inicial submetida aos testes.

Palavras-chave: leite, pasteurização, qualidade físico-química, qualidade microbiológica, armazenamento.

ABSTRACT

DERBIS, Andressa Maria De Souza; WOSIACK, Priscila Arcoverde. **Evaluation of the Physicochemical and Microbiological Quality of Pasteurized Milk Subjected to Carriage and Storage Conditions**. 2011. 54 p. Trabalho de Conclusão do Curso Tecnologia em Alimentos – Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Ponta Grossa, 2011;

Milk is one of the most complete foods in the human diet, having a great nutritional importance and functional character. Milk is rich in nutrients, which enable the rapid multiplication of microorganisms. Thus the raw milk goes through conservation processes, one of which is the pasteurization. Pasteurization eliminates pathogens and ensures a longer shelf-life for the milk. After pasteurization milk should be stored in proper condition, so the quality can be guaranteed. In this work a test was performed with samples of pasteurized milk, which were subjected to different storage conditions, one group was stored in the vehicle used to transport the milk, and the other group was put in the refrigerator of the company's laboratory. Analysis of the physicochemical and microbiological characteristics of the initial and all pasteurized milk samples were performed throughout the ten days of testing. The results were compared with the current legislation of pasteurized standard in order to verify the quality of the milk after the trial period. The results indicate that after the ten days milk maintained good physicochemical and microbiological characteristics, but failed in sensory analysis after eight days of storage, although the conditions of carriage were inadequate. The temperature during transport was higher than the range determined by the legislation, which was reflected in an increase in acidity and mesophilic bacteria in the samples that were in the truck. Most of the analysis after the end of the tests showed characteristics within the legal requirements, which is justified by the good quality of the initial sample tested.

Keywords: milk, pasteurization, physicochemical, microbiological quality, storage.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Precursores para síntese do leite.....	17
Figura 2 - Fluxograma do beneficiamento de leite pasteurizado.	24
Figura 3 - Pasteurizador de Placas.	25
Figura 4 - Placas CompactDry respectivamente para contagem total de bactérias mesófilas e coliformes totais e <i>E. coli</i>	34
Figura 5 - Caracterização do leite de acordo com a sua estabilidade	43
Gráfico 1 - Comparação contagem de bactérias mesófilas de acordo com o local de armazenamento	44

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Composição do leite de vaca	18
Tabela 2 - Especificações Leite Pasteurizado Padrozinado.....	26
Tabela 3 - Características da amostra inicial.....	39
Tabela 4 - Características das amostras submetidas a transporte.....	41
Tabela 5 - Características das amostras armazenadas na geladeira.....	41
Tabela 6 - Análise Completa	47

LISTA DE ABREVIATURAS

°C	Graus Celsius
°D	Graus Dornic
°H	Graus Hortvet
CBT	Contagem Bacteriana Total
CCS	Contagem de Células Somáticas
CT	Coliformes Totais
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
NMP	Número Mais Provável
UFC	Unidade Formadora de Colônia

LISTA DE SIGLAS

EMBRAPA Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 LEITE.....	15
2.1 SÍNTESE DO LEITE	15
2.2 COMPOSIÇÃO DO LEITE	17
2.3 IMPORTÂNCIA NUTRICIONAL	19
3 MÉTODOS DE CONSERVAÇÃO DO LEITE	22
3.1 LEITE PASTEURIZADO	23
3.1.1 Características do leite pasteurizado	25
4 QUALIDADE DO LEITE PASTEURIZADO	27
4.1 QUALIDADE FÍSICO-QUÍMICA DO LEITE.....	27
4.2 QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DO LEITE	29
5 MATERIAIS E MÉTODOS.....	32
5.1 MATERIAIS.....	32
5.2 MÉTODOS.....	32
5.3 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS	33
5.3.1 Contagem total de bactérias aeróbias mesófilas	33
5.3.2 Contagem de Coliformes totais e <i>E. coli</i>	34
5.4 MÉTODOS FÍSICO-QUÍMICOS.....	35
5.4.1 Índice Crioscópico.....	35
5.4.2 Pesquisa de Peroxidase	35
5.4.3 Pesquisa de Fosfatase Alcalina	35
5.4.4 Teor de Lipídeos (Gordura).....	36
5.4.5 Porcentagem de extrato seco total	36
5.4.5.1 Extrato seco total	36
5.4.5.2 Extrato seco desengordurado:	37
5.4.6 Densidade relativa a 15°C	37
5.4.7 Teste do alizarol.....	37
5.4.8 Acidez titulável	38
6 RESULTADOS E DISCUSSÃO	39
6.1 ANÁLISES DA AMOSTRA INICIAL	39
6.2 ANÁLISE DAS AMOSTRAS SUBMETIDAS A DEZ DIAS DE ARMAZENAMENTO	40
6.2.1 Temperatura	41
6.2.2 Acidez	42
6.2.3 Estabilidade	43
6.2.4 Mesófilos.....	44
6.2.5 Coliformes.....	45
6.2.6 Sensorial.....	46

6.3 COMPARAÇÃO DA AMOSTRA INICIAL COM AS AMOSTRA APÓS OS DEZ DIAS DE ARMAZENAMENTO	47
7 CONCLUSÃO	50
REFERÊNCIAS	51
APÊNDICE A - Carta de Autorização e Desenvolvimento de Pesquisa.....	55

1 INTRODUÇÃO

Entende-se por leite de vaca, o produto oriundo da ordenha completa e ininterrupta, em condições de higiene, de vacas sadias, bem alimentadas e descansadas (BRASIL, 2002).

De acordo com Garcia *et al.* (2000), o leite de vaca é um alimento utilizado na dieta humana em todas as faixas etárias, principalmente por ser um dos produtos mais completos do ponto de vista nutricional.

Os avanços nas técnicas relacionadas às etapas de produção, processamento e distribuição de leite têm favorecido o consumo do leite, particularmente o de origem bovina. Entretanto, essas etapas induzem a alterações bioquímicas, físico-químicas, microbiológicas, nutricionais, sensoriais e reológicas que podem acarretar no comprometimento da qualidade do produto final (SILVA, 1997).

A obtenção higiênica do leite e, posteriormente, manipulação, resfriamento e transporte eficientes são fatores essenciais na manutenção da boa qualidade microbiológica e nutricional do leite (SOUZA *et al.* 1995).

A qualidade do leite pode ser avaliada por meio de testes que determinam as características higiênicas e físico-químicas, como as análises de acidez, contagem de células somáticas (CCS), contagem bacteriana total (CBT), gordura, proteínas, lactose, sólidos totais e extrato seco desengordurado e a contagem de bactérias totais e de coliformes totais. (PASSOS, 2004).

Segundo Alves *et al.* (2008), ao sair do úbere de uma vaca sadia, o leite é praticamente isento de microrganismos, mas sua contaminação pode ocorrer durante a ordenha, após sua obtenção, ou ao entrar em contato com utensílios e equipamentos contaminados pela microflora do ambiente. Assim, é preciso submeter o leite a processos que garantam sua segurança para o consumo. Destes processos, os mais comumente aplicados ao leite de consumo são: a pasteurização, a ultrapasteurização e a esterilização.

O emprego de altas temperaturas na segurança ou conservação do leite está fundamentado nos efeitos deletérios do calor sobre os microorganismos. O controle do crescimento microbiano visa eliminar riscos à saúde do

consumidor, e prevenir ou retardar as alterações indesejáveis no leite, aumentando seu prazo de validade (LEITE, 2007).

O leite pasteurizado é produzido pela indústria a partir do leite cru, recolhido e refrigerado na propriedade rural (AZEVEDO *et al.*, 2008). Por meio do processo de pasteurização, o leite cru é submetido a altas temperaturas, em seguida resfriado e então envasado em embalagem asséptica. Esse processo elimina todos os microrganismos que por ventura poderiam contaminar ou deteriorar o leite (ALVES, 2001).

A pasteurização é um processo térmico que tem por objetivo destruir todos os microrganismos patogênicos (transmissores de doenças) e a maioria dos outros microrganismos existentes no leite, alterando o mínimo possível a sua composição. O leite pasteurizado deve ser armazenado e transportado a baixas temperaturas para manter sua qualidade (OLIVEIRA, 2011).

Objetivou-se com este trabalho avaliar a qualidade, tanto físico-química quanto microbiológica, de amostras de leite pasteurizado submetidas à condições de transporte e de armazenamento em temperatura de refrigeração, assim, avaliando também a vida útil do leite e suas propriedades organolépticas, de forma a comparar os dados obtidos as características recomendadas pela legislação vigente.

2 LEITE

Desde o nascimento do ser humano, o leite apresenta-se quase indissociável de sua alimentação (SILVA, 1997). É um alimento utilizado na dieta humana em todas as faixas etárias, principalmente por ser um dos produtos mais completos do ponto de vista nutricional (GARCIA *et al.* 2000).

Segundo os dados mais recentes publicados pela EMBRAPA (2011) do ano de 2007, a produção mundial de leite de vaca foi de 560,5 bilhões de toneladas em 2007, sendo 66% desse volume produzido na Europa e na América. O aumento da produção tem registrado crescimento maior nos países em desenvolvimento. O Brasil é o sexto produtor, com aproximadamente 26,1 bilhões de litros. A produção brasileira aumentou 40% em dez anos, passando de 18,7 bilhões de litros em 1997 para 26,1 bilhões em 2007.

Conforme as recomendações do Ministério da Saúde, o consumo de leite, na forma fluida ou de derivados lácteos, varia de acordo com a idade das pessoas. A recomendação para crianças de até dez anos é de 400 mL/dia. Para os jovens de 11 a 19 anos, o consumo é maior, de 700 mL/dia e para os adultos acima de 20 anos a recomendação é de 600 mL/dia, inclusive para os idosos, porém o consumo para esse grupo de pessoas deve ser principalmente desnatado (ZOCCAL, 2005).

Atualmente nota-se uma mudança nos hábitos de consumo de leite e derivados. Observa-se uma tendência de aumento do consumo deste produto no tipo longa vida. Também é crescente a procura do consumidor em relação aos aspectos nutricionais, de saúde e qualidade dos alimentos que compra (EMBRAPA, 2011).

2.1 SÍNTESE DO LEITE

O leite é sintetizado a partir de nutrientes fornecidos para as células secretoras da glândula mamária pelo sangue (NORO, 2001). A síntese do leite acontece nos alvéolos, onde as células secretam o leite e a glândula mamária recebe de modo contínuo os nutrientes. O úbere é a glândula mamária das vacas, sendo o local em que o leite é produzido. Essas glândulas são

compostas por um grande número de células responsáveis pela secreção do leite e de suma importância para perpetuação das espécies, para nutrir e proteger o recém nascido com o leite (VENTURINI, SARCINELLI, SILVA, 2007).

