

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
CIÊNCIA E TECNOLOGIA DOS ALIMENTOS**

**AVALIAÇÃO DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA E
FÍSICO-QUÍMICA DO LEITE UHT INTEGRAL
COMERCIALIZADO NO RIO GRANDE DO SUL**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Ana Paula de Souza Rezer

Santa Maria, RS, Brasil

2010

**AVALIAÇÃO DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA E
FÍSICO-QUÍMICA DO LEITE UHT INTEGRAL
COMERCIALIZADO NO RIO GRANDE DO SUL**

por

Ana Paula de Souza Rezer

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciência e Tecnologia dos Alimentos**

Orientador: Prof^a. Dr^a. Neila S. P. S. Richards

Santa Maria, RS, Brasil

2010

**Universidade Federal de Santa Maria
Centro de Ciências Rurais
Programa de Pós-Graduação em
Ciência e Tecnologia dos Alimentos**

A Comissão Examinadora, Abaixo Assinada,
Aprova a Dissertação de Mestrado

**AVALIAÇÃO DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA E FÍSICO-
QUÍMICA DO LEITE UHT INTEGRAL COMERCIALIZADO NO RIO
GRANDE DO SUL**

elaborada por
Ana Paula de Souza Rezer

Como requisito parcial para a obtenção do grau de
Mestre em Ciência e Tecnologia dos Alimentos

COMISSÃO EXAMINADORA

Neila Silvia Pereira dos Santos Richards, Dr^a
(Presidente/Orientador)

Liris Kindlein Dr^a (UFRGS)

Cristiano Ragagnin Menezes Dr (UFSM)

Santa Maria, 31 de março de 2010

*Dedico este trabalho a meus filhos
Pedro e Mariana pelo amor e
força que me transmitem em um
simples olhar.*

AGRADECIMENTOS

A Deus, sempre presente em minha vida, guiando meus passos. Sem sua força o caminho seria mais árduo.

A minha querida mãe (*in memoriam*), que lutou muito para dar educação aos filhos, a quem devo o que sou hoje: “sempre vou te amar”.

A meu marido Narciso, que sempre me dá força para seguir em frente, obrigada pela compreensão e carinho.

A minha irmã Jaqueline, que mesmo distante, sempre me encoraja e me ajuda com seus conselhos sempre valiosos.

A Prof^a Neila Richards pela orientação e disponibilidade em me ajudar na execução deste trabalho.

A minha colega de longa data, Liana Milani, que além da amizade esteve sempre presente me ajudando em todos os momentos que precisei.

A Paula Mattanna, com certeza mais um anjo que me ajudou, obrigada pela amizade e pela ajuda na realização das análises.

A minha colega e amiga Carline Paródia, que sempre esteve presente me incentivando durante todo este percurso.

A Rosane Noal, pela amizade e pela ajuda na realização das análises.

Um agradecimento especial ao Prof. Edgar Durante que conseguiu minha lotação no DTCA, meu muito obrigado, sem sua ajuda não estaria no departamento e seria muito difícil realizar este sonho (Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos).

Aos meus queridos colegas Marialene e Moisés, obrigada pela amizade e disponibilidade em todos os momentos.

A Marta e Carlos, pelo carinho e amizade, sempre com um conselho ou uma palavra de incentivo.

A Lia pela amizade e disponibilidade em tirar nossas dúvidas quanto a prazos de matrículas, relatórios semestrais entre outros.

Aos Alunos Bolsistas ou Estagiários que estiveram sempre presentes: Suelem, Sabrina, Monique, Caroline, Natieli, Marina, Carlos, Diego, Mateus, Camila, Melisse, Fernanda, e outros tantos, eles com certeza fazem parte desta conquista.

A chefia do Departamento de Ciência e Tecnologia dos Alimentos, prof. Ernesto Kubota e Profª Luiza Hecktheuer pelo apoio durante estes dois anos.

Ao Prof Nelcindo Terra por ter me ajudado desde o início da minha vida profissional, despertando em mim a vontade de ser uma pesquisadora na área de alimentos.

Aos demais Colegas, Professores e Funcionários do Departamento de Ciência e Tecnologia dos Alimentos que colaboraram direta ou indiretamente na realização deste trabalho.

A Profª Liris Kindlein e ao prof Cristiano Ragagnin Menezes por terem aceitado o convite para fazer parte da Banca de defesa e pelas valorosas contribuições.

A Universidade Federal de Santa Maria e ao Curso de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos pela oportunidade de realizar este trabalho.

RESUMO

Dissertação de Mestrado
Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos
Universidade Federal de Santa Maria

AValiação DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA E FÍSICO-QUÍMICA DO LEITE UHT INTEGRAL COMERCIALIZADO NO RIO GRANDE DO SUL

AUTORA: ANA PAULA DE SOUZA REZER
ORIENTADORA: NEILA SILVIA PEREIRA DOS SANTOS RICHARDS

Data e Local da Defesa: Santa Maria, 31 de Março de 2010.

Este trabalho teve por objetivo avaliar a qualidade microbiológica e físico-química do leite UHT integral comercializado no Rio Grande do Sul, durante o inverno e primavera de 2009. Foram coletadas quatro amostras de 10 marcas comerciais, em cada período, destas, duas foram destinadas as análises microbiológicas e duas às análises físico-químicas. Para as análises microbiológicas, as amostras foram incubadas em suas embalagens originais a $36\pm 1^{\circ}\text{C}$ por 7 dias, antes do início das análises. Estas análises foram realizadas em duplicata, sendo analisado o número mais provável de coliformes a 35°C e 45°C , contagem de bolores e leveduras, contagem de estafilococos coagulase positiva, pesquisa de *Salmonella*, contagem padrão de microrganismos mesófilos aeróbios estritos e facultativos viáveis, contagem de microrganismos mesófilos aeróbios viáveis capazes de causar alteração em produtos lácteos líquidos UHT, presença de *Bacillus sporothermodurans* e a contagem de esporos de termófilos aeróbios totais e “Flat-Sour” que evidenciam a presença de *Geobacillus stearothermophilus* e *Bacillus coagulans*. As análises físico-químicas de gordura, acidez, extrato seco desengordurado, proteína, densidade, crioscopia e o perfil de ácidos graxos foram realizados em triplicata. Os resultados foram analisados utilizando o programa SPSS versão 13.0, para as análises microbiológicas foram calculadas as médias e o desvio padrão e as análises físico-químicas foram submetidas à análise de variância (ANOVA) e a diferença analisada pelo teste de Tukey, nível de 5% de probabilidade. As dez marcas de leites UHT integral analisadas apresentaram-se dentro dos padrões microbiológicos vigentes, para os microrganismos estudados. Os parâmetros físico-químicos avaliados atenderam parcialmente as especificações do Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Leite UHT, apresentando 60% e 80% dos resultados em desacordo no inverno e na primavera, respectivamente. Houve prevalência dos ácidos graxos mirístico, palmítico, esteárico e oléico com diferenças significativas entre as marcas. Pode-se concluir que, apesar de alguns parâmetros físico-químicos não terem atendido aos padrões de identidade e qualidade, as dez marcas de leite UHT integral comercializado no Rio Grande do Sul atendem as especificações quanto à qualidade microbiológica, demonstrando ser um produto seguro do ponto de vista sanitário.

Palavras-chave: físico-química, leite UHT, microbiológica, perfil de ácidos graxos

ABSTRACT

Master Degree Dissertation
Graduate Program in Science and Food Technology
Federal University of Santa Maria, RS, Brazil

EVALUATION OF THE MICROBIOLOGICAL AND PHYSICOCHEMICAL QUALITY OF UHT WHOLE MILK COMMERCIALIZED IN THE STATE OF RIO GRANDE DO SUL

AUTHOR: ANA PAULA DE SOUZA REZER
ADVISER: NEILA SILVIA PEREIRA DOS SANTOS RICHARDS
Place and Date to Defense: Santa Maria, March 31th, 2010

The objective of this work was to evaluate the microbiological and physicochemical quality of UHT whole milk commercialized in the State of Rio Grande do Sul, during the winter and spring of 2009. Four samples of 10 marketed marks were collected in each period. Of these, two of each mark was destined for microbiological analyses and the others two for physicochemical analyses. For the microbiological analyses, the samples were incubated in their original packages at $36\pm 1^{\circ}\text{C}$ for 7 days before the analyses were carried out. These analyses, that were carried out in duplicate, were: Most likely number of coliforms at 35°C and 45°C ; moulds and leavenings count; staphylococcus coagulase positive count; Salmonella research; viable strict and facultative aerobic mesophyle microorganisms standard count; viable aerobic mesophyle microorganisms capable of causing alteration in UHT liquid lactic products count; *Bacillus sporothermodurans* presence; total aerobic thermophyle and “Flat-Sour” spore count, that evidences the presence of *Geobacillus stearothermophilus* and *Bacillus coagulans*. The physicochemical analyses, carried out in triplicates were: fat, acidity, non fat dry extract, protein, density, cryoscopy and fatty acids profile. The results were analyzed using the SPSS program, version 13.0. For the microbiological analyses, the averages and the mean deviations were obtained. The physicochemical analyses were submitted to the analysis of variance (ANOVA) and the differences were analyzed by the Tukey test with a level of 5% of probability. The ten marks of UHT whole milk analyzed were within the standard microbiological values in effect for the microorganisms that were analyzed. The physicochemical parameter were evaluated partially attended the specifications of the Technical Regulation of Identity and Quality of UHT Milk in relation to that in disagreement 60% in winter and 80% in spring. A prevalence of miristic, palmitic, stearic and oleic fatty acids was observed with significant differences between the marks. It can be concluded that, although some physicochemical parameters were not in accordance with the standards of identity and quality, the ten UHT whole milk commercialized in the State of Rio Grande do Sul attends the specifications related to the microbiological quality, indicating that it is a safe product from the sanitary point of view.

Key words: fatty acids profile, microbiological, physicochemical, UHT Milk.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	09
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	11
2.1 Crescimento da demanda mundial do leite	11
2.2 Composição e valor nutricional do leite	13
2.3 Microbiota contaminante do leite e produtos lácteos	15
2.3.1 Microrganismos indicadores.....	16
2.3.1.1 Contagem total de microrganismos.....	17
2.3.1.2 Grupo Coliformes.....	17
2.3.1.3 Bolores e Leveduras.....	18
2.3.2 Microrganismos patogênicos.....	18
2.3.2.1 Estafilococos Coagulase Positiva.....	18
2.3.2.2 <i>Salmonella</i>	19
2.3.3 Microrganismos formadores de esporos.....	19
2.3.3.1 <i>Bacillus sporothermodurans</i>	19
2.3.3.2 Esporos de Termófilos Aeróbios Totais e “Flat-Sour”.....	20
2.4 Leite UHT	21
2.4.1 Métodos de aquecimento direto.....	22
2.4.2 Métodos de aquecimento indireto.....	22
3. MANUSCRITOS	23
3.1 Manuscrito1: Avaliação da qualidade microbiológica do leite UHT integral comercializado no Rio Grande do Sul	23
3.2 Manuscrito 2: Avaliação da qualidade físico-química do leite UHT integral comercializado no Rio Grande do Sul	38
4. DISCUSSÃO GERAL	55
5. CONCLUSÕES	57
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	59
7. ANEXO 1	68

1. INTRODUÇÃO

De acordo com o Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA) artigo 475 "*entende-se por leite, sem outra especificação, o produto oriundo da ordenha completa, e ininterrupta, em condições de higiene, de vacas sadias, bem alimentadas e descansadas. O leite de outros animais deve denominar-se segundo a espécie de que proceda*" (BRASIL, 1980).

O leite é um alimento de grande importância na alimentação, devido ao seu elevado valor nutritivo, como fonte de proteínas, lipídios, carboidratos, minerais e vitaminas, sendo considerado um ótimo substrato para o crescimento de vários grupos de microrganismos desejáveis e indesejáveis (SOUZA et al., 1995). A contaminação microbiológica na indústria de alimentos representa um sério perigo para a saúde do consumidor e acarreta grandes prejuízos econômicos. Os laticínios, pela própria matéria-prima que utilizam, são particularmente suscetíveis a essa contaminação. A qualidade do leite é uma constante preocupação para técnicos e autoridades ligadas à área de saúde, principalmente pelo risco de veiculação de microrganismos relacionados com surtos de doenças de origem alimentar (SILVA et al., 2008).

Além de seu valor nutricional e sua importância no crescimento dos mamíferos, o leite é um dos principais alimentos mundialmente consumidos, sendo bem aceito por praticamente todas as faixas etárias. O consumo de leite e de derivados lácteos cresce consistentemente em todo o mundo, inclusive no Brasil e, por isso, o leite tem impacto na economia em nível mundial (PEDRAS, 2007).

O consumo de leite submetido ao tratamento de Ultra Alta Temperatura (UAT ou UHT em inglês *ultra high temperature*) cresce a cada ano, pela facilidade que o consumidor encontra em estocar este produto por até quatro meses em temperatura ambiente, adicionado ao seu custo benefício. Porém o leite submetido ao tratamento UHT não sofre esterilização total sendo a qualidade da matéria-prima utilizada um pré-requisito para obtenção de leite com qualidade sanitária (BIZARI; PRATA; RABELO, 2003).

Segundo Iturrino et al. (1996), apenas o processo industrial não poderia esterilizar o leite, uma vez que a presença de esporos altamente resistentes ao calor está diretamente relacionada com as precárias condições de obtenção do leite *in natura*, como também a sanidade do rebanho. Logo, as condições higiênico-sanitárias adotadas durante a obtenção e

transporte da matéria-prima são fatores de fundamental importância para a qualidade do leite UHT (PRATA, 1998).

Os microrganismos esporulados isolados com maior frequência no leite cru pertencem ao gênero *Bacillus* (MARTIN, 1981; CRIELLY et al., 1994; ITURRINO et al., 1996). A presença deles no leite UHT também tem sido atribuída a falhas no sistema de envase das embalagens e à má higienização do equipamento de esterilização, que podem servir como fontes de contaminação (WESTHOFF & DOUGHERTY, 1981).

A qualidade do leite é definida por suas características físico-químicas e de higiene. Os teores de proteína, gordura, lactose, sais minerais e vitaminas determinam a qualidade da composição, que, por sua vez, é influenciada pela alimentação, manejo, genética e raça do animal. Fatores ligados a cada animal, como o período de lactação, número de ordenha diária, além de fatores ambientais como temperatura e estação do ano também são importantes para a composição físico-química (TRONCO, 2008).

Considerando o exposto, o presente trabalho avaliou a qualidade microbiológica e físico-química do leite UHT integral comercializado no Rio Grande do Sul, durante o inverno e primavera de 2009, comparando-os com os padrões estabelecidos pelo Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Leite UHT (BRASIL, 1996), a fim de fornecer informações aos consumidores e gerar dados sobre a identidade e a qualidade deste produto. Tendo como objetivos específicos:

- Pesquisa de microrganismos indicadores de contaminação, bem como de alguns patógenos.
- Avaliação da eficiência do processo UHT dos leites analisados pela:
 - Presença de *Bacillus sporothermodurans*.
 - Contagem de Esporos de Termófilos Aeróbios Totais e “Flat-Sour” que evidenciam a presença de *Geobacillus stearothermophilus* e *Bacillus coagulans*.
- Verificação da qualidade físico-química.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Crescimento da demanda mundial de leite

O Brasil é considerado o sexto maior produtor de leite do mundo, como pode ser visto na Tabela 1, com uma produção de 26,7 milhões de toneladas métricas, ficando atrás da União Européia, que se configura como o maior produtor mundial com 132,6 milhões de toneladas métricas, dos Estados Unidos, com 84,1 milhões de toneladas métricas, da Índia, com 42,8 milhões de toneladas métricas, China, com 35,2 milhões de toneladas métricas e Rússia, com 32,2 milhões de toneladas métricas (USDA, 2009).

Tabela1. Produção de leite fluido e principais países selecionados no período de 2003 a 2009

Países	Produção de Leite Fluido em Mil Toneladas						
	2003	2004	2005	2006	2007	2008 (p)	2009 (p1)
Canadá	7.734	7.905	7.806	8.041	8.212	8.270	8.250
México	9.784	9.874	9.855	10.051	10.657	10.814	11.030
Estados Unidos	77.289	77.535	80.254	82.462	84.188	86.026	86.817
Argentina	7.950	9.250	9.500	10.200	9.550	10.000	10.400
Brasil	22.860	23.317	24.250	25.230	26.750	28.890	30.335
União Européia (27) (1)	135.069	133.969	134.672	132.206	132.604	134.000	134.400
Rússia	33.000	32.000	32.000	31.100	32.200	32.500	32.830
Ucrânia	13.400	13.787	13.423	12.890	11.997	11.070	10.350
Índia	36.500	37.500	37.520	41.000	42.890	44.100	45.140
China	17.463	22.606	27.534	31.934	35.252	36.700	38.630
Japão	8.400	8.329	8.285	8.137	8.007	7.990	8.010
Austrália (2)	10.636	10.377	10.429	10.395	9.870	9.500	9.675
Nova Zelândia (3)	14.346	15.000	14.500	15.200	15.640	15.141	16.350
Total dos países selecionados	394.431	401.449	410.028	418.846	427.817	435.001	442.217

Fonte: USDA (*United States Department of Agriculture*) - *Dairy: World Markets and Trad/ Aug 2009*

(p) Dados preliminares

(p1) Projeção

(1) Baseado nas entregas

(2) Dados referentes ao ano terminado em 30 de junho do ano corrente

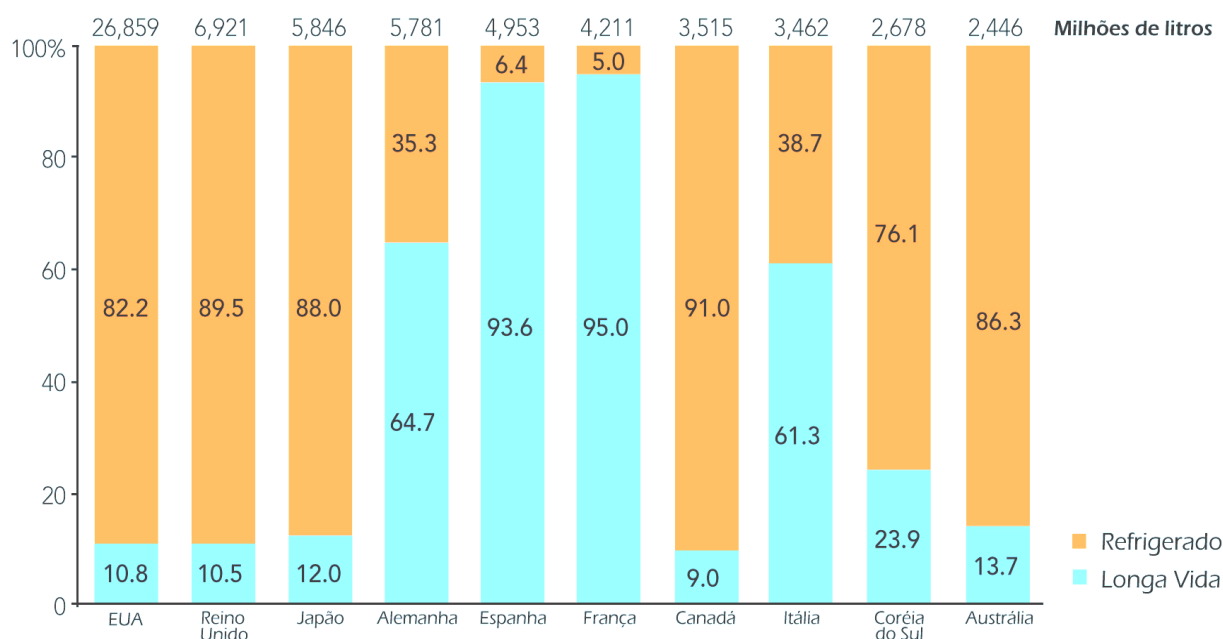
(3) Dados referentes ao ano terminado em 31 de maio do ano corrente.