A secreção do leite é feita pelas células epiteliais que revestem os alvéolos mamários, estas células sintetizam e secretam as proteínas e a gordura do leite. A qualidade do leite produzido pelo animal está altamente relacionado a saúde e ao estado nutricional do animal, através da absorção dos nutrientes provenientes dos alimentos ingeridos diretamente da dieta, estes sofrerem modificações nos tecidos dos animais antes de alcançar a glândula mamária (NORO, 2001).

O processamento inicia-se na boca, pela mastigação e pelas enzimas. O material mastigado passa ao rúmen, onde é misturado a um líquido que contém vários tipos de microrganismos, sobressaindo aqui os responsáveis pela fermentação do alimento ingerido. Os produtos resultantes do metabolismo fermentativo, representados na Figura 1, tais como aminoácidos, carboidratos e gorduras, são absorvidos no trato gastrointestinal. Após serem absorvidos, esses são transportados pela corrente sangüínea até a glândula mamária, onde servem de base à síntese do leite (VENTURINI, SARCINELLI, SILVA, 2007).

Para que se produza um litro de leite, é necessária a passagem de 300 a 500 litros de sangue pelo úbere.

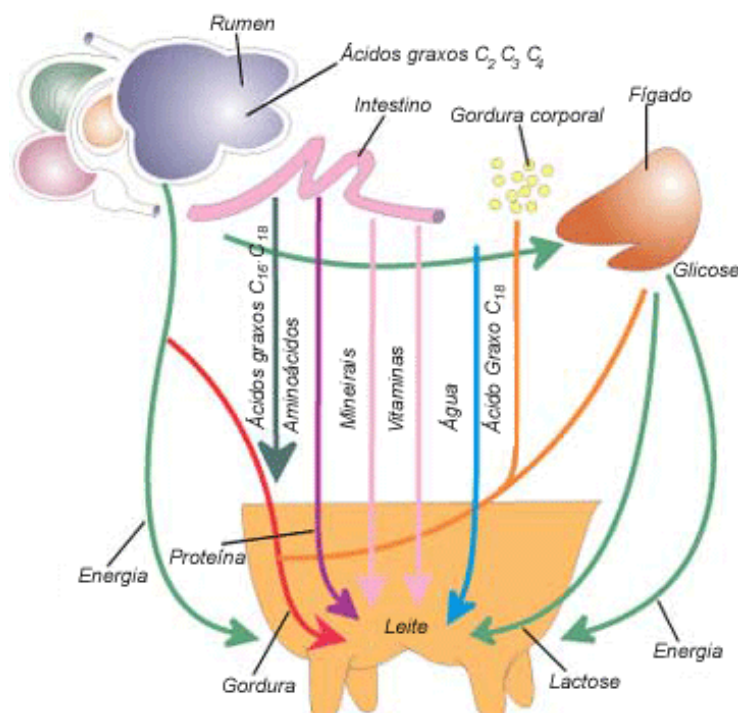


Figura 1 - Precursores para síntese do leite. Fonte: Delaval (2011)

2.2 COMPOSIÇÃO DO LEITE

O leite possui um alto valor nutritivo, constituindo-se em um alimento complexo que contém água, carboidratos, gorduras, proteínas, minerais e vitaminas em diferentes estados de dispersão (BRITO, 2001)

Sua composição é determinante para o estabelecimento da qualidade nutricional e adequação para processamento e consumo humano. Estima-se que o leite possua em torno de cem mil constituintes distintos, embora a maioria deles não tenha ainda sido identificada (SILVA, 1997). A composição varia entre diferentes raças, e também durante a lactação de vacas de mesma raça (PEREIRA, 2001).

Diversos fatores influenciam a composição do leite bovino, sendo os principais: temperatura ambiente, doenças do animal, estágio de lactação, número de parições, raça, alimentação e teor energético da alimentação (PEREIRA, 2001). Entretanto é possível estabelecer sua composição aproximada, conforme representada na Tabela 1.

Tabela 1 - Composição do leite de vaca

Constituinte	Teor (g/kg)
Água	873
Lactose	46
Gordura	39
Proteínas	32,5
Substâncias minerais	6,5
Ácidos orgânicos	1,8
Outros	1,4

Fonte: SILVA, 1997

A água é o constituinte quantitativamente mais importante, no qual estão dissolvidos, dispersos ou emulsionados os demais componentes. A maior parte encontra-se como água livre, embora haja água ligada a outros componentes, como proteínas, lactose e substâncias minerais (SILVA, 1997).

Os principais constituintes do leite, com exceção da água, agrupam-se como extrato seco total. Desconsiderada a gordura, denomina-se extrato seco desengordurado (PEREIRA, 2001).

O principal carboidrato do leite é a lactose, formado a partir da glicose e galactose. É a principal fonte de energia dos recém-nascidos, sendo responsável pelo seu sabor adocicado. A lactose compreende aproximadamente 52% dos sólidos totais do leite desnatado e 70% dos sólidos encontrados no soro do leite. A lactose é o substrato para fermentações, sendo aproveitada na indústria de laticínios para obtenção de diversos produtos derivados do leite como iogurte, queijos, requeijões, dentre outros (BRITO *et. al*, 2005).

A gordura do leite está presente na forma de pequenos glóbulos envolvidos por uma membrana lipoproteica (BRITO *et. al*, 2005; PEREIRA, 2001). A maior parte da gordura presente no leite é constituída de triglicerídeos, que são formados por ácidos graxos, dos quais, os principais são o ácido palmítico e o ácido oleico. A gordura é o constituinte que mais sofre variações, geralmente entre 3,5 e 5,3%, em razão de diferenças entre raças,

estágio da lactação e de acordo com a alimentação dos animais (BRITO *et. al*, 2005).

A fração de gordura do leite serve de veículo para as vitaminas lipossolúveis (A, D, E, K), colesterol e outras substâncias solúveis em gordura. A concentração das vitaminas lipossolúveis depende da alimentação do gado, exceto a da vitamina K, a qual é sintetizada no sistema digestivo dos ruminantes, como as vitaminas hidrossolúveis (PEREIRA, 2001; SILVA, 1997).

O leite bovino contém vários compostos nitrogenados, dos quais aproximadamente 95% ocorrem como proteínas e 5% como compostos nitrogenados não-proteicos (SILVA, 1997). Um dos componentes mais nobres do leite - a proteína - é de reconhecido valor nutricional tanto pelo alto teor de aminoácidos essenciais quanto pela sua alta digestibilidade. Numerosas enzimas podem ser encontradas no leite, como lipases, proteinases, óxido-redutases, fosfatases, catalase e peroxidase (PEREIRA, 2001).

O leite contém teores consideráveis de cloro, fósforo, potássio, sódio, cálcio e magnésio e baixos teores de ferro, alumínio, bromo, zinco e manganês, formando sais orgânicos e inorgânicos (SILVA, 1997). A associação entre os sais e as proteínas do leite é um fator determinante para a estabilidade das proteínas (BRITO *et. al*, 2005).

2.3 IMPORTÂNCIA NUTRICIONAL

O leite é rico em uma grande quantidade de nutrientes que podem ser essenciais ao crescimento e a manutenção de uma vida saudável (VILELA, 2000). Uma série de estudos envolvendo laticínios constata que o leite tem eficácia preventiva contra uma série de doenças como obesidade, insônia, raquitismo, hemofilia, artrose e a osteoporose (AUGUSTINHO, 2011).

Segundo Silva (1997) os principais minerais encontrados são cálcio e fósforo. Esses minerais são utilizados em grandes quantidades pelos mamíferos para o desenvolvimento de tecidos.

A alta concentração de cálcio no leite o faz essencial para a formação e manutenção dos ossos (ZOCCAL, 2005). O leite de vaca e seus derivados

(queijos, iogurtes e coalhadas) são responsáveis por 80% do cálcio necessário para uma dieta equilibrada (ALVES *et al.*, 2008).

A lactose é um dos componentes exclusivos do leite, sendo responsável pela melhor absorção do cálcio e fósforo e reduzindo a necessidade de ingestão de vitamina D presente em outros alimentos ou na forma sintética, além de contribuir para a firmeza da musculatura infantil (AUGUSTINHO, 2011).

Segundo Zoccal (2005), as proteínas do leite são completas, propiciando a formação e manutenção dos tecidos. O papel das proteínas na alimentação é importante tanto no crescimento quanto na manutenção do corpo humano, diretamente ligada à estrutura celular. Das 57,5 g/dia de proteína, em média, necessárias para uma pessoa adulta, dois copos de leite de vaca (equivalentes a 500 ml/dia) suprem 30,43% da quantidade recomendada, sem considerar os demais nutrientes fornecidos (AUGUSTINHO, 2011).

O componente lipídico do leite é formado por uma complexa mistura, sendo os triglicerídeos e os lipídeos mais importantes (98%). A gordura do leite é a principal fonte disponível de lipídeos pelo mamífero neonato para acumular reserva adiposa nos primeiros dias de vida. A maioria dos mamíferos nascem com pouca reserva corporal de gordura para proteção térmica e como fonte de energia (AUGUSTINHO, 2011).

Existem, de acordo com a Associação Brasileira da Indústria de Leite Longa Vida (2011), 18 tipos de aminoácidos que podem ser encontrados nas proteínas do leite. Uma importante característica do leite, no que concerne à nutrição é que oito dos aminoácidos não podem ser sintetizados pelo organismo humano.

O leite contém também todas as principais vitaminas. As vitaminas lipossolúveis A, D, E e K são encontradas basicamente na gordura do leite, porém com limitadas quantidades de vitamina K. Das vitaminas hidrossolúveis, aquelas do complexo B são encontradas no leite. Algumas das vitaminas do complexo B possuem papéis essenciais na transformação de energia e na condução de membranas e nervos. São essenciais no metabolismo de moléculas orgânicas e também no metabolismo celular (BRITO. *et al.*, 2005; SILVA, 1997; ZOCCAL, 2005).

Além disso, a indústria de laticínios tem potencializado o valor nutritivo do produto. Existem no mercado uma série de bebidas lácteas enriquecidas com vitaminas, minerais e ômega (tipo essência de gordura que reduz os níveis de colesterol) (VILELA, 2000).