Em relação à participação do produto leite e derivados na balança comercial do país, pode-se dizer que, durante muitos anos o Brasil foi considerado um tradicional importador de produtos lácteos, uma vez que não era auto-suficiente na produção de leite. Esta situação somente foi modificada a partir de 2004, quando as importações de produtos lácteos passaram a ser substituídas pelas exportações, as quais se tornaram crescentes. Assim,

a balança comercial brasileira de produtos lácteos passou de um déficit de US\$ 359,8 milhões em 2000, para o primeiro superávit de US\$ 11,4 milhões em 2004 (NOGUEIRA, 2007).

Em 2007, as exportações brasileiras de produtos lácteos totalizaram US\$ 273,3 milhões, enquanto as importações totalizaram US\$ 150,8 milhões, o que gerou uma receita de US\$ 122,4 milhões, considerada um recorde histórico para o setor (PEDRA; PIGATTO; APARECIDA, 2008).

Segundo os dados da Tetra Pack (2009), Figura 1, os países desenvolvidos continuam divididos quanto à preferência por produtos refrigerados ou longa vida (UHT). Eles evoluíram em dois grupos: aqueles com cadeias de distribuição refrigerada (EUA, Reino Unido, Japão, Canadá, Austrália) e aqueles com cadeias de distribuição longa vida (Alemanha, Espanha, França e Itália).



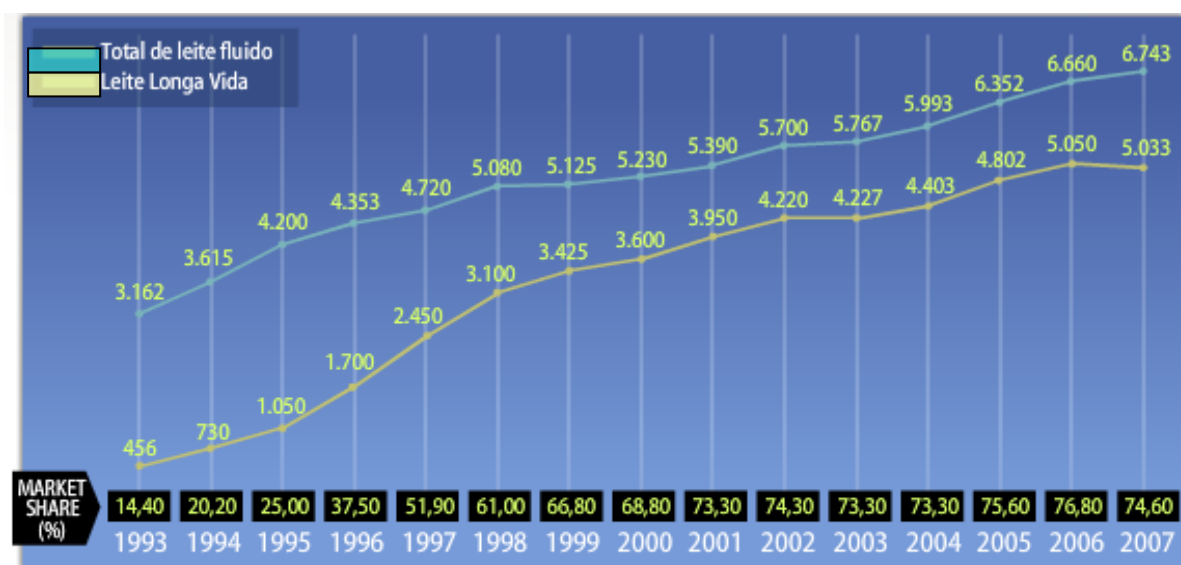
Fonte: Tetra Pack, 2009

Figura 1. Preferência de consumo por leite refrigerado ou leite longa vida nos países desenvolvidos

Os mercados de refrigerados tendem a ter uma característica em comum, a criação do gado leiteiro e a produção são descentralizadas para que a cadeia de distribuição possam rapidamente transportar o leite das fazendas para os produtores, varejistas e aos consumidores antes que deteriore. Nos mercados onde era mais difícil transportar o leite por meio de uma cadeia de distribuição refrigerada, o leite UHT foi visto como uma alternativa prática e viável.

Este aumento também foi impulsionado pela ascensão de hipermercados e pelo aumento de mulheres no mercado de trabalho.

De acordo com as estatísticas da Associação Brasileira da Indústria de Leite Longa Vida (ABLV) as vendas internas do leite longa vida (UHT) no Brasil aumentaram muito de 1992 a 2007 como pode ser observado na Figura 2, tendo uma participação do mercado de 74,60% no ano de 2007 do total de leite fluido. Estes dados confirmam o citado por vários autores, que relataram o crescimento do consumo do leite UHT nos últimos anos, devido à praticidade de conservação e uso (SOUZA, 2004; ROSSI-JUNIOR, 2006; MARTINS, 2008; JOÃO, 2008).



Fonte: ABLV

Leite Longa Vida: Inclui desnatados, enriquecidos, especiais, bebidas lácteas, composto alimentar e esterilizados (não inclui aromatizados)

Total Leite Fluido: Leite Longa Vida e Leite Pasteurizado (inclui tipos A, B, C, desnatados, especiais, reidratado e bebidas lácteas - não inclui aromatizados)

Figura 2: Comportamento das vendas internas de leite longa vida e total de leite fluido no Brasil no período de 1993 a 2007.

2.2 Composição e valor nutricional do leite

O leite tem sido utilizado na alimentação humana como fonte de proteínas, gordura, energia e outros constituintes essenciais desde os primórdios da civilização do homem (TRONCO, 2008). De acordo com Pinheiro & Mosquim (1991), a importância do leite, sob o

ponto de vista nutricional se deve a qualidade de suas proteínas, ao seu teor elevado em cálcio, fósforo, magnésio e às vitaminas A, riboflavina e niacina, entre outras.

A composição do leite varia quanto ao volume produzido e quanto à relação entre os seus diversos componentes. Estas variações dependem de diversos fatores, entre eles: espécie, raça, individualidade animal, intervalo entre ordenhas, período de lactação, influência das estações, alimentação, temperatura, doenças, idade do animal e condições climáticas (PINHEIRO & MOSQUIM, 1991).

Segundo Tronco (2008), o leite é composto de 87,3% de água e 12,7% de sólidos totais. Os sólidos totais são divididos em 3,6% de gordura e 9,1% de extrato seco desengordurado. Este compreende as proteínas (3,3%), a lactose (4,9%) e os minerais (0,9%).

A água constitui, em volume, o principal componente do leite, influenciando sensivelmente na densidade do leite. Como causa da variação da percentagem de água na composição do leite salientam-se os seguintes fatores: a raça do gado, tempo de lactação e a alimentação (BEHMER, 1984).

A gordura do leite é formada na maior parte de triglicerídeos (97 a 98%), alguns esteróis, ácidos graxos livres e fosfolípidios, que contribuem para melhorar a palatabilidade do leite, são responsáveis por um grande número de ácidos graxos essenciais e pelo valor calórico do leite (1g de gordura fornece 9 calorias). Além disso, as vitaminas lipossolúveis (A, D, E e K) presentes na gordura tem grande valor nutricional (TRONCO, 2008).

As proteínas do leite são divididas em caseínas (α_1 , α_2 , β , γ e κ) e proteínas do soro (albumina do soro, α -lactoalbumina, β -lactoglobulina, imunoglobulinas e proteose-peptonas), aproximadamente 80% do nitrogênio protéico do leite constituem-se de nitrogênio caseínico e 20% por não-caseínico. As proteínas do soro em conjunto com a caseína formam uma das mais importantes fontes de nitrogênio da nutrição humana. A elevada qualidade da proteína do leite deve-se a diversidade de aminoácidos essenciais (TRONCO, 2008).

A lactose é um dissacarídeo característico do leite, sendo considerado quase que exclusivo deste produto. Este carboidrato é obtido pela reação (ligação covalente) de alfa ou da beta-glucose com a beta-galactose. A sua concentração é relativamente constante variando de 4,4 a 5,2% (PINHEIRO & MOSQUIM, 1991). De acordo com Tronco (2008), a utilização da lactose pela microflora intestinal resulta em uma diminuição do pH e uma prevalência de uma microflora lactofílica, inibindo o crescimento das bactérias putrefativas e patogênicas no

intestino. A diminuição do pH intestinal pela lactose também ajuda a aumentar a absorção do cálcio no organismo.

O leite contém todos os minerais biologicamente importantes, necessários à nutrição, em níveis elevados: cloro, fósforo, potássio, sódio, cálcio e magnésio e, em pequenas concentrações: o alumínio, bromo, zinco, manganês e ferro (PINHEIRO & MOSQUIM, 1991). Sendo uma fonte de cálcio e fósforo que são indispensáveis na formação e manutenção dos ossos e dentes (ANTUNES & PACHECO, 2009).

As pesquisas nas últimas décadas têm demonstrado que o leite e os produtos lácteos podem ajudar a reduzir o risco de desordens crônicas, como a osteoporose, hipertensão, excesso de peso, gordura corporal e câncer de cólon (HUTH; DIRIENZO; MILLER, 2006).

A ingestão adequada de cálcio através do consumo diário de leite e/ou produtos lácteos reduzem o risco de fraturas, decorrentes da osteoporose (HUTH, DIRIENZO; MILLER, 2006). Pesquisas tem demonstrado que a presença de cálcio e potássio no leite ajuda a regular a pressão arterial, assim como peptídeos específicos associados à caseína e a proteínas do soro (TAUZIN; MICLO; GAILLARD; 2002; FITZGERALD; MURRAY; WALSH, 2004). Estudos clínicos também demonstram que o cálcio proveniente de leite e de produtos lácteos contribui para a perda de peso e de gordura corporal. Em indivíduos com risco de câncer de cólon, o aumento do cálcio da dieta reduz a hiperproliferação do epitélio do cólon. Por estas razões o relatório do *Dietary Guidelines Advisory Committee*, de 2005, recomenda que os americanos aumentem o consumo de leite e seus derivados para três porções ao dia (HUTH, DIRIENZO; MILLER, 2006).