3 MÉTODOS DE CONSERVAÇÃO DO LEITE

Desde que se começou a usar o leite de outros animais na alimentação humana, muitas mudanças ocorreram na forma de conservação e utilização. No início o leite consumido era cru e posteriormente foram surgindo novas formas de conservação (ZOCCAL, 2005).

O leite ordenhado da vaca sadia apresenta um alto grau de qualidade, apresentando isenção de microrganismos patogênicos, entretanto, durante o processo de ordenha, ou em seguida a sua obtenção, quando é colocado em contato com utensílios e equipamentos, o leite pode sofrer contaminação por meio da microflora do ambiente (ALVES *et al.* 2008). Sendo assim, é necessário submeter o leite a um processo que garanta sua segurança para o consumo (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE LEITE LONGA VIDA, 2011). Os produtos atualmente encontrados no mercado são seguros e variados, resultado do desenvolvimento de métodos sofisticados de conservação.

Uma das formas mais utilizadas atualmente é o leite industrializado, que pode ser encontrado pasteurizado ou ultrapasteurizado. O que diferencia basicamente os tipos de leite fluido encontrados é o seu método de conservação, por exemplo (ZOCCAL, 2005):

Leite cru: é o leite ordenhado, o qual não é submetido a tratamento de conservação;

Leite pasteurizado: tratamento térmico com o objetivo de eliminar os microrganismos patogênicos. O leite deve ser armazenado e transportado a baixas temperaturas para manter sua qualidade;

Leite ultrapasteurizado: tratamento térmico, o qual elimina qualquer tipo de bactérias. Quando embalado em envase asséptico, pode ser armazenado e transportado em temperatura ambiente, mantendo sua qualidade, desde que consumido em até seis meses.

A utilização de altas temperaturas para garantir a segurança na conservação do leite está fundamentada nos efeitos deletérios do calor sobre

os microorganismos. O controle do crescimento microbiano tem como principal objetivo eliminar riscos à saúde do consumidor, e prevenir ou retardar as alterações indesejáveis no leite, aumentando seu prazo de validade (LEITE, 2007).

3.1 LEITE PASTEURIZADO

Utiliza-se como forma de classificação do leite o modo de produção, composição, requisitos físico-químicos e biológicos, recebendo assim as denominações de leite Pasteurizado A, B ou C (COSTA *et al.*, 2011).

Leite Pasteurizado é o leite fluido elaborado a partir do Leite Cru Refrigerado na propriedade rural, que apresente as especificações de produção, de coleta e de qualidade dessa matéria-prima contidas em Regulamento Técnico próprio e que tenha sido transportado a granel até o estabelecimento processador (BRASIL, 2002).

A pasteurização está fundamentada na correta utilização do binômio tempo/temperatura, para garantir a eliminação da microbiota patogênica e a segurança alimentar do produto. Este processamento térmico tem também como objetivo aumentar a vida de prateleira do alimento, reduzindo as alterações microbiológicas e enzimáticas (FARIA *et al.*, 2011).

A Figura 2, representada a seguir, demonstra o fluxograma de beneficiamento do leite pasteurizado:

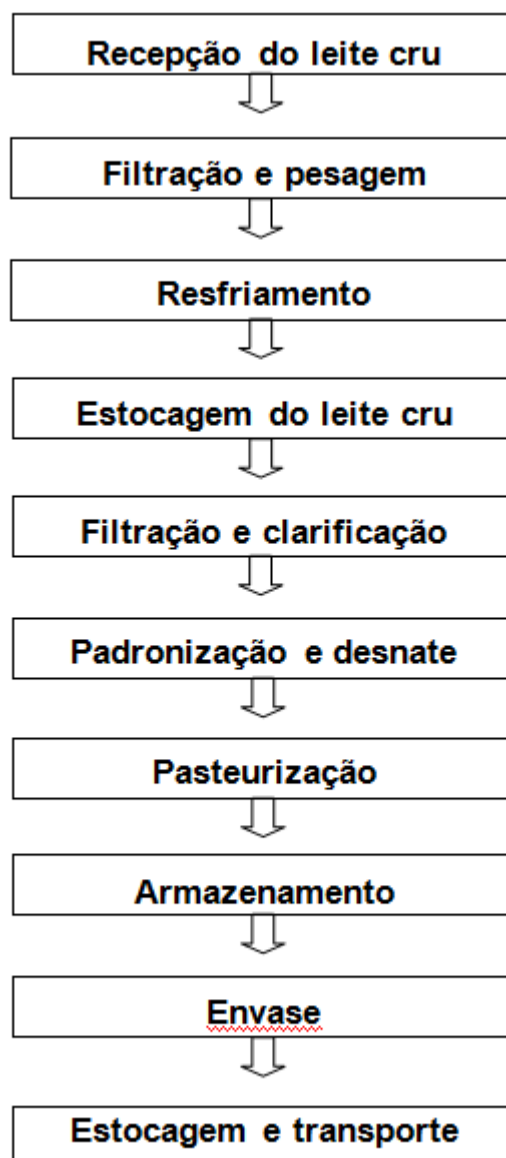


Figura 2 - Fluxograma do beneficiamento de leite pasteurizado. Fonte: Pires *et al.* (2009)

A pasteurização é um tratamento térmico aplicado ao leite que consiste no aquecimento à temperatura de 72 a 75 °C durante quinze a vinte segundos, com objetivo de eliminar os microrganismos patogênicos que possam contaminar o leite, tornando-o um produto inócuo ao consumo humano. Para prolongar seu tempo de prateleira, realiza-se resfriamento imediato em equipamento de placas até temperatura igual ou inferior a 4°C (BRASIL, 2002).

O equipamento de pasteurização, representado na Figura 3, é dotado de um painel de controle com termo-registrador e termo-regulador automáticos, válvula automática de desvio de fluxo, termômetros e torneiras de prova,

seguindo-se de resfriamento imediato em aparelhagem a placas até temperatura igual ou inferior a 4°C e envase em circuito fechado no menor prazo possível, sob condições que minimizem contaminações (BRASIL, 2002).



Figura 3 - Pasteurizador de Placas. Fonte: Pires *et al.* (2009)

Os produtos pasteurizados podem conter, ainda, muitos organismos vivos capazes de se multiplicarem, o que limita sua vida de prateleira. Assim, a pasteurização é, muitas vezes, combinada com outros métodos de conservação e muitos produtos pasteurizados são estocados sob refrigeração, como é o caso do leite (POTTER; HOTCHKISS, 1995)

A qualidade do leite pasteurizado tem sido estudada em várias regiões do Brasil, e diversos autores relatam que entre 15,0 e 53,0% das amostras possuem alterações microbiológicas (FREITAS *et al.* 2002; GARRIDO *et al.* 2001; MARQUES; COELHO JÚNIOR; SOARES, 2005).

3.1.1 Características do leite pasteurizado

O leite pasteurizado, para ser considerado apto para o consumo e de boa qualidade, deve apresentar características sensoriais normais, teor de gordura original para leite integral, 3% de gordura para leite padronizado,

acidez entre 0,14 a 0,18 g ac. láctico/100 mL, estabilidade ao teste de Alizarol 72%, densidade relativa (15°C, g/mL⁻¹) entre 1,028 a 1,034, extrato seco desengordurado mínimo de 8,4% e índice crioscópico máximo de -0,530 °H (BRASIL, 2002).

Quanto aos parâmetros microbiológicos, é permitido contagem padrão em placas (máximo de $3,0 \times 10^5$ UFC.mL⁻¹), contagem de coliformes a 35 °C (máximo de 4 NMP.mL⁻¹) e contagem de coliformes a 45 °C (máximo de 2 NMP.mL⁻¹) (BRASIL, 2002).

As características físico-químicas e microbiológicas do leite pasteurizado estão apresentadas na Tabela 2 de acordo com a instrução normativa nº51, do Ministério da Agricultura.

Tabela 2 - Especificações Leite Pasteurizado Padrozinado

Características	Leite Pasteurizado
Temperatura (°C)	4 – 7
Gordura (g/100g)	3
Acidez (g/ml ⁻¹)	0,14 – 0,18
Estabilidade ao alizarol	Estável
Sólidos Não Gordurosos (g/100g)	Mín. 8, 4
Índice Crioscópico (°H)	Mín. – 0,530
Densidade a 15 °C (g/mL ⁻¹)	1,028 – 1,034
Índice de Refração do Soro Cúprico a 20°C	Mín. 37°Zeiss
Contagem Padrão em Placas (UFC/mL)	Máx. 8×10^4
Coliformes totais (NMP/mL)	Máx. 4
<i>Escherichia coli</i> (NMP/mL)	Máx. 2
<i>Salmonella</i> spp. (em 25 mL)	Ausência

Fonte: BRASIL (2002).

4 QUALIDADE DO LEITE PASTEURIZADO

Como fonte de uma grande variedade de nutrientes, o leite torna-se também um excelente meio para o crescimento de vários grupos de microrganismos (SOUZA *et al.*, 1995).

Os avanços nas técnicas relacionadas às etapas de produção, processamento e distribuição de leite têm favorecido o seu consumo, particularmente o de origem bovina. Essas etapas, porém, induzem a alterações bioquímicas, físico-químicas, microbiológicas, nutricionais, sensoriais e reológicas que podem comprometer a qualidade do produto final (SILVA, 1997).

A qualidade do leite pode ser avaliada por meio de testes que determinam as características higiênicas e físico-químicas, como as análises de acidez, contagem de células somáticas (CCS), contagem bacteriana total (CBT), gordura, proteínas, lactose, sólidos totais e extrato seco desengordurado (PASSOS, 2004).

Na avaliação da qualidade, devem-se considerar características sensoriais, nutricionais, físico-químicas e microbiológicas; como sabor agradável, alto valor nutritivo, ausência de agentes patogênicos e contaminantes, reduzida contagem de células somáticas e baixa carga microbiana (ZOCHE. *et al.*, 2002).

4.1 QUALIDADE FÍSICO-QUÍMICA DO LEITE

Os métodos físico-químicos aplicados ao controle de qualidade constituem-se nas avaliações de composição química e nas propriedades físico-químicas do leite (PEREIRA, 2008). As análises físico-químicas sinalizam também a qualidade do leite. A importância das análises consiste na detecção de fraudes como, por exemplo, a adição de água, adição de amido, desnate, entre outros (ZOCHE. *et al.*, 2002).

A acidez natural do leite varia entre 0,13 e 0,18 %, expressa como ácido láctico, a mesma indica o estado de conservação do leite, e pode ser elevada devido ao resultado da acidificação da lactose, provocada por microrganismos em multiplicação no leite. A acidez pode aumentar à medida que o leite pasteurizado vai envelhecendo. O grau de acidez pode ser quantificado, em titulações por soluções alcalinas (PEREIRA, 2001; ZENEON, PASCUET, TIGLEA, 2008).

Para determinar a qualidade do leite pasteurizado, realiza-se também a análise chamada teste do Alizarol, este método objetiva-se em estimar a estabilidade térmica das proteínas do leite por meio da reação com solução alcoólica, a qual na maioria das vezes é o Alizarol. A desestabilização das micelas do leite pode ocorrer por elevada acidez, alcalinidade ou desequilíbrio salino. O resultado é determinado pela cor da mistura leite/alizarol alcalina (PEREIRA, 2001; ZENEON, PASCUET, TIGLEA, 2008).

A densidade do leite varia entre 1,023 e 1,040 g/mL a 15 °C e o valor médio é 1,032 g/mL. Leite com alto teor de gordura apresenta maior densidade em relação a leite com baixo teor de gordura, em razão do aumento do extrato seco desengordurado que acompanha o aumento no teor de gordura. Caso ocorra a adição de água no leite, o valor da densidade também pode ser alterado (PEREIRA, 2001).

A análise do índice crioscópico é feita para determinar à medida de seu ponto de congelamento, utilizando o crioscópio eletrônico (ZENEON, PASCUET, TIGLEA, 2008). Esta análise auxilia na detecção de fraude no leite. De acordo com a instrução normativa n°51, do Ministério da Agricultura, o índice crioscópico do leite pasteurizado deve ser de no mínimo de $-0,530^{\circ}\text{H}$.

O índice crioscópico do leite fraudado com água tende a aproximar-se de 0°C , ponto de congelamento da água, apresentando um resultado menor que $-0,530^{\circ}\text{H}$ durante a análise. A adição de água ao leite reduz a qualidade do leite, e pode ocasionar contaminação (ZENEON, PASCUET, TIGLEA, 2008).

O leite pasteurizado padronizado deve apresentar 3% de gordura, conforme a Tabela 2. A determinação da gordura auxilia a verificar fraudes no leite, esta análise pode ser realizada através de métodos químicos ou eletrônicos (CASTRO, 2006).

A fosfatase alcalina e a peroxidase são enzimas presentes no leite cru. Ambas as enzimas são sensíveis à temperatura de pasteurização. A peroxidase é destruída quando submetida a temperaturas acima de 75°C, por mais de 20 segundos, temperatura esta referente ao processo de pasteurização, sendo que o teste de peroxidase indica se a pasteurização foi eficiente. Assim como a medida da fosfatase residual, que resiste durante o processo, também verificando a eficiência da pasteurização (ZENEBO, PASCUET, TIGLEA, 2008).

As características sensoriais definem a aceitabilidade do leite pelos consumidores, estas podem ser associadas ao frescor e valor nutritivo do produto. O leite fresco, produzido sob condições ideais, apresenta sabor pouco pronunciado, apresentando-se como doce e salgado, não ácido e não amargo (PEREIRA, 2008).

4.2 QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DO LEITE

O leite, bem como outros alimentos de origem animal, durante sua produção primária, processamento, transporte e comercialização pode tornar-se contaminado por microrganismos patogênicos ou até mesmo por outras substâncias tóxicas que acarretem em riscos à saúde do consumidor (SANTOS, 2007). Além disso, por ser um produto rico em nutrientes possibilita a multiplicação rápida de microrganismos.

A indústria leiteira atravessa um período de transformações em sua estrutura, e a qualidade do leite é uma das principais exigências. A correta adoção de medidas de higiene adequadas na produção, armazenamento e transporte do leite podem prevenir a contaminação de microrganismos que representam um grave problema econômico para a indústria de laticínios (FRANZENER *et al.* 2005).

O controle inicial durante a ordenha e de todo o fluxo da produção são fatores determinantes na qualidade do produto que chega à mesa do consumidor (ZAFFARI *et al.* 2006).

A avaliação da contaminação microbiológica de alimentos é um dos parâmetros importantes para determinar sua vida útil, e também para que os mesmos não ofereçam riscos à saúde dos consumidores (RAMOS *et al.* 2008)

O controle microbiológico em amostras de leite acontece, principalmente, por meio da pesquisa de microrganismos indicadores os quais, quando presentes, podem fornecer informações a respeito das condições sanitárias da produção, do processamento, ou armazenamento, tão bem quanto a possível presença de patógenos e a estimativa da vida de prateleira do produto. Os principais grupos de microrganismos indicadores de qualidade do leite são os aeróbios mesófilos e os coliformes (FRANCO; LANGRAF, 1996).

Microrganismos mesófilos possuem melhor capacidade de multiplicação em temperatura de 35°C. Estes podem ser tanto patogênicos, tais como *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*, como deteriorantes, como as bactérias lácticas, que possuem propriedades que causam a acidificação, comprometendo assim a qualidade do produto e de seus derivados (ZAFFARI *et al.*, 2006).

O grupo dos coliformes totais (CT), ou coliformes a 30° C, são microrganismos pertencentes à família *Enterobacteriaceae* representados pelos gêneros *Escherichia*, *Enterobacter*, *Citrobacter* e *Klebsiella*, que apresentam a capacidade de fermentar lactose produzindo ácido e gás quando incubadas a 35-37° C (FRANCO; LANGRAF, 1996). Estes microrganismos indicam o nível de contaminação ambiental que o alimento agregou. São sensíveis à temperatura de pasteurização e sua presença em produtos tratados termicamente indica contaminação após processo (MONTEIRO *et al.*, 2007)

Além dos dois grupos citados, nos últimos anos, o aparecimento e a tendência crescente de surtos mundiais de microrganismos passíveis de serem veiculados pelo leite, como as salmoneloses, as colibaciloses (*Escherichia coli* e a enterotoxigênica), as listerioses (*Listeria monocytogenes*), as campilobacterioses (*Campylobacter jejuni*), as micobacterioses e as iersinioses (*Yersinia enterocolitica*), têm despertado a atenção e preocupação de estudiosos em todo o mundo (FONSECA & SANTOS, 2007). O Quadro 1 mostra alguns microrganismos causadores de doenças associadas ao

consumo de leite nos países industrializados e a frequência com que são encontrados no leite.

Microrganismos	Frequência
<i>Salmonella</i>	Alta
<i>Campylobacter</i>	Alta
<i>Yersinia enterocolitica</i>	Desconhecida, provavelmente alta em algumas zonas
<i>Escherichia coli</i> 0157:H7	Desconhecida, provavelmente alta em algumas zonas
<i>Listeria monocytogenes</i>	Provavelmente baixa
<i>Streptococcus</i> (Grupo A e C)	Baixa
<i>Cryptosporidium parvum</i>	Alta entre consumidores ocasionais
<i>Poliovirus</i>	Muito baixa

Quadro 1 - Microrganismos causadores de doenças associadas ao consumo de leite cru.

Fonte: VARNAM & SUTHERLAND, 1994

5 MATERIAIS E MÉTODOS

Este trabalho foi realizado na Empresa de Beneficiamento de Produtos Lácteos – Lactobom, localizada no Distrito Industrial, no município de Ponta Grossa, estado do Paraná, Brasil, com a devida autorização e ciência da empresa (Carta de Autorização de Desenvolvimento de Pesquisa – Apêndice 1).

5.1 MATERIAIS

Foram coletados 20 pacotes de leite pasteurizado, todos esses da mesma máquina envasadeira e todos foram coletados seguindo a sequência de envase. Após a coleta, estes foram separados em dois grupos:

- 10 foram submetidos às condições de transporte da empresa, feitos por um caminhão refrigerado;
- 10 foram submetidos ao armazenamento em aparelho refrigerador, o qual fica localizado no laboratório de análises físico-químicas da empresa.

5.2 MÉTODOS

Os pacotes foram numerados de 1 a 10, sendo que um grupo ficaria no caminhão e o outro no refrigerador.

O pacote inicial foi numerado de 0 e deste foi feita um análise completa de todas as suas propriedades microbiológicas e físico-químicas, para utilizar como parâmetro inicial do leite pasteurizado, com o intuito de poder comparar com os resultados finais encontrados.

Desta forma, a cada dia passado um pacote de leite pasteurizado foi coletado tanto do caminhão, quanto da geladeira, a temperatura de cada local foi aferida, assim como a temperatura do leite.

Cada pacote passou por análises, sendo que as análises microbiológicas foram feitas todos os dias, de cada pacote coletado, sendo um do caminhão e outro do refrigerador.

Porém as análises físico-químicas foram feitas somente do leite inicial numerado de 0 e do leite final, numerado de 10.

Optaram-se por estes procedimentos para avaliar a vida útil do produto, pois, no caso de leite pasteurizado, é de maior significância garantir a qualidade microbiológica do produto, uma vez que este está mais sensível a alterações microbiológicas do que as suas características físico-químicas.

5.3 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS

Dentro das análises microbiológicas foram realizadas: contagem total de bactérias aeróbias mesófilas, contagem de coliformes totais e fecais (*Escherichia coli*).

As análises microbiológicas foram feitas em placas prontas para o uso contendo meio desidratado, chamadas Compact Dry.

Primeiramente foi preparada a solução salina para fazer a diluição das amostras. Para cada amostra foi separada um tubo de ensaio com 9 ml de solução salina, e adicionado 1 mL da amostra, dessa maneira foi realizada a diluição 10^{-1} .

Nos resultados finais seria necessário multiplicar o número de colônias por 10, devido à realização da diluição.

5.3.1 Contagem total de bactérias aeróbias mesófilas

Para esta análise utilizou-se a placa Compact Dry TC, específica para a contagem total de bactérias mesófilas.

Na placa adicionou-se diretamente 1mL da amostra, utilizando uma pipeta estéril, e em seguida a placa foi incubada em estufa de 37°C, em posição invertida, permanecendo por 48 horas.

Após a incubação, foi realizada a contagem, utilizando um papel branco para melhorar o contraste.

5.3.2 Contagem de Coliformes totais e *E. coli*

Utilizou-se um meio específico para *E. coli* e coliformes, através da placa Compact Dry EC.

Pipetou-se 1mL da amostra com o uso de uma pipeta estéril, e a amostra foi colocada na placa, a amostra diluiu imediatamente, sem uso de delimitador e a solidificação é imediata.

Em seguida as placas foram incubadas em estufa de 37°C por 24 horas em posição invertida. Após a incubação, foi realizada a contagem.