2.3 Microbiota contaminante do leite e produtos lácteos

O leite é um substrato ideal para o desenvolvimento de diversos grupos de microrganismos capazes de provocar alterações significativas, como bactérias, leveduras, fungos e vírus. A contaminação pode apresentar-se por duas vias: a endógena (no caso de animais doentes) e a exógena (a partir da saída do úbere) (TRONCO, 2008).

Quando o leite é proveniente de animais saudáveis e obtido em condições higiênicas adequadas, o número de microrganismos é baixo, sendo predominantes *Micrococcus*, *Streptococcus* e *Corynebacterium*, além de lactobacilos saprófitos do úbere e canais

galactóforos. Em condições adequadas de manipulação e armazenamento predomina a flora Gram-positiva (JAY, 1994).

A microbiota contaminante do leite normalmente é composta de bactérias, enquanto as leveduras e fungos são mais raros de serem encontrados (OLIVEIRA, 2005). Dentre os contaminantes estão as bactérias lácticas, coliformes, *Micrococcus*, *Staphylococcus*, *Enterococcus*, *Bacillus*, esporos de *Clostridium* e bastonetes Gram-negativos (JAY, 1994).

Segundo Lange & Brito (2005), os processos industriais utilizados para o controle das populações microbianas do leite, como o tratamento térmico e a refrigeração, não são suficientes para assegurar a qualidade do leite e de seus derivados, pois nenhum dos processos tem a capacidade de corrigir os problemas da matéria-prima. Na Tabela 2 estão relacionadas algumas alterações no leite e os microrganismos envolvidos.

Tabela 2. Alterações do leite ocasionadas por microrganismos

Produto	Alteração	Microrganismo
L E I T E	1. Acidificação e coagulação	Bactérias ácido-láticas (<i>Lactococcus</i> , <i>Lactobacillus</i>) <i>Micrococcus</i> , <i>Microbacterium</i> , Coliformes, Leveduras.
	2. Produção de gás	Coliformes e leveduras.
	3. Gelificação e sabor amargo	<i>Bacillus</i> , <i>Clostridium</i> , <i>Proteus</i> , <i>Aeromonas</i> , <i>Pseudomonas</i> .
	4. Coagulação com acidificação (sem gás) “Flat sour”	<i>Bacillus coagulans</i> , <i>Bacillus stearothermophilus</i> var. <i>Calidolactis</i> , <i>Bacillus subtilis</i> .
	5. Aumento da viscosidade	<i>Enterobacter aerogenes</i> , <i>Alcaligenes viscolatis</i> , <i>Leuconostoc mesenteroides</i> , <i>Bacillus</i> sp., <i>E.coli</i> , <i>Micrococcus</i>
	6. Alteração da cor	Rosada: <i>Propionibacterium</i> e <i>Lactobacillus</i> ; Vermelho: <i>Serratia marcescens</i> ; Azul: <i>Pseudomonas syncianae</i> ; Amarela: <i>Pseudomonas synxantha</i> .
	7. Produção de odores e sabores variados	Odor de mofo: Bolores; frutas: leveduras; estábulo: coliformes; peixe: <i>Aeromonas</i> ; terra: <i>Actionomyces</i> ; malte: <i>Lactococcus lactis</i> biovar. <i>maltigenes</i> ; medicamento: <i>Enterobacter aerogenes</i> .

Fonte: Lange & Brito, 2005 (adaptado)

2.3.1 Microrganismos Indicadores

Os microrganismos indicadores são considerados de grande significância na avaliação da segurança e qualidade microbiológicas de alimentos. A identificação é possível através de alguns métodos de análises, onde a amostragem e a metodologia utilizada são importantes para um diagnóstico preciso e confiável perante aos padrões exigidos pelos órgãos oficiais.

2.3.1.1 Contagem total de microrganismos mesófilos aeróbios

A contagem total de microrganismos mesófilos tem sido utilizada como indicador de qualidade sanitária dos alimentos, possibilitando avaliar o tempo de vida útil e conservação. De acordo com Franco & Landgraf (2008), mesmo que não haja patógenos, um número elevado de microrganismos indica que o alimento é insalubre (com exceção aos alimentos fermentados) e que houve condição para patógenos se multiplicarem, já que todas as bactérias patogênicas de origem alimentar são mesófilas.

No leite cru, a contagem total de microrganismos pode variar de 10^3 UFC/mL até valores maiores de 10^6 UFC/mL (TRONCO, 2008).

2.3.1.2 Grupo coliformes

A utilização do grupo coliforme como indicador das condições higiênico-sanitárias em alimentos é prática estabelecida há anos. Dos agentes bacterianos, os coliformes são internacionalmente considerados microrganismos indicadores da segurança microbiológica de alimentos (BONASSI, 1984; FRAZIER & WESTHOFF, 1993).

Os coliformes a 35°C, segundo Silva et al. (2007), incluem as bactérias na forma de bastonetes Gram-negativos, não esporogênicos, aeróbios ou aeróbios facultativos, capazes de fermentar a lactose com produção de gás, em 24 a 48 horas a 35°C.

Os coliformes a 45°C são capazes de fermentar a lactose com produção de gás, em 24h a 44,5-45,5°C. Esse grupo inclui três gêneros: *Escherichia*, *Enterobacter* e *Klebsiella*, sendo as cepas de *Enterobacter* e *Klebsiella* de origem não fecal. Por isso, que a *E. coli* é a mais conhecida, sendo seu habitat natural o trato gastrointestinal, e a indicadora de contaminação fecal em alimentos processados (SILVA et al., 2007).

Segundo Tronco (2008), as provas para a determinação de coliformes em leite cru, permitem avaliar o grau de contaminação do próprio leite, já em produtos ou leites pasteurizados, estas provas servem para detectar falhas na pasteurização ou recontaminação, porque as bactérias deste grupo não resistem às temperaturas utilizadas na pasteurização.

2.3.1.3 Bolores e leveduras

Bolores e leveduras são importantes indicadores da eficiência de práticas de sanitização de equipamentos e utensílios durante a produção e beneficiamento de alimentos. Além disso, podem estar associados à produção de metabólitos tóxicos e deterioração de alimentos (FRANCO & LANDGRAF, 2008).

Segundo Evangelista (1994), as leveduras podem alterar muitos produtos lácteos, como queijos e cremes destinados a fabricação de manteiga, por sua ação sobre a lactose, resultando e na produção de CO₂, originando um mau odor pelo processo fermentativo.

2.3.2 Microrganismos patogênicos em alimentos

Os microrganismos patogênicos, uma vez presentes no alimento, podem causar doenças microbianas de origem alimentar que podem ser subdivididas em duas categorias: as intoxicações e infecções alimentares.

2.3.3.1 Estafilococos coagulase positiva

A resolução RDC Nº 12, de 2 de janeiro de 2001, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), que dispõe sobre o Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos, determinou a substituição do termo *Staphylococcus aureus* por Estafilococos coagulase positiva (BRASIL, 2001).

Os estafilococos são bactérias mesófilas que se desenvolvem na faixa de 7° C a 47° C, as enterotoxinas são produzidas em condições ideais. A incubação de um surto é de trinta minutos a oito horas, sendo a média de duas a quatro horas após a ingestão do alimento (FRANCO & LANDGRAF, 2004).

Guimarães & Andrade (2008), em estudo de revisão sobre *S. aureus* concluíram que os produtos lácteos podem ser facilmente contaminados por estes microrganismos, o que, dependendo da carga bacteriana, pode causar intoxicação de origem alimentar. De acordo com Franco & Landgraf (2008), o homem e os animais domésticos são portadores destes microrganismos, um exemplo típico é a mastite estafilocócica do gado leiteiro, caso o leite contaminado seja consumido ou utilizado para preparação de queijos, haverá grandes chances de ocorrer intoxicação.

2.3.1.5 *Salmonella*

O gênero *Salmonella* pertence à família *Enterobacteriaceae* e compreendem os bacilos Gram- negativos não produtores de esporos. São anaeróbios facultativos, produzem gás a partir de glicose (exceto *S. typhi*) e são capazes de utilizar o citrato como fonte de carbono. A maioria é móvel, apresentando flagelos peritríquios, exceções feitas à *S. pullorum* e à *S. paratyphi* (FRANCO & LANDGRAF, 2004).

Alguns casos foram associados ao consumo de leite cru, mariscos e vegetais crus (JAY, 1994).

2.3.3 Microrganismos formadores de esporos termoresistentes

Os microrganismos produtores de esporos termo resistentes são uma preocupação nos produtos processados por UHT, por este ser um processo que não garante a esterilidade total. As alterações do leite UHT ocorrem ocasionalmente devido ao crescimento de bactérias esporuladas, principalmente *Bacillus stearothermophilus*, *Bacillus sporothermodurans* e *B. subtilis*, cujos esporos ou sobreviveram ao tratamento ou contaminaram o leite processado (MURRAY & STEWART, 1978). Pelo fato do leite por ser um alimento com pH superior a 4,5 (com baixa acidez), o processo térmico recomendado seria aquele suficiente para ocasionar 12 reduções na população do microrganismo patogênico *Clostridium botulinum*. Isto requer um aquecimento a 121°C por 3 minutos, medido no ponto frio do sistema, ou um processo HTST (Alta Temperatura/Curto Tempo em inglês *High Temperature/Short Time*) a 131°C por 18 segundos. No entanto, para inativar os esporos do *Bacillus stearothermophilus* seriam necessários aplicar 121°C por 4 minutos. Enquanto que, para o *Bacillus sporothermodurans*, estudos evidenciaram a necessidade de tratamentos térmicos superiores (LEWIS & HEPPEL, 2000).

2.3.3.1 *Bacillus sporothermodurans*

O *Bacillus sporothermodurans* foi identificado por Pettersson et al. (1996) em leite UHT. Apresenta-se como longos bastonetes (> 30 µm) Gram-positivos, flagelados, com cerca de 0,7 µm de diâmetro, quando cultivado em meio de cultura artificial, e entre 3,4 a 8,2 mm, quando isolado primariamente do leite. São aeróbios estritos e formam colônias tênues de 3 mm de diâmetro após cultivo por 2 dias a 37°C, citam o fato de *Bacillus sporothermodurans* não crescer bem em ágar padrão, porém desenvolver-se bem em meio de infusão de cérebro e coração. Conforme relatado no trabalho de Pettersson et al. (1996), são bactérias produtores

de esporos altamente resistentes ao calor, não são patogênicas, podem se multiplicar no leite até atingir 10^5 UFC.mL⁻¹ após estocagem a 30°C por 5 dias.