O meio contém dois tipos de substratos enzimáticos. Desta maneira as colônias azuis indicam presença de *Escherichia coli* e a soma das colônias vermelhas e azuis são as colônias de Coliformes Totais, deve-se contar e anotar separadamente as colônias azuis e vermelhas.

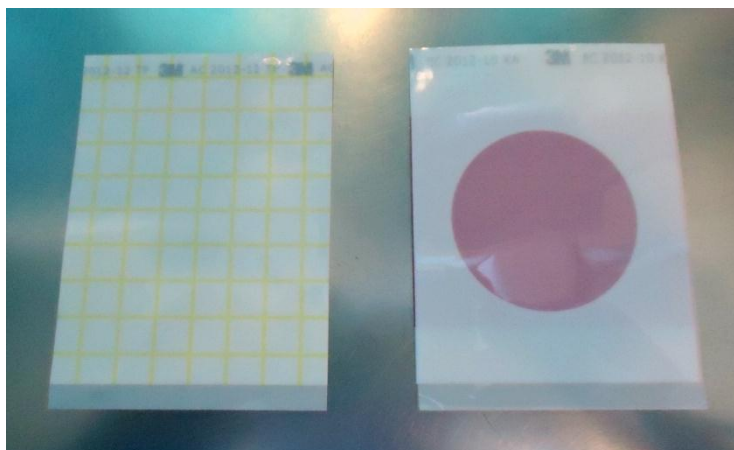


Figura 4 - Placas CompactDry respectivamente para contagem total de bactérias mesófilas e coliformes totais e *E. coli*

5.4 MÉTODOS FÍSICO-QUÍMICOS

As análises físico-químicas realizadas foram: índice crioscópico, pesquisa de peroxidase e de fosfatase alcalina, determinação de teor de lipídio, porcentagem de estrato seco total e de estrato seco desengordurado, determinação de densidade, teste do Alizarol e índice de acidez.

Os métodos foram realizados de acordo com a instrução normativa número 68, do Ministério da Agricultura (BRASIL, 2006).

5.4.1 Índice Crioscópico

Para verificar o índice crioscópico utilizou-se um crioscópio eletrônico, devidamente calibrado. Com uma pipeta graduada, mediu-se 2,5 mL da amostra e a mesma foi colocada em uma cubeta para crioscópio, em seguida inseriu-se a cubeta no compartimento de análise do aparelho, e aguardou-se a leitura. A leitura pode ser de no máximo: $-0,550^{\circ}\text{H}$ e no mínimo de $-0,530^{\circ}\text{H}$, valores menores que este indicam a provável adição de água no leite.

5.4.2 Pesquisa de Peroxidase

Para realizar a análise é preciso imergir a tira reagente na amostra para permitir sua absorção, aguardar 10 segundos e proceder à leitura. O aparecimento de uma coloração marrom avermelhada na tira indica teste positivo. Sem alteração na coloração da tira considerar o resultado negativo.

5.4.3 Pesquisa de Fosfatase Alcalina

A pesquisa de fosfatase alcalina é feita com o uso de uma tira reagente. Deve-se imergir a tira reagente na amostra durante 10 segundos para permitir sua absorção. Aguardar 2-3 minutos e proceder à leitura. Aparecimento de

uma coloração amarela na tira indica teste positivo, caso não ocorra alteração na coloração da tira considerar o resultado negativo.

5.4.4 Teor de Lipídeos (Gordura)

Adicionou-se a um butirômetro para leite, 10 mL da solução de ácido sulfúrico, logo em seguida transferiu-se 11 mL de amostra homogeneizada, para o butirômetro. Acrescentou-se 1 mL de álcool isoamílico, limpou-se as bordas do butirômetro com papel de filtro e fechar com rolha apropriada. Agitou-se o butirômetro, de modo a promover a mistura completa dos líquidos no interior do aparelho. Centrifugou-se durante 5 minutos de 1000 a 1200 rpm e realizou-se a leitura.

Para interpretar o resultado é necessário ler a porcentagem de gordura diretamente na escala do aparelho e na base do menisco formado pela camada de gordura, imediatamente após a centrifugação.

5.4.5 Porcentagem de extrato seco total

A determinação do teor de extrato seco total é realizada por meio dos valores de densidade e do teor de gordura. Através de fórmulas matemáticas.

5.4.5.1 Extrato seco total

Fórmula de Fleishmann:

$$\% \text{ extrato seco total} = 1,2 G + 2,665 [(100 D - 100) / D]$$

Fórmula Prática:

$$\% \text{ extrato seco total} = G/5 + D/4 + 0,26 + G$$

Onde:

D = densidade;

G = % gordura.

5.4.5.2 Extrato seco desengordurado:

Obtém-se a percentagem de extrato seco desengordurado, subtraindo da percentagem de extrato seco total a percentagem de gordura da amostra.

$$\% \text{ extrato seco desengordurado} = \text{EST} - \text{G}$$

Onde:

EST = % extrato seco total

G = % gordura

5.4.6 Densidade relativa a 15°C

Utilizou-se a proveta de 250 mL e o termolactodensímetro. Transferiu-se cerca de 250 mL de leite para uma proveta de capacidade correspondente, evitando incorporação de ar e formação de espuma. Mergulhou-se o termolactodensímetro, limpo e seco, na amostra e esperar estabilizar.

Fez-se a leitura da densidade no limite do menisco. É recomendado que sejam feitas leituras de densidade em amostras com temperatura entre 10°C a 20°C.

5.4.7 Teste do Alizarol

Para realizar a análise é necessário misturar partes iguais da solução de Alizarol e de amostra em um béquer. Desta forma pipetou-se 2 mL da amostra em um béquer e pipeta-se 2 mL de Alizarol e acrescentou-se no mesmo béquer, homogeneizando a mistura. Em seguida o béquer foi agitado e observou-se a coloração e o aspecto:

Leite com resposta normal: coloração vermelho-tijolo.

Leite ácido: tonalidade entre marrom claro e amarelo.

Leite com reação alcalina: coloração lilás a violeta.

5.4.8 Acidez titulável

Consiste na titulação de determinado volume de leite por uma solução alcalina de concentração conhecida, utilizando como indicador a fenolftaleína. O procedimento segue-se: transferir 10 mL da amostra para o béquer. Adicionar 4 ou 5 gotas da solução de fenolftaleína a 1%. Titular com solução Dornic, agitando sempre, até aparecimento de coloração rósea persistente por aproximadamente 30 segundos. A acidez é dada pela seguinte fórmula:

$$\text{Acidez (}^\circ\text{Dornic)} = V \times F \times 10$$

Onde:

V = volume da solução de hidróxido de sódio 0,1N gasto na titulação (mL);

F = fator de correção da solução de hidróxido de sódio

10 = transformação de ácido láctico para grau Dornic.

Cada 0,1 mL da solução de Dornic gasta, corresponde a acidez de um grau Dornic (1°D).

Desta maneira a acidez titulável do leite pasteurizado, de acordo com a legislação vigente, deve ser entre 14 – 18 °D.

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 ANÁLISES DA AMOSTRA INICIAL

Primeiramente foram realizadas as análises da amostra inicial. A mesma, logo após a pasteurização, foi envasada em um pacote e então analisada para garantir que estava de acordo com os requisitos microbiológicos e físico-químicos referentes à legislação do ministério da agricultura. A amostra inicial também foi utilizada como um parâmetro para comparação da qualidade do leite após os 10 dias de acondicionamento em diferentes locais: o aparelho refrigerador e o veículo de transporte.

Os resultados das análises da amostra inicial estão apresentados na Tabela 3.

Tabela 3 - Características da amostra inicial

Características	Amostra inicial	Especificações Leite Pasteurizado *
Temperatura (°C)	4,4	04 – 07
Gordura (g/100g)	3	3
Acidez (°Dornic)	15,1	14 – 18
Estabilidade ao alizarol	Estável	Estável
Sólidos Não Gordurosos (g/100g)	10,91	Mín. 8, 4
Índice Crioscópico (°H)	-0,533	Mín. – 0,530
Densidade a 15 °C (g/mL ⁻¹)	1,0282	1,028 – 1,034
Pesquisa de peroxidase	Positiva	-
Pesquisa de fosfatase	Negativa	-
Mesófilos (UFC/mL)	< 10	8 x 10 ⁴
Coliformes totais (UFC/mL) **	< 1	-
<i>Escherichia coli</i> (UFC/mL)	<1	-
<i>Salmonella</i> spp. (em 25 mL)	Ausência	Ausência

* Instrução Normativa N° 51, de 18 de Setembro de 2002.

** A contagem Coliformes de acordo com a instrução normativa está em NMP/mL, sendo o mínimo é de 2 e máximo de 4.

De acordo com a Tabela 3 pode-se verificar que a amostra inicial atende os requisitos impostos pela Instrução Normativa do Ministério da Agricultura,

desta maneira é possível garantir a qualidade físico-química e microbiológica do leite pasteurizado, o qual será armazenado e em seguida analisado.

A temperatura verificada do leite pasteurizado denominado como amostra inicial está de acordo com o intervalo disposto pela legislação, o qual é de 4 °C a 7 °C, sendo que o leite deve ser acondicionado e transportado em veículo com isolamento térmico com temperatura inferior os 7 °C. O armazenamento e transporte é uma dos fatores que influenciam na garantia da qualidade, principalmente, a qualidade microbiológica do leite (BRITO & BRITO, 2001).

Os requisitos microbiológicos também foram atendidos. A contagem de bactéria as mesófilas apresentou um valor muito inferior ao estabelecido pela legislação, e foi constatada ausência na análise de salmonela spp. Apesar da instrução normativa mostrar a contagem de coliformes em NMP/mL, com os resultados em UFC/mL detectados pode-se afirmar há praticamente ausência de coliformes e *Escherichia coli* neste amostra inicial.

Os requisitos físico-químicos estão de acordo com a instrução normativa nº51, sendo que a análise de acidez é um das características mais importantes ao que diz respeito à vida de prateleira do leite pasteurizado, quanto menor a acidez, acredita-se que mais tempo este poderá ser armazenado e então consumido sem preocupações em quesitos sensoriais, como por exemplo, o leite ficar com gosto “azedo” ou rançoso (SANTOS *et al*, 2007; ZENEBON, PASCUET, TIGLEA, 2008).

6.2 ANÁLISE DAS AMOSTRAS SUBMETIDAS A DEZ DIAS DE ARMAZENAMENTO

A partir da amostra inicial, as amostras denominadas de um a dez foram acondicionadas em diferentes lugares.

Um grupo foi armazenado em aparelho refrigerador e o outro no veículo que realiza o transporte do leite até os seus pontos de vendas. A cada dia uma amostra era retirada de cada local e feita juntamente com as análises laboratoriais uma análise sensorial. Os resultados estão disposto na Tabelas 4 e na Tabela 5 apresentadas a seguir.

Tabela 4 - Características das amostras submetidas a transporte

Amostras	Temperatura Veículo(°C)	Temperatura Leite(°C)	Acidez (°Dornic)	Estabilidade	Mesófilos (UFC/mL)	CT* (UFC/mL)	<i>E. coli</i> (UFC/mL)
1	18	11	15,1	Ok	30	<1	<1
2	16	11,1	15,1	Ok	10	<1	<1
3	15,1	11,7	14,5	Ok	10	<1	<1
4	10,9	9,2	15	Ok	80	<1	<1
5	10,9	8,8	15,1	Ok	20	<1	<1
6	10,9	9	15,1	Ok	20	<1	<1
7	13	10,5	15,4	Ok	100	<1	<1
8	14,1	7	15,6	Ok	200	<1	<1
9	11,8	8,5	16	Ok	300	<1	<1
10	10,5	8,4	16,6	Ok	410	<1	<1

*CT – Coliformes Totais

Tabela 5 - Características das amostras armazenadas na geladeira

Amostras	Temperatura Geladeira(°C)	Temperatura Leite(°C)	Acidez (°Dornic)	Estabilidade	Mesófilos (UFC/mL)	CT* (UFC/mL)	<i>E. coli</i> (UFC/mL)
1	7,7	3,1	15	Ok	20	<1	<1
2	7,1	3	15,1	Ok	<10	<1	<1
3	7,8	3,4	14,5	Ok	30	<1	<1
4	9,4	2,4	14,9	Ok	<10	<1	<1
5	9,8	0,4	15,1	Ok	10	<1	<1
6	9,8	1,4	15,1	Ok	20	<1	<1
7	6,9	2,1	14,8	Ok	40	<1	<1
8	7	2,5	14,5	Ok	10	<1	<1
9	8,8	1,3	15,3	Ok	60	<1	<1
10	9,7	0,7	16	Ok	50	<1	<1

*CT – Coliformes Totais

6.2.1 Temperatura

A temperatura influencia diretamente na qualidade do leite quando este fica armazenado. A refrigeração a 4° C reduz o crescimento deste grupo, mas se o leite for mantido a temperaturas mais altas, superiores a 7° C, podem acarretar problemas para a qualidade do leite, como por exemplo, mudanças de sabor (BRITO & BRITO, 2001).

Portanto, o leite deve ser obtido em condições higiênicas, refrigerado à temperatura em torno de 4° C e armazenado em condições adequadas.

A temperatura do veículo de transporte apresentou uma média de 13°C sendo a temperatura mínima verificada foi de 10,5°C, dados apresentados na Tabela 3. Os valores de temperatura estão muito acima do estipulado pela instrução normativa de nº 51, a qual determina que a temperatura durante o transporte deve ser inferior a 7°C.

As temperaturas verificadas da geladeira também estavam acima de 7°C, porém sua média foi um pouco mais baixa, apresentando 8,2°C, entretanto, como visto na tabela 4, a temperatura do leite que estava na geladeira sempre ficou dentro do intervalo estipulado, de 4°C a 7°C, diferente do leite que permaneceu no veículo (Tabela 4). Desta maneira, pode-se verificar que as condições de transporte do leite pasteurizado estão impróprias, e isto pode muitas vezes influenciar na qualidade do leite ao chegar para o consumidor.

6.2.2 Acidez

As análises de acidez estão relacionadas com a acidez natural do leite, seu valor aumenta devido à acidificação da lactose, a qual é provocada pela multiplicação de microrganismos. Isto caracteriza perda de qualidade sensorial, o leite pode apresentar um gosto não agradável, popularmente chamado de “azedo” (ZENEON, PASCUET, TIGLEA, 2008).

Foi constatado que durante os 10 dias de armazenamento os valores de acidez nunca ultrapassaram o limite especificado pela instrução normativa nº 51, limite este dado por 18°Dornic.

Porém constata-se que a acidez das amostras armazenadas no veículo foi levemente superior à aquelas da geladeira, a amostra denominada de 10 acondicionado no veículo de transporte apresentou acidez de 16,6°Dornic, enquanto que a mesma amostra após os dez dias de armazenamento na geladeira, apresentou acidez de 16°Dornic. Acredita-se que esta pequena diferença está relacionada a temperatura de cada local, de maneira que a temperatura superior do caminhão favorece um ambiente mais propício a multiplicação microbológica, o que acarreta no aumento da acidez.

6.2.3 Estabilidade

A estabilidade está diretamente relacionada a acidez do leite, esta refere-se a estabilidade das micelas em relação ao teste do Alizarol. Quando um leite está muito ácido ou alcalino, isso influencia nas estruturas das micelas, de tal maneira que as mesmas desnaturam, e isso pode ser visualizado na análise de estabilidade com o teste do alizarol alcalinas (PEREIRA, 2001; ZENEBON, PASCUET, TIGLEA, 2008).

De acordo com a Figura 5, a cor apresentada pela mistura leite e Alizarol indica o grau de acidez. Sendo que:

- Leite com resposta normal – estável: coloração vermelho-tijolo. Aspecto das paredes do béquer sem grumos ou com uma ligeira precipitação, com poucos grumos muito finos.
- Leite ácido – não estável: tonalidade entre marrom claro e amarelo. Na acidez elevada ou no colostro, a coloração é amarela, com coagulação forte.
- Leite com reação alcalina – não estável: coloração lilás a violeta.



Figura 5 - Caracterização do leite de acordo com a sua estabilidade

6.2.4 Mesófilos

Microrganismos mesófilos possuem melhor capacidade de multiplicação em temperatura de 35°C. Estes podem ser tanto patogênicos, ou deteriorantes, como as bactérias lácticas, que possuem propriedades causando a acidificação, comprometendo assim a qualidade do produto e de seus derivados (ZAFFARI *et al.*, 2007).

Desta forma a contagem de mesófilos está diretamente relacionada a qualidade do leite final. Alguns dias após a pasteurização, a contagem de mesófilos tende a aumentar e essas bactérias acidificam o leite, danificando sua qualidade sensorial, causando o chamado “leite azedo”. De tal maneira, se manter uma temperatura baixa durante o armazenamento do leite, este temperatura inferior retardada a multiplicação deste microrganismo, garantido a qualidade pelo máximo de tempo possível.

Os resultados encontrados na contagem das bactérias mesófilas está disposto no Gráfico 1.

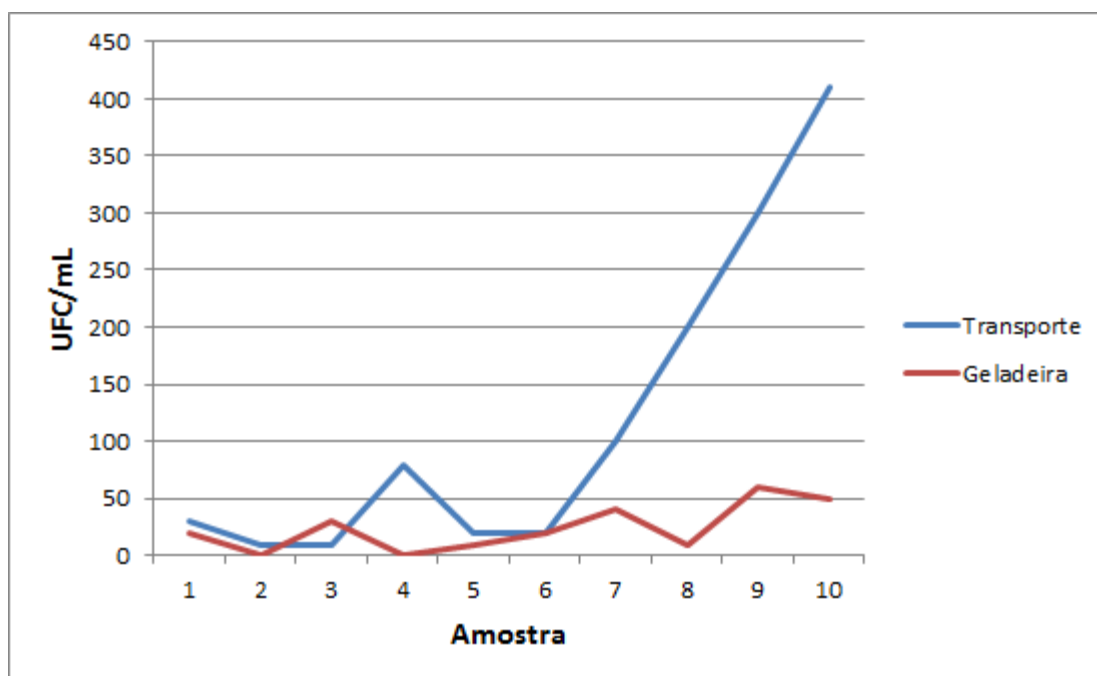


Gráfico 1 - Comparação contagem de bactérias mesófilas de acordo com o local de armazenamento

De acordo com o gráfico percebe-se que até a amostra de número 8, correspondente ao oitavo dia de armazenamento, a contagem estava similar para ambos os grupos, aquelas amostras submetidas ao armazenamento em veículo e aquelas armazenadas na geladeira.

A partir do oitavo dia foi verificado um grande aumento na contagem de mesófilos das amostras que estavam no veículo, enquanto aquelas acondicionadas na geladeira a contagem continuo estável.

Na amostra de número 9 foi comprovado que o número de colônias dobrou e continuou aumentando até o último dia. Acredita-se isto está relacionado a temperatura em que o veículo apresentava. Como na geladeira a temperatura constantemente estava próxima a 7 °C, os microrganismos não se desenvolveram devido a baixa temperatura. No entanto, no caminhão uma temperatura mais elevada foi responsável pela multiplicação das bactérias mesófilas a partir do 8º dia.

Os resultados da contagem de mesófilos condizem com os resultados encontrados para a análise de acidez, em que as amostras submetidas a transporte apresentaram acidez um pouco mais elevada do que as amostras que estavam na geladeira.

A empresa determina 8 dias úteis para o leite após feita a pasteurização, e foi exatamente a partir do oitavo dia que a contagem de bactérias mesófilas começou a aumentar significativamente. Apesar deste aumento nos números encontrados dos microrganismos mesófilos não atingiu o limite determinado pela instrução normativa nº51, determinado pelo ministério da agricultura. A legislação indica o máximo de 8×10^4 UFC/mL, os resultados das análises encontrados foram muito inferiores a este valor, mas demonstram uma correlação entre temperatura e qualidade microbiológica do leite quando armazenado.