Klijn et al. (1997) determinaram a resistência dos esporos de *Bacillus sporothermodurans*, confirmando sua excepcional resistência a 140°C (D140 = 3,4 a 7,9 segundos). A resistência microbiana ao calor é afetada por vários fatores, tais como temperatura de esporulação, pH e composição do meio de esporulação e tipo de tratamento térmico. Esses esporos têm uma enorme resistência à temperatura do processamento UHT e apresentam padrão cinético diferente dos esporos de *Geobacillus stearothermophilus*, que apresenta D140 = 0,9 segundos.

Os *Bacillus sporothermodurans* podem contribuir para reduzir a qualidade do leite e derivados lácteos por serem resistentes ao processo UHT, sendo que a germinação dos esporos no produto pode levar o leite a ser considerado inaceitável para o consumo (VAEREWIJK et al., 2001).

Dependendo do tipo de injeção de calor aplicado ao produto (direta ou indireta) no processo de esterilização e do tipo de embalagem, a deterioração de leite UHT por *Bacillus sporothermodurans* pode ser observada por uma leve alteração na cor (rosa), de sabor (*off-flavour*) e alterações de propriedades físico-químicas no produto (KLIJN et al., 1997).

2.3.3.2 Esporos de Termófilos Aeróbios Totais e “Flat-Sour” que evidenciam a presença de *Geobacillus stearothermophilus* e *Bacillus coagulans*.

Esporos são estruturas de resistência das bactérias, que permanecem em estado de latência, entretanto, em condições favoráveis, podem germinar dando origem a novas formas vegetativas. Com relação a temperatura, os *Geobacillus* são classificados como termófilos e o gênero *Bacillus*, embora inclua espécies predominantemente mesófilas, tem espécies termófilas facultativas como *Bacillus coagulans* (SILVA et al., 2007).

Segundo Jay (2000), alimentos com pH > 4,6 como carne, produtos marinhos, leite, alguns vegetais (milho, feijões), misturas de carne e vegetais e outros, podem ser deteriorados pela presença de termófilos *flat-sour* (*Geobacillus stearothermophilus* e *B. coagulans*).

Pettersson et al. (1996) citaram alguns membros do gênero *Bacillus* como: *Bacillus badius*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus polymixa*, *Bacillus liqueniformis* e *Geobacillus setarothermophilus*, que podem eventualmente contaminar o leite UHT após processamento térmico, durante o envase.

2.4 Leite UHT

Segundo a Portaria Nº 146 do Ministério da Agricultura, Abastecimento e Reforma Agrária (BRASIL, 1996), o leite UAT (UHT) é o leite homogeneizado submetido à temperatura de 130 a 150°C por 2 a 4 segundos, mediante processo térmico de fluxo contínuo, imediatamente resfriado à temperatura inferior a 32°C e envasado sob condições assépticas em embalagens esterilizadas e hermeticamente fechadas.

O leite UHT é comumente chamado de leite longa vida ou ultrapasteurizado. De acordo com o método de aquecimento, os sistemas de processamento UHT podem ser classificados em dois tipos: método de aquecimento direto e indireto (TRONCO, 2008). Na Figura 3, estão dispostas as etapas, no fluxograma básico do processo UHT.

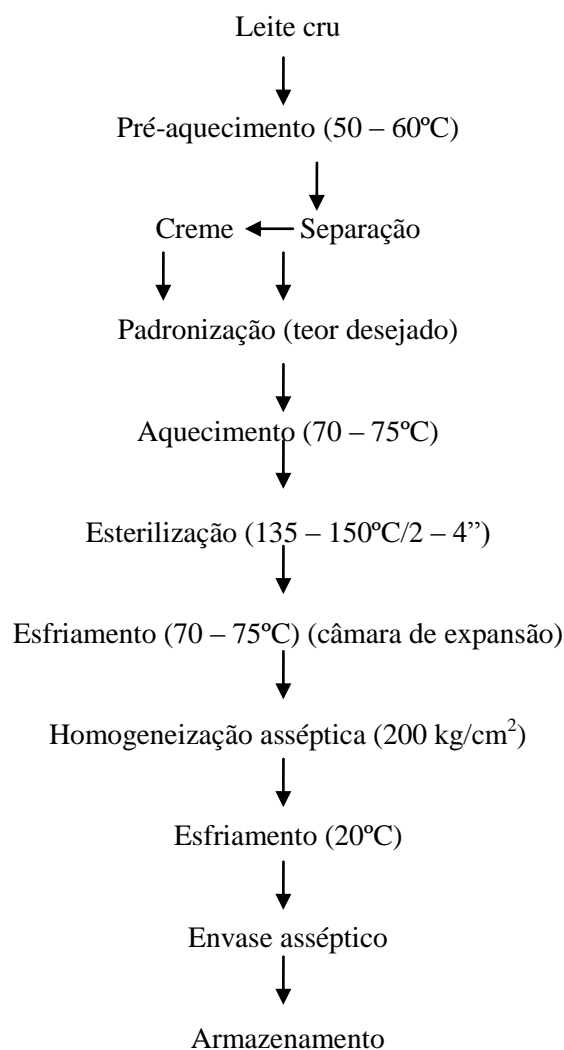


Figura 3. Fluxograma básico do processo UHT (Fonte: TRONCO, 2008).

2.5.1 Método de aquecimento direto

Os métodos diretos utilizados no processamento UHT são por injeção de vapor e infusão de vapor com o uso combinado de pressão elevada e vapor potável. Na injeção, o vapor é injetado na forma de pequenas bolhas em um produto pré-aquecido com pressão elevada, fazendo com que atinja, quase que instantaneamente, uma temperatura de 150 °C. Após o tempo de retenção adequado, o produto é resfriado rapidamente em uma câmara de vácuo, onde o vapor é condensado e removido. Na infusão, o produto é aspergido sobre o vapor de alta pressão em um vaso pressurizado, sendo aquecido entre 142 e 146°C em 3 segundos e mantido mais 3 segundos antes de ser resfriado em câmara de vácuo. O calor perdido durante o processo de resfriamento é utilizado para aquecer o produto que está entrando no processo (FELLOWS, 2006).

2.5.2 Método de aquecimento indireto

No método indireto, o calor é transferido por parte metálica (em placas ou pasteurizadores tubulares), o leite é pré-aquecido no trocador de placas (65 a 75°C), após passa por um homogeneizador, seguindo para seção de esterilização (140 a 145°C) e resfriamento. Alguns equipamentos são providos de desgaseificador que retira o oxigênio dissolvido e odores desagradáveis (TRONCO, 2008).

3. MANUSCRITOS

3.1 Manuscrito 1:

**Avaliação da qualidade microbiológica do leite UHT integral comercializado no
Rio Grande do Sul**

Este manuscrito está em fase final de revisão pelos autores para ser submetido à
Revista Ciência Rural

¹ O manuscrito foi formatado conforme as normas exigidas pela revista (Anexo 1).

**Avaliação da qualidade microbiológica do leite UHT integral comercializado no
Rio Grande do Sul**

**Evaluation of microbiological quality of UHT whole milk commercialized in the State of
Rio Grande do Sul**

Ana Paula de Souza Rezer

RESUMO

Este trabalho teve por objetivo avaliar a qualidade microbiológica de leite UHT integral comercializados no Rio Grande do Sul, durante o inverno e a primavera de 2009. Foram realizadas análises para identificar e quantificar microrganismos indicadores de contaminação e patógenos, além da verificação da eficiência do processo UHT através das análises de microrganismos termoresistentes formadores de esporos. Através das análises de contagem padrão de microrganismos mesófilos aeróbios estritos e facultativos viáveis, contagem de microrganismos mesófilos aeróbios viáveis capazes de causar alteração em produtos lácteos líquidos UHT, presença de *Bacillus sporothermodurans*, contagem de esporos de termófilos aeróbios totais e “*Flat-sour*”, contagem de bolores e leveduras, Número Mais Provável (NMP) de coliformes a 35°C e a 45°C, Estafilococos coagulase positiva e pesquisa de *Salmonella* em 25 mL. Os leites UHT integrais comercializados no Rio Grande do Sul, e analisados neste estudo, estão dentro dos padrões microbiológicos vigentes, para os microrganismos estudados.

Palavras-chave: *Bacillus sporothermodurans*, qualidade microbiológica, leite, UHT

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the microbiological quality of UHT whole milk marketed in the state of Rio Grande do Sul, during the winter and spring seasons of 2009. Analyses were carried out to identify and quantify microorganisms as indicators of contamination and other pathogens and, also, to verify the efficiency of the UHT process by analyzing spore forming, thermo-resistant microorganisms. After analyzing the samples with respect to the “standard count of viable strict and facultative aerobic mesophile microorganisms” the “count of viable aerobic mesophile microorganisms” capable of causing alterations in UHT liquid lactic products, “presence of *Bacillus sporothermodurans*”, “total count of aerobic thermophile spores” and “Flat-sour”, “count of moulds and yeasts”, “Most Probable Number (MPN) of coliforms at 35°C and 45°C”, “coagulase-positive Staphylococci” and “search of *Salmonella* in 25 mL”, the conclusion was that the UHT whole milks marketed in the state of Rio Grande do Sul, and analyzed in this study, were inside the local legal standards, considering the microorganisms studied.

Keywords: milk, UHT, microbiological quality, *Bacillus sporothermodurans*

INTRODUÇÃO

A qualidade do leite é uma constante preocupação para técnicos e autoridades ligadas à área de saúde, devido sua composição constituir um excelente meio para o desenvolvimento de uma grande variedade de microrganismos, principalmente pelo risco de veiculação de microrganismos relacionados à toxinfecções alimentares (SILVA et al., 2008). Há várias

doenças de origem bacteriana que podem ser transmitidas pelo leite, dentre elas estão à tuberculose, salmonelose, brucelose, listeriose e intoxicação estafilocócica (FRANCO & LANDGRAF, 2008).