6.2.5 Coliformes

Estes microrganismos indicam o nível de contaminação ambiental que o alimento agregou. São sensíveis à temperatura de pasteurização e sua

presença em produtos tratados termicamente indica contaminação após processo (MONTEIRO *et al.*, 2007). Este grupo é dividido em coliformes totais, e coliformes fecais o qual corresponde a *Escherichia coli*.

As análises durante os 10 dias de armazenamento constataram que o leite não sofreu contaminação ambiental durante e após a pasteurização, por esta maneira todas as análises foram constadas como <1 UFC/mL, podendo dizer que há praticamente ausência de coliformes totais e de *Escherichia coli*.

Apesar da Instrução Normativa demonstrar resultados desta análise em NMP/mL, os resultados encontrados em UFC/mL não acarretam diferenças quando este comparado ao determinado pela instrução normativa, pois os números encontrados foram muito baixos.

Os resultados de coliformes totais e de *Escherichia coli*, pelo menos durante os 10 dias de armazenamento, não afetaram a qualidade final do leite pasteurizado.

6.2.6 Sensorial

Durante as análises de cada amostra, que corresponde a cada dia de armazenamento, foi feita uma análise sensorial. De tal maneira que até o dia 7, ou seja, até as amostras de número 7 o leite apresentava gosto e odor característico, sem poucas mudanças.

No 8º dia, ou seja, a amostra de número 8 começou a perceber o gosto da gordura mais proeminente, o que caracteriza um começo da separação de fases do leite, percebido somente pela palatabilidade, não visualmente. No 9º estas mudanças continuaram a ocorrer, com o gosto da gordura bastante perceptível, porém sem mudanças de cor e odor.

No último dia o leite apresentava um gosto de “velho”, gosto um pouco rançoso, pode-se dizer que as características organolépticas do leite foram alteradas, não apresentou mudanças de odor ou cor, e também o leite não estava azedo, mas devido a sua característica sensorial, acredita-se que o consumidor reprovava este leite após os dez dias em que estes foram armazenados.

No quesito sensorial não foi verificada mudanças em relação as amostra referentes à geladeira e ao veículo de transporte, pode-se dizer que a partir do sétimo dia notaram-se algumas mudanças nas características sensoriais normais que o leite apresenta do leite, o que provavelmente indica que os oito dias de validade determinados pela empresa estariam de acordo com a aprovação sensorial pelos consumidores.

6.3 COMPARAÇÃO DA AMOSTRA INICIAL COM AS AMOSTRA APÓS OS DEZ DIAS DE ARMAZENAMENTO

Após os dez dias em que as amostras ficaram acondicionadas, foi realizada uma análise completa, assim, como a análise feita na amostra inicial para grau de comparação. Os resultados estão apresentados na Tabela 6.

Tabela 6 - Análise Completa

Características	Amostra inicial	Amostra 10 Transporte	Amostra 10 Geladeira	Especificações Leite Pasteurizado *
Temperatura (°C)	4,4	8,4	7,4	4 – 7
Gordura (g/100g)	3	2,5	2,5	3
Acidez (°Dornic)	15,1	16,6	16	14 – 18
Estabilidade ao alizarol	Estável	Estável	Estável	Estável
Sólidos Não Gordurosos (g/100g)	10,91	10,26	9,33	Mín. 8, 4
Índice Crioscópico (°H)	-0,533	-0,535	-0,530	Mín. – 0,530
Densidade a 15 °C (g/mL ⁻¹)	1,0282	1,0303	1,028	1,028 – 1,034
Pesquisa de peroxidase	Positiva	Positiva	Positiva	-
Pesquisa de fosfatase	Negativa	Negativa	Negativa	-
Mesófilos (UFC/mL)	< 10	410	50	8 x 10 ⁴
Coliformes totais (UFC/mL) **	< 1	< 1	< 1	-
<i>Escherichia coli</i> (UFC/mL)	<1	< 1	< 1	-
<i>Salmonella</i> spp. (em 25 mL)	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência

* Instrução Normativa N° 51, de 18 de Setembro de 2002.

** A contagem Coliformes de acordo com a instrução normativa está em NMP/mL, sendo o mínimo é de 2 e máximo de 4.

De acordo com a Tabela 6 é possível verificar que a maioria das análises realizadas nas amostras após os dez dias de teste, estão de acordo

com os requisitos estipulados pela instrução normativa nº51 do Ministério da Agricultura.

Quando comparada as amostras finais, ou seja, aquelas submetidas aos dez dias de armazenamento, com a amostra inicial poucas análises apresentaram diferenças significativas. Conforme a Tabela 6 verifica-se uma diminuição na porcentagem de gordura, um aumento na acidez e também na contagem de bactérias mesófilas.

A temperatura, como já discutida, apresentou diferenças, sendo que as amostras submetidas a transporte apresentaram temperatura superior a 7°C, como determinado pela legislação. Esta temperatura elevada refletiu em uma maior contagem de bactérias mesófilas, e também em uma acidez um pouco mais elevada, quando se compara esta amostra com a que ficou armazenada na geladeira.

De acordo com BRITO *et al*, 2005, o leite armazenado à temperatura ambiente favorece o crescimento de bactérias mesófilas fermentadoras da lactose, ocorrendo a acidificação rápida do leite.

A falta de refrigeração do leite também favorece o crescimento de bactérias psicrotólicas, as quais têm considerável potencial de deterioração do leite e de produtos lácteos (BRITO & BRITO, 2001).

Foi verificada que após os dez dias de armazenamento, em ambos os locais, ocorreu uma degradação da gordura, o qual na amostra inicial era de 3%, após os dez dias, as amostras apresentaram 2,5%. Santos *et al* (2001), também verificaram um aumento da lipólise do leite pasteurizado durante o período de armazenamento.

De acordo com Brito & Brito (2001), o leite cru contém lipase natural, a qual degrada a gordura, caso a membrana do glóbulo for rompida.

As bactérias psicrotróficas causam degradação das proteínas e gordura do leite, a temperatura ótima de multiplicação é entre 25° a 35° C, mas, possuem a capacidade de se multiplicar a baixas temperaturas (BRITO & BRITO, 2001).

A diminuição da porcentagem de gordura do leite pasteurizado pode ter ocorrido devido à multiplicação de bactérias psicotróficas, produzindo então uma lipase microbiana, ou devido à ação da lipase natural já presente no leite.

O desenvolvimento de rancidez resulta da ação da lipase natural do leite ou de lipases de origem bacteriana. A lipólise afeta negativamente o sabor do leite pasteurizado, apresentando um sabor conhecido como rancidez (SANTOS *et al*, 2007).

Acredita-se que ocorreu o rompimento da membrana de alguns glóbulos de gordura, fazendo com que fosse perceptível durante a análise sensorial um gosto proeminente da gordura, indicando a separação das fases do leite, após os dez dias de armazenamento.

O possível desenvolvimento das bactérias psicotróficas demonstra uma sugestão para futuros trabalhos em pesquisar o comportamento dessas bactérias, se há total eliminação dessas durante a pasteurização e as causas de contaminação no leite cru, antes da pasteurização.

Pode-se concluir que os bons resultados das amostras após os dez dias de armazenamento, apresentados na Tabela 5, condiz com a ótima qualidade da amostra inicial. Caso a amostra inicial, apresentasse condições diferentes, talvez muitas análises após os dez dias de teste não atenderiam os requisitos estipulados pelo Ministério da Agricultura.

7 CONCLUSÃO

Ao final de todas as análises realizadas foi possível concluir que os dois grupos, um armazenado no veículo de transporte e o outro na geladeira mantiveram a qualidade microbiológica e físico-química após os dez dias.

Não obstante, as condições de transporte do leite pasteurizado estão inadequadas, a temperatura do veículo está muito acima da qual foi determinada pela legislação vigente.

Apesar das condições inadequadas de transporte do leite pasteurizado, o leite manteve a qualidade microbiológica e físico-química após os dez dias de armazenamento.

Foi verificado que o leite em que estava armazenado na geladeira apresentou melhor qualidade ao fim dos dez dias, devido aos valores de temperaturas mais baixos durante ao acondicionamento.

O leite que estava no veículo de transporte apresentou maiores valores na contagem de bactérias mesófilas e também acidez um pouco mais elevada em relação ao leite que foi mantido na geladeira.

No quesito sensorial, o leite em ambos os locais, após os 8 dias não apresentava mudanças das suas características organolépticas, como a mudanças de gosto devido a separação de fases do leite.

Pode-se afirmar que os 8 dias de validade estipulados pela empresa estão adequados, pois apesar da boa qualidade microbiológica e físico-química ao final dos dez dias de teste, foi verificado que após o oitavo dia ocorreram mudanças nas características sensoriais do leite, as quais o consumidor reporvaria-o.

Conclui-se que a temperatura durante o armazenamento do leite pasteurizado realmente influencia na qualidade final do produto. Altas temperaturas facilitam a multiplicação de microrganismos, assim, como mudanças nas características físico-químicas.

REFERÊNCIAS

ALVES, D. R. **Industrialização e comercialização do leite de consumo no Brasil**. In: MADALENA, F. E.; MATOS, L. L. de; HOLANDA JR., E. V. Produção de leite e sociedade: uma análise crítica da cadeia do leite no Brasil. Belo Horizonte, FEP-MVZ Editora, 2001, cap. 4, p. 75-83.

ALVES, P. F.; SARNI, R. O. S. **Leite: saudável em todas as fases da vida. 29 de Setembro de 2008**. Disponível em < <http://www.ablv.org.br/7-VerOpinia-Leite-saudavel-em-todas-as-fases-da-vida.aspx>> Acesso em 15 de outubro de 2011.

AUGUSTINHO, E. A. S. **A Importância do Leite**. Disponível em <<http://www.holandeparana.com.br/artigos/Importancia%20do%20Leite-SITE.pdf>> Acesso em 20 de outubro de 2011.

AZEVEDO, P. F.; POLITI, R. B. **Concorrência e estratégias de precificação no sistema industrial de leite**. Revista de Economia e Sociologia Rural, v. 46 n° 36: Brasília. Julho/Setembro 2008.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA DE LEITE LONGA VIDA. **Tecnologia Responsável pelo Leite Longa Vida**. Disponível em <<http://www.ablv.org.br/Tecnologia.aspx>> Acesso em 10 de outubro de 2011.

BRASIL. Instrução Normativa N° 51, de 18 de setembro de 2002.