O consumidor está muito mais atento à qualidade dos alimentos que adquire e a praticidade de uso e conservação, por esse motivo o consumo do leite obtido pelo processo de ultra alta temperatura (UAT ou UHT em inglês *ultra high temperature*) tem aumentado a cada ano, por se tratar de um produto que não necessita ser armazenado sob refrigeração antes de aberto e por ter um prazo de validade longo, em torno de 4 meses.

Para a obtenção do leite UHT, este deve ser homogeneizado e submetido, durante 2 a 4 segundos, a uma temperatura de 130° C, mediante processo de fluxo contínuo, resfriado a 32° C e envasado em condições assépticas em embalagens estéreis, hermeticamente fechadas (BRASIL, 1996). Este processo não garante uma esterilização, apesar de eliminar todas as formas vegetativas de microrganismos, podem ainda permanecer as formas esporuladas, altamente resistentes ao calor (SCHOCKEN-ITURRIO et al., 1996). Os microrganismos produtores de esporos termo-resistentes são uma preocupação nos produtos processados por UHT, por este ser um processo que não garante a esterilidade total. As alterações do leite UHT ocorrem ocasionalmente devido ao crescimento de bactérias esporuladas, principalmente *Bacillus stearothermophilus*, *Bacillus sporothermodurans* e *B. subtilis*, cujos esporos ou sobreviveram ao tratamento ou contaminaram o leite processado (MURRAY & STEWART, 1978).

De acordo com a RDC Nº 12 de 2 de janeiro de 2001, o leite UHT integral, após 7 dias de incubação a 35-37°C em embalagem fechada, não deve apresentar microrganismos patogênicos e causadores de alterações físicas, químicas e organolépticas do produto, em condições normais de armazenamento (BRASIL, 2001). Muitos pesquisadores já relataram a ocorrência de microrganismos em leite UHT, como altas contagens de mesófilos aeróbios,

Bacillus sporothermodurans, *Bacillus stearothermophilus*, Estafilococos coagulase positiva, entre outros (ZACARCHENCO et al., 2000; BUSSATA et al., 2005; VIDAL-MARTINZ et al., 2005; YOO et al., 2006; VITORRI, et al., 2008).

Segundo WESTHOFF & DOUGHERTY (1981), a presença de microrganismos no leite UHT tem sido atribuída a falhas no sistema de envase das embalagens e a má higienização dos equipamentos utilizados no tratamento térmico, que podem servir de fontes de contaminação. Mediante o exposto e devido estudos recentes evidenciarem a presença de microrganismos no leite UHT, este trabalho teve por objetivo avaliar a qualidade microbiológica de leites UHT integral comercializados no Rio Grande do Sul durante o inverno e a primavera de 2009. Foram realizadas análises para identificar e quantificar microrganismos indicadores de contaminação e patógenos envolvidos em surtos de toxinfecção, além da verificação da eficiência do processo UHT através das análises de microrganismos termoresistentes formadores de esporos (presença de *Bacillus sporothermodurans* e a contagem de esporos de termófilos aeróbios totais e “Flat-Sour” que evidenciam a presença de *Bacillus stearothermophilus* e *Bacillus coagulans*).

MATERIAL E MÉTODOS

Coleta das amostras e análises microbiológicas: foram escolhidas dez marcas de leite UHT integral em estabelecimentos comerciais no município de Porto Alegre, sendo coletadas duas amostras, de diferentes lotes, de cada marca. A amostragem foi realizada em dois momentos, no inverno e na primavera de 2009, totalizando 40 amostras que foram analisadas em duplicatas (n=80). As amostras foram codificadas por números de 1 a 10.

As análises foram realizadas no Laboratório de Microbiologia de Alimentos do Departamento de Tecnologia e Ciência dos Alimentos da Universidade Federal de Santa

Maria. Todas as amostras foram incubadas em estufa a 37°C por sete dias em suas embalagens originais, após o período de incubação foram realizadas as análises (BRASIL, 2001).

A contagem padrão de microrganismos mesófilos aeróbios estritos e facultativos viáveis, contagem de microrganismos mesófilos aeróbios viáveis capazes de causar alteração em produtos lácteos líquidos UHT, presença de *Bacillus sporothermodurans*, contagem de bolores e leveduras, Número Mais Provável (NMP) de coliformes a 35°C e a 45°C, Estafilococos coagulase positiva e pesquisa de *Salmonella* em 25 mL foram realizadas seguindo os métodos analíticos oficiais para análises microbiológicas descritos na Instrução Normativa Nº. 62 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2003).

A contagem de esporos de termófilos aeróbios totais e “*Flat-sour*” foi realizada utilizando a metodologia da *American Public Health Association* (APHA) para análise de alimentos descrita nos Capítulos 24 e 25 da 4ª Edição do *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods* (EVANDRO & WALLS, 2001, OLSON & SORRELLS, 2001). O objetivo desta é a quantificação de *Geobacillus stearothermophilus* e *Bacillus coagulans*, “*Flat-sour*” típicos que produzem ácido suficiente para provocar viragem ácida (halo amarelo) no ágar dextrose triptona (DTA).

Para a análise estatística dos dados foi calculada a média aritmética e o desvio padrão das contagens em UFC/mL (unidade formadora de colônias por mililitros), utilizando o programa estatístico SPSS 13.0 (NORUSIS, 2005).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com as normas da RDC Nº 12, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), o leite UHT, após incubação em embalagem fechada a 35-37°C durante sete dias,

não deve conter microrganismos patogênicos e causadores de alterações físicas, químicas e organolépticas (BRASIL, 2001). Nenhuma das amostras de leite UHT submetidas à análise apresentou alterações visíveis como estufamento, vazamento, coagulação, após incubação, podendo ser analisado seu conteúdo, como esta descrito nos métodos analíticos oficiais para análises microbiológicas (BRASIL, 2003).

Nas Tabelas 1 e 2 estão as médias das contagens de microrganismos mesófilos aeróbios viáveis capazes de causar alteração em produtos lácteos líquidos UHT expressas em UFC.mL⁻¹ dos leites UHT integral analisados durante o inverno e a primavera de 2009, respectivamente. Todas as amostras estão em conformidade com a legislação, nenhuma das colônias suspeitas para *Bacillus sporothermodurans* foram positivas na coloração de Gram. COELHO et al. (2001) analisando leite UHT integral comercializados em Belo Horizonte – MG, verificaram que 62,5% não atenderam aos padrões estabelecidos pela legislação quanto aos aspectos microbiológicos, sendo as bactérias do gênero *Bacillus* os principais microrganismos isolados. ZACARCHENCO et al. (2000) analisaram 100 amostras de leites UHT brasileiros e encontraram contagens acima do limite tolerável em 45% das amostras, também isolaram trezentas culturas e destas, 24 cepas tiveram o DNA cromossômico pelo método PCR-RAPD confirmado como de *Bacillus sporothermodurans*. BUSATTA et al. (2005), determinaram a presença da bactéria em 54,5% das amostras analisadas. NEUMANN et al. (2008), analisaram 511 amostras de leite UHT, de 11 diferentes marcas comercializadas no estado do RS e 90,2% do total de leites UHT analisados, independente da marca, estavam de acordo com o padrão legal vigente. De acordo com PETERSSON et al. (1996), o tratamento empregado no leite UHT deveria resultar na destruição de quaisquer células vegetativas e endósporos presentes na matéria-prima crua. Os trabalhos realizados, até o momento, revelam que a bactéria não é patogênica, mas o conceito dado poderá mudar com estudos posteriores, uma vez que não se conhece muito sobre o seu metabolismo.

As contagens de esporos termófilos aeróbios totais e “*Flat-sour*”, nos dois períodos avaliados, foram $<1,0 \text{ UFC.mL}^{-1}$ em 100% das amostras analisadas, demonstrando que o tratamento térmico utilizado nas amostras foi suficiente para inativação dos esporos dos *Bacillus stearothermophilus*. A presença de *Bacillus stearothermophilus* em leite UHT foi relatada por PETTERSSON et al. (1996) em estudo, relacionando a presença destes microrganismos com falhas após processo térmico durante o envase, o que não foi evidenciado no presente estudo.

Verificam-se nas Tabelas 1 e 2, que as médias das contagens padrão de microrganismos mesófilos aeróbios estritos facultativos viáveis expressas em UFC.mL^{-1} no inverno e na primavera de 2009, respectivamente, estão dentro dos limites previstos na legislação (BRASIL, 1996). Observam-se valores maiores nas contagens durante a primavera (Tabela 2), sendo o maior valor de $6,5 \times 10^1 \text{ UFC.mL}^{-1}$, dentro do permitido de $1,0 \times 10^2 \text{ UFC.mL}^{-1}$ (BRASIL, 1996), estes resultados podem estar relacionados com a temperatura ambiente, durante a primavera no Rio Grande do Sul, ser próxima a temperatura ideal de crescimento dos mesófilos. VIDAL-MARTINS et al. (2005) analisaram 110 amostras de leite UHT integral, de 11 diferentes marcas adquiridas aleatoriamente no comércio de São José do Rio Preto, SP, 85 (78,3%) amostras apresentaram-se dentro do padrão regulamentar (inferior a 100 microrganismos mesófilos/mL) estabelecido, e 25 (22,7%) amostras de nove marcas apresentaram população de microrganismos fora do padrão, representando 81,8% das marcas fora dos padrões. REZENDE et al. (2000) verificaram que das 120 amostras de leite UHT de Ribeirão Preto-SP analisadas, 36 (30,0%) não atenderam ao padrão estabelecido pela legislação brasileira.