BRASIL. Instrução Normativa N° 68 de 12 de dezembro de 2006, Oficializa os Métodos Analíticos Oficiais Físico-Químicos, para Controle de Leite e Produtos Lácteos. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.

BRASIL. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Leite (In Natura, Pasteurizado, UHT). Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.

BRITO, M. A.; BRITO, J.R. Qualidade do leite. In: MADALENA, F.E.; MATOS, L.L.; HOLANDA, E.V.J. **Produção de leite e sociedade**: uma análise crítica da cadeia do leite no Brasil. Belo Horizonte - MG: FEPMVZ, 2001. 61 – 71p.

BRITO, M. A., BRITO, J. R.; ARCURI, E.; LANGE, C.; SILVA, M.; SOUZA, G. **Qualidade e Segurança**, 2005-2007. EMBRAPA. Agência de Informação Embrapa. **Agronegócio do leite**. Disponível em: <http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Agencia8/AG01/arvore/AG01_58_217200392359.html>. Acesso em: 24 out.2011.

CASTRO, P. S. **Tecnologia de Leite e Derivados**. Apostila de Aulas Práticas. Universidade Católica de Goiás. Goiás, 2006.

DELAVAL. **The Mamary Gland.** Disponível em <http://www.delaval.com.br/Dairy_Knowledge/EfficientMilking/The_Mammary_Gland.htm> Acesso em 21 de outubro de 2011.

EMBRAPA. Agência de Informação Embrapa. **Agronegócio do leite.** Disponível em: <<http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Agencia8/AG01/Abertura.html>>. Acesso em: 24 out.2011.

FARIA, A. A.; CRUZ, A. G.; GOMES, C. B.; MARTINS, L. D.; CALDEIRA, L. A.; MELO, L. M.; SILVA, V. G. **Qualidade Microbiológica do Leite Pasteurizado.** Disponível em <<http://www.fepeg.unimontes.br/index.php/eventos/forum2011/paper/view/1610/1005>> Acesso em 21 de outubro de 2011.

FONSECA, L. F. L.; SANTOS, M. V. **Qualidade do leite e controle de mastite.** São Paulo: Lemos Editorial, 2000. p.39-141.

FRANCO, B.G.M.F; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos.** São Paulo: Atheneu, 1996. 182p.

FRANZENER, A. S. M.; GASPARINO, E.; BRAGA, G. C.; MACHADO, M. R. F.; GUERREIRO, P. K. **Qualidade Microbiológica de Leite em Função de Técnicas Profiláticas no Manejo do Produção.** Ciência e agrotecnologia, Lavras, v. 29, n. 1, p. 216-222, jan./fev. 2005.

FREITAS, M.T., GLÓRIA, M.B.A. **Qualidade higiênico-sanitária do leite pasteurizado tipo C comercializado em Belo Horizonte – MG – no período de 1987 a 1989.** Rev. Inst. Latic. Cândido Tostes, v. 48, n. 287, p. 82-87, 1993.

GARCIA, C.A.; SILVA, N.R.; LUQUETTI, B.C.; MARTINS, I.P.; SILVA, R.T.; VIEIRA, R.C. **Influência do ozônio sobre a microbiota do leite “in natura”.** Higiene Alimentar, v.11, n.70, p.36-50, 2000.

GARRIDO, N.S., MARTINS, A.M.B., RIBEIRO, E.G.A., FARIA, R.D., YOKOSAWA, C.E., OLIVEIRA, M.A., FÁVARO, R.M.D. **Condições físico-químicas e higiênico-sanitárias do leite pasteurizado tipos “C”, “B” e “integral” comercializados na região de Ribeirão Preto – SP.** Rev. Inst. Adolfo Lutz, v. 56, n. 2, p. 65-70, 1996.

LEITE, J. L. B.; SIQUEIRA, K. B.; CARVALHO, G. R.; FORTES, L. R. L. S. **Comércio Internacional de Lácteos.** Juiz de Fora: Templo, 2007, 281p.

MARQUES, M. S.; COELHO JR, L.B.; SOARES, P. C. **Avaliação da qualidade microbiológica do leite pasteurizado tipo C processado no estado de Goiás.** In: CONGRESSO LATINO-AMERICANO E VII BRASILEIRO DE

HIGIENISTAS DE ALIMENTOS, 2, 2005, Búzios. Anais Búzios, v. 19, n. 130, 2005.

MONTEIRO, A. A.; MAGNANI, D. F.; BARROS, M. A. F.; TAMANINI, R.; BELOTI, V. **Avaliação da qualidade microbiológica e dos parâmetros enzimáticos da pasteurização de leite tipo “C” produzido na região norte do Paraná.** Seminário: Ciências Agrárias, Londrina, v. 28, n. 3, p. 449-454, jul./set. 2007.

NORO, G. **Síntese e secreção do leite.** Seminário apresentado a disciplina Bioquímica do Tecido Animal. UFRGS. Porto Alegre – RS. 21p. 2001.

OLIVEIRA, E. F. **Cadeia Produtiva do Leite: da Classificação às Análises no Entrepósito de Recebimento.** Disponível em <<http://www.webartigos.com/artigos/cadeia-produtiva-do-leite-da-classificacao-as-analises-no-entrepósito-de-recebimento/52589/>> Acesso em 24 de outubro de 2011.

PASSOS, T. **Aspectos básicos da qualidade do leite e mastite.** Montes Claros/MG, 2004. Disponível em: <<http://www.rehagro.com.br/siterehagro/publicacao.do?cdnoticia=705>> Acesso em: 03 de junho de 2011

PEREIRA, D. B. C. **Físico-Química do Leite e derivados: métodos analíticos.** 2º ed. Rev. ampl., Juiz de Fora-MG:EPAMIG, 2001.

POTTER, N. N.; HOTCHKISS, J. H. **Ciência dos Alimentos.** 5. ed. Zaragoza: Acribia, 1995. 667 p.

RAMOS, A. C. S.; OLIVEIRA, J. M.; SILVA, J. V.; MELO, R. O. **Caracterização microbiológica e físico-química de leite pasteurizado destinado ao programa do leite no Estado de Alagoas.** Ciência e Tecnologia de Alimento, Campinas, 28(1): p -230, jan.-mar. 2008

SANTOS, M.V.; OLIVEIRA, C.A.F.; AUGUSTO, L.F.B.; AQUINO, A.A. **Atividade lipolítica do leite com células somáticas ajustadas para diferentes níveis.** Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, Belo Horizonte, vol.59, n.4, ago.2007.

SILVA, P.H.F. **Leite: Aspectos de Composição e Propriedades.** Revista Química Nova na Escola. Juiz de Fora – MG, N° 6 nov., 1997.

SOUZA, M. R., RODRIGUES, R., FONSECA, L. M., CERQUEIRA, M. M. O. P. **Pasteurização do leite.** Caderno Técnico da Escola de Veterinária UFMG, n. 13, p.85-93, 1995.

VARNAM, A.H.; SUTHERLAND, J.P. 1994. **Bebidas: tecnologia, química y microbiología** (série alimentos básicos 2). Acribia. Zaragoza. 487 p.

VENTURINI, K.S.; SARCINELLI, M. F.; SILVA, L. C. **Obtenção do Leite**. Boletim técnico (Projeto de Extensão) – Universidade Federal do Espírito Santo, Espírito Santo, 2007.

VILELA, D. **A importância econômica, social e nutricional do leite**. Revista Batavo n° 111, dezembro 2001/janeiro 2002. Disponível em <<http://www.nupel.uem.br/importancia.pdf>> Acesso em 24 de outubro de 2011.

ZAFFARI, C.; ROCHA, C.; PLASZEZESKI, F.; GASPAROTTO, P. H. **Contagem de Bactérias Mesófilas aeróbicas em Amostragem de Leite “in natura”**. Disponível em <<http://www.revista.ulbrajp.edu.br/seer/inicia/ojs/include/getdoc.php?id=628&article=219&mode=pdf>> Acesso em 10 de outubro de 2011.

ZENEBO, O.; PASCUET, N.S.; TIGLEA, P. **Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos**. 4ª ed. -1ª ed. Digital. São Paulo, SP: Instituto Adolfo Lutz, 2008.

ZOCCAL, R.; GOMES, A.T.; CARVALHO, L.A. **O agronegócio do leite: análise e perspectivas**. Congresso Brasileiro de Economia e Sociologia Rural, 42, Cuiabá, 2005.

ZOCHE, F.; BERSOT, L.S.; BARCELLOS, V.C.; PARANHOS, J.K.; ROSA, S.T.M.; RAYMUNDO, N.K. Qualidade Microbiológica e Físico-Química do Leite Pasteurizado Produzido na Região Oeste do Paraná. **Archives of Veterinary Science**. Curitiba. v.7, n.2, 2002.

WALSTRA, P. & JENNESS, R. **Dairy chemistry and physics**. Nova York: John Wiley & Sons, 1984.

APÊNDICE A - Carta de Autorização e Desenvolvimento de Pesquisa



INDÚSTRIA E COMÉRCIO DE PRODUTOS
DE LEITE BOMBARDELLI LTDA.

www.lactobom.com.br

AUTORIZAÇÃO DE DESENVOLVIMENTO DE PESQUISA

Ponta Grossa, 12 de Setembro de 2011.

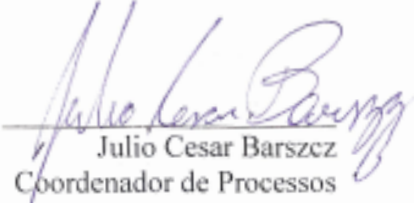
À COORDENAÇÃO DO CURSO DE TECNOLOGIA DE ALIMENTOS –UTFPR/PG

Prezados Senhores:

Declaro que tenho conhecimento do teor do Projeto de Pesquisa intitulado “Avaliação da qualidade físico-química e microbiológica do leite pasteurizado, submetido às condições de transporte e armazenamento, relacionando a vida útil do produto” proposto pelas acadêmicas Andressa Derbis e Priscila Arcoverde Wosiack, sob a orientação do Prof. Júlio César Stiimer, a ser desenvolvido para o Curso Superior de Tecnologia de Alimentos, da Universidade Tecnológica Federal de Ponta Grossa - UTFPR.

O referido projeto será desenvolvido no laboratório da Indústria e Comércio de Produtos de Leite Bombardelli Ltda -Lactobom, o qual irá arcar com todos os materiais e custos necessários para realizá-lo.

E por ser verdade firmo:


Julio Cesar Barszcz
Coordenador de Processos