Os bolores e leveduras são importantes indicadores da eficiência de práticas higiênico-sanitárias dos equipamentos e utensílios durante a produção e beneficiamento de alimentos (BELOTI et al., 2001). Além disso, podem estar associados à produção de metabólitos tóxicos

e deterioração de alimentos (FRANCO & LANDGRAF, 2008). Nas Tabelas 1 e 2 estão expressos os resultados das contagens de bolores e leveduras nos dois períodos avaliados, os valores variaram de <1 a $2,5 \text{ UFC.mL}^{-1}$, cabe ressaltar que não existem limites previstos na legislação. CITADIN et al. (2009) analisaram leite cru de 31 propriedades rurais de Marechal Cândido Rondon, PR e obtiveram-se valores entre $5,5 \times 10^1$ e $1,2 \times 10^5 \text{ UFC.mL}^{-1}$, constatando-se que 64,51% das amostras apresentaram contagem de bolores e leveduras acima de 100 UFC.mL^{-1} , apesar da inexistência de padrão microbiológico para a enumeração de bolores e leveduras, estes valores indicam higiene insatisfatória durante o processo de ordenha e deficiências dos equipamentos de ordenha.

Outro grupo analisado neste estudo foram os coliformes que são considerados indicadores de qualidade microbiológica, por incluírem microrganismos patogênicos (FRANCO & LANDGRAF, 2008). Todas as amostras apresentaram NMP de coliformes a 35°C e a 45°C $<0,3 \text{ NMP/mL}$, indicando que o processamento UHT dos leites analisados foi eficiente. RESENDE et al. (2000) também não encontraram coliformes em 120 amostras de leite UHT integral analisadas em Ribeirão Preto-SP. JOÃO et al. (2008) encontraram *Escherichia coli*, microrganismo do grupo dos coliformes a 45°C , em 4% das amostras analisadas de leite UHT comercializado em Lages-SC.

Os resultados das contagens de *Estafilococcus coagulase positiva* foram $<1,0 \text{ UFC.mL}^{-1}$ para todas as amostras analisadas. Dados semelhantes foram encontrados por SAEKI & MATSUMOTO (2009) que analisaram leite UHT em Bandeirinhas - PR e por VITTORI et al. (2008), que analisaram leite UHT caprino em Nova Friburgo-RJ. Para a pesquisa de *Salmonella sp*, 100% das amostras apresentaram ausência em 25mL. Estes microrganismos, potencialmente patogênicos ao homem, são muitas vezes encontrados no leite cru, quando obtido em más condições de higiene, sendo muito importante o controle desde a obtenção do leite até seu processamento final, para a garantia de produtos de boa qualidade. Portanto, há

necessidade de investimentos contínuos em Boas Práticas de Fabricação para prevenção da contaminação e do crescimento microbiano na cadeia produtiva do leite.

CONCLUSÕES

As dez marcas de leites UHT integral comercializados no Rio Grande do Sul e analisados neste estudo estão dentro dos padrões microbiológicos vigentes para os microrganismos estudados, nos dois períodos avaliados. Porém, é extremamente importante que o leite cru seja obtido em condições higiênico-sanitárias adequadas para diminuir a contaminação inicial e gerar produtos lácteos de boa qualidade.

REFERÊNCIAS

BELOTI, V. et al. Utilização de bolores e leveduras como indicadores de contaminação na cadeia produtiva de leite em propriedades da região de Londrina, Paraná. **XXI Congresso Brasileiro de Microbiologia**. Foz do Iguaçu-PR, p.377, 2001.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Abastecimento e Reforma Agrária. Portaria Nº 146 de 07mar. 1996. Regulamentos técnicos de identidade e qualidade dos produtos lácteos. **Diário Oficial da União**, Brasília, 11 de mar. 1996. Seção 1. p.3978 - 3986.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Regulamento técnico sobre os padrões microbiológicos para alimentos. **Resolução RDC Nº 12, de 2 de janeiro de 2001 (on line)**. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/12>>. Acesso em 28 out. 2008.

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Instrução Normativa Nº. 51 de 18 de setembro de 2002. Regulamento Técnico de Produção, Identidade e Qualidade do Leite Tipo C. **Diário Oficial da União**, Brasília, 20 de setembro de 2002, Seção 1, p.13.

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. Publicado no **Diário Oficial da União** de 18 de setembro de 2003.

BUSATTA, C. et al. Ocorrência de *Bacillus sporothermodurans* em leite UAT integral e desnatado. **Ciencia e Tecnologia de Alimentos**, v. 25, n.3, p.408-411, 2005.

CITADIN, A.S. et al. Qualidade microbiológica de leite cru refrigerado e fatores associados **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.10, n.1, p.52-59, 2009. Disponível em <<http://www.rbspa.ufba.br/index.php/rbspa/article/viewFile/943/762>>. Acesso em 27/01/2009

COELHO, P.S. et al. Avaliação da qualidade microbiológica do leite UAT integral comercializado em Belo Horizonte. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.53, n.2, p.1-9, 2001.

EVANCHO, G.M.; WALLS, I. Aciduric flat sours sporeformers. In: DOWNES, F.P., and K. ITO (ed.), **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods**, 4th ed. American Public Health Association, Washington, D. C., 2001. Chapter 24, p. 239-244.

FRANCO, B.D.G.M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos Alimentos**. São Paulo: Atheneu, 182p., 2008.

JOÃO, J.H. et al. Diagnóstico da Qualidade do Leite UAT comercializado em Lages- SC. **Indústria e Laticínios**, p.50-54, jul/ago. 2008.

LEWIS, M.; HEPPELL, N. **Continuous thermal processing of food**. Aspen Publication, 456p., 2000.

MURRAY, J.G.; STEWART, D.B. Advances in the microbiology of milk and dairy products. **Journal of the Society of Dairy Technology**, v.31, p.28-35, 1978.

NEUMANN, F.D. et al. Ocorrência de *Bacillus sporothermodurans* em leite UHT comercializado no estado do Rio Grande do Sul / Brasil. I Congresso Sul Brasileiro de

Avicultura, Suinocultura e Laticínios, Bento Gonçalves. AVISULAT 2008, Disponível em <http://www.avisulat.com.br/trabalhos/premio_laticinios.pdf> Acesso 26/07/2009.

NORUSIS, M. SPSS 13.0: **Guide to Data Analysis**. Upper Saddle River, NJ: Prentice-Hall, 2005.

OLSON, K.E.; SORRELLS, K.M. Thermophilic flat sour sporeformers. In: In: DOWNES, F. P., and K. ITO (ed.), **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods**, 4th ed. American Public Health Association, Washington, D. C., Chapter 25, p.245-248, 2001.

PETTERSSON, B. et al. *Bacillus sporothermodurans*, a new species producing highly heat resistant endospores. **International Journal of Systematic Bacteriology**, v.46, p.759-764, 1996.

REZENDE, N.C.M. et al. Ocorrência de microrganismos indicadores em leite UHT (ultra-high-temperature) integral. **Revista Brasileira de Ciências Veterinária**, v.7, p.58-60, 2000.

REZENDE-LAGO, N.C.M. et al. Ocorrência de *Bacillus cereus* em leite integral e capacidade enterotoxigênica das cepas isoladas. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.59, n.6, p.1563-1569, 2007.

SAEKI, E.K.; MATSUMOTO, L.S. Contaminação bacteriana de leite pasteurizado e UHT comercializado no município de Bandeirantes – PR **Anais do XVIII EAIC**, Londrina, 2009. Disponível em <<http://www.eaic.uel.br/artigos/CD/3402.pdf>>. Acesso: 14/01/2010.

SCHOCKEN-ITURRINO, R.P. et al. Ocorrência de bactérias esporuladas dos gêneros *Bacillus* e *Clostridium* em amostras de leite longa vida. **Higiene Alimentar**, v.10, n.42, p.25-27, 1996.

SILVA, A.P. et al. Qualidade sanitária de queijo prato, comercializado em supermercados de pequeno e médio porte na cidade de Recife, PE. **Higiene Alimentar**, v.22, n.158, p.92-97, jan/fev.2008.

VIDAL-MARTINS, A.M.C. et al. Microrganismos heterotróficos mesófilos e bactérias do grupo de *Bacillus cereus* em leite integral submetido a ultra alta temperatura. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.57, p.396-400, 2005.

VITTORI, J. et al. Qualidade microbiológica de leite UHT caprino: pesquisa de bactérias dos gêneros *Staphylococcus*, *Bacillus* e *Clostridium*. **Ciência Rural**, v.38, p.761-765, 2008.

WESTHOFF, D.C.; DOUGHERTY, S.L. Characterization of *Bacillus* species isolated from spoiled ultrahigh temperature processed milk. **Journal Dairy Science**, v.64, p.572–578, 1981.

YOO, J. et al. The influence of milk composition on the growth of *Bacillus stearothermophilus*. **Journal of Food Engineering**. v.77, p.96-102, 2006

ZACARCHENCO, P.B.et al. Ocorrência de *Bacillus sporothermodurans* em leite UAT/UHT brasileiro e a influência do tratamento térmico. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.20, n.3, p.51-57, 2000. Disponível em: <

[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-20612000000300014&lng=en&nrm=iso&tlng=pt)

[20612000000300014&lng=en&nrm=iso&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-20612000000300014&lng=en&nrm=iso&tlng=pt)> Acesso em: 19/11/2008. doi:

10.1590/S0101-20612000000300014

Tabela 1. Médias e desvios padrão (UFC.mL⁻¹*) das análises microbiológicas realizadas em leites UHT integral comercializadas no Rio Grande do Sul durante o Inverno de 2009.

Marca	C.M.M. (UHT)**	C.P.M.***	C.B.L.****
1	1,0 ± 0,82	<1,0 ± 1,00	2,5 ± 2,88
2	1,0 ± 1,41	<1,0 ± 0,57	1,0 ± 1,54
3	1,0 ± 1,41	<1,0 ± 0,50	<1,0 ± 0,00
4	<1,0 ± 0,00	<1,0 ± 0,50	<1,0 ± 0,00
5	1,0 ± 0,82	2,0 ± 1,83	2,0 ± 1,15
6	<1,0 ± 0,50	<1,0 ± 0,00	1,0 ± 1,15
7	2,3 ± 3,82	<1,0 ± 0,50	2,5 ± 0,58
8	<1,0 ± 0,00	<1,0 ± 0,00	1,5 ± 0,58
9	<1,0 ± 0,00	<1,0 ± 0,00	1,3 ± 2,50
10	<1,0 ± 0,00	<1,0 ± 0,50	1,5 ± 0,58

*UFC.mL⁻¹ (Unidade Formadora de Colônia por mililitros)

**C.M.M. - Contagem de microrganismos mesófilos aeróbios viáveis capazes de causar alteração em produtos lácteos líquidos UHT

***C.P.M. - Contagem padrão de microrganismos mesófilos aeróbios estritos e facultativos viáveis

****C.B.L. - Contagem de Bolores e Leveduras

Tabela 2. Médias e desvio padrão (UFC.mL⁻¹*) das análises microbiológicas realizadas em leites UHT integral comercializadas no Rio Grande do Sul durante a Primavera de 2009.

Marca	C.M.M.**	C.P.M.***	C.B.L.****
1	2,8 ± 5,50	6,3 x 10 ¹ ± 15,00	1,5 ± 0,58
2	<1,0 ± 0,00	6,2 x 10 ¹ ± 26,29	<1,0 ± 0,00
3	2,0 ± 2,83	5,8 x 10 ¹ ± 27,19	1,5 ± 1,73
4	<1,0 ± 0,00	3,5 ± 1,73	<1,0 ± 0,00
5	<1,0 ± 0,00	6,5 x 10 ¹ ± 23,80	1,0 ± 1,15
6	<1,0 ± 0,00	3,5 x 10 ¹ ± 23,80	1,0 ± 1,15
7	<1,0 ± 0,00	<1,0 ± 0,50	<1,0 ± 0,00
8	<1,0 ± 0,00	5,5 ± 0,58	<1,0 ± 0,00
9	1,0 ± 1,41	2,5 ± 2,88	1,5 ± 1,73
10	<1,0 ± 0,00	<1,0 ± 0,00	<1,0 ± 0,00

*UFC.mL⁻¹ (Unidade Formadora de Colônia por mililitros)

**C.M.M. - Contagem de microrganismos mesófilos aeróbios viáveis capazes de causar alteração em produtos lácteos líquidos UHT

***C.P.M. - Contagem padrão de microrganismos mesófilos aeróbios estritos e facultativos viáveis

****C.B.L. – Contagem de Bolores e Leveduras

3.1 Manuscrito 2:

**Avaliação da qualidade físico-química do leite UHT integral comercializado no
Rio Grande do Sul**

Este manuscrito está em fase final de revisão pelos autores para ser submetido à
Revista Ciência Rural

²O manuscrito foi formatado conforme as normas exigidas pela revista (Anexo 1).

Avaliação da qualidade físico-química do leite UHT integral comercializado no Rio Grande do Sul

Evaluation of the physicochemical quality of UHT whole milk commercialized in the State of Rio Grande do Sul

Ana Paula de Souza Rezer

RESUMO

Este trabalho teve por objetivo avaliar a qualidade físico-química dos leites UHT integral comercializados no Rio Grande do Sul, durante o inverno e a primavera de 2009. Foram coletadas duas amostras de 10 marcas em cada período, totalizando 40 amostras, em que foram analisadas o teor de gordura, proteína, extrato seco desengordurado, acidez, densidade e crioscopia e também o perfil de ácidos graxos das amostras coletadas durante o inverno. Todas as análises foram realizadas em triplicata e os resultados avaliados estatisticamente pelo programa SPSS 13.0 com análise de variância ANOVA e diferença pelo teste de Tukey. Os resultados demonstraram diferenças significativas entre as marcas nos dois períodos avaliados e resultados fora dos padrões estabelecidos pelo regulamento de identidade e qualidade do leite UHT em 60% no inverno e 80% na primavera. O perfil de ácidos graxos demonstrou a prevalência de ácidos graxos mirístico, palmítico, esteárico e oléico, com diferenças significativas destes entre as marcas. Pode-se concluir que o leite UHT analisado não manteve uma qualidade físico-química padronizada.

Palavras Chaves: físico-química, leite, perfil de ácidos graxos, UHT

ABSTRACT

The objective of this work was to evaluate the physicochemical quality of UHT whole milk commercialized in the State of Rio Grande do Sul. Two samples of 10 different marks were collected in the winter and spring of 2009, totalizing 40 samples that were analyzed for fat, non fat dry extract, acidity, protein, density and cryoscopy. The fatty acid profile of the samples collected in winter was also analyzed. All the analyses were carried out in triplicates and statistically analyzed with the SPSS program, version 13.0, with analysis of variance (ANOVA) and the differences were analyzed by the Tukey test. The results of the analyses showed significant differences between the marks in the two evaluated periods and, also, that they were out of the standards established for the regulation of identity and quality of UHT milk in 60% in winter and 80% in spring. A prevalence of Miristic, Palmitic, Stearic and Oleic fatty acids was observed with significant differences between the marks.

Key Words: fatty acid profile, milk, physicochemical, UHT

INTRODUÇÃO

O leite é um líquido branco, opaco, duas vezes mais viscoso que a água, levemente adocicado e de odor fraco. Sua composição varia com a espécie, raça, alimentação, entre outros fatores, tem 87% de água e 13% de substâncias sólidas denominadas Extrato Seco Total (EST), representando a parte nutritiva do leite. Considerado um alimento de grande importância na alimentação pelo seu alto valor nutritivo, fornecendo quase todos os nutrientes

em quantidades significativas e com alta digestibilidade das proteínas, açúcares e gorduras (VALSECHI, 2001).

Segundo TRONCO (2008), diversos estudos confirmaram um sinergismo entre os constituintes do leite, como no caso das proteínas do soro que suplementam a caseína, tornando as proteínas do leite uma das fontes mais importantes de nitrogênio da alimentação humana. A lactose acentua a absorção de cálcio e a utilização das proteínas alimentares. Os lipídeos distribuídos em glóbulos de gordura altamente dispersos facilitam a digestão, não sendo encontrados nesta forma em nenhum outro alimento.

A qualidade do leite é definida por suas características físico-químicas e de higiene. Os teores de proteína, gordura, lactose, sais minerais e vitaminas determinam a qualidade da composição, que, por sua vez, é influenciada pela alimentação, manejo, genética e raça do animal. Fatores ligados a cada animal, como o período de lactação, número de ordenha diária, além de fatores ambientais como temperatura e estação do ano também são importantes para a composição físico-química (TRONCO, 2008). A composição de ácidos graxos, segundo CHILLIARD & FERLAY (2004) também é afetada por estes fatores. De acordo com KONDYLI & KATISIARI (2002), as variações nos teores de ácidos graxos de cadeia curta e média são principalmente causadas pelo período de lactação, enquanto as variações nos ácidos graxos de cadeia longa como palmítico esteárico e oléico são relacionadas à dieta.

O consumo de leite obtido pelo processamento ultra alta temperatura (UAT ou UHT em inglês *ultra high temperature*) teve um alto crescimento nos últimos anos, conforme citado por vários autores, devido à praticidade de conservação e uso. É um produto de fácil estocagem, podendo ser conservado por um longo prazo e por este motivo é também chamado de leite longa vida (SOUZA et al., 2004; ROSSI-JUNIOR, 2006; JOÃO et al., 2008; MARTINS et al., 2008).

Informações sobre a composição e características físico-químicas do leite UHT integral tem sido relatadas por diversos pesquisadores, que evidenciam muitas vezes diferenças acentuadas que podem ocorrer de região para região, demonstrando que existem falhas na padronização dos leites UHT integral comercializados (ANDRIOLI et al., 2001; SOUZA et al., 2004; BERNARDI, et al., 2006; MARTINS et al., 2006; VIEGAS et al., 2006; FERNANDEZ, 2007; JOÃO et al., 2008; MARTINS et al., 2008).

Neste contexto, idealizou-se o presente estudo com o objetivo de avaliar a qualidade físico-química do leite UHT integral comercializado no Rio Grande do Sul, a fim de gerar dados sobre a identidade e qualidade deste produto, utilizando a legislação vigente como padrão e também compará-los com dados obtidos por outros trabalhos.

MATERIAL E MÉTODOS

Coletas das Amostras: foram escolhidas dez marcas de leite UHT integral ao acaso, em estabelecimentos comerciais no município de Porto Alegre, sendo coletadas duas amostras de dois diferentes lotes de cada marca e com data de fabricação inferior a 30 dias. As análises foram realizadas no Laboratório de Físico-Química e na Usina Escola de Laticínios do Departamento de Tecnologia e Ciência dos Alimentos da Universidade Federal de Santa Maria.

O teor de gordura, proteína, acidez, extrato seco desengordurado (ESD), densidade e crioscopia foram realizados em ambas as etapas de coleta, no inverno e na primavera de 2009, totalizando 40 amostras. O perfil dos ácidos graxos foi realizado somente com as amostras coletadas durante o inverno (20 amostras). As amostras foram codificadas por números de 1 a 10 e analisadas em triplicata.

O teor de gordura foi realizado utilizando “Método C” (butirométrico) de lipídios para leite fluido dos métodos analíticos oficiais físico-químicos, para controle de leite e produtos lácteos descritos na Instrução Normativa Nº. 68 (BRASIL, 2006).

Para a determinação da acidez titulável foi utilizado o “Método A” de acidez titulável para leite fluido dos métodos analíticos oficiais físico-químicos, para controle de leite e produtos lácteos descritos na Instrução Normativa Nº. 68 (BRASIL, 2006).

O extrato seco desengordurado (ESD) e a proteína foram determinados por medida direta através do equipamento de ultra-som Lactoscan 90, da Milkotronic Ltd[®].

Para a determinação da Densidade a 15°C foi utilizado o Termolactodensímetro, e o resultado foi expresso em g/mL a 15°C, como descrito nos dos métodos analíticos oficiais físico-químicos, para controle de leite e produtos lácteos da Instrução Normativa Nº. 68 (BRASIL, 2006).

A leitura da Crioscopia (Depressão do Ponto de Congelamento ou Índice Crioscópico) foi realizada utilizando o crioscópio eletrônico ITR[®], de acordo com os métodos analíticos oficiais físico-químicos, para controle de leite e produtos lácteos da Instrução Normativa Nº. 68 (BRASIL, 2006).

Para o perfil de ácidos graxos os lipídios foram extraídos utilizando a metodologia de BLIGH & DYER (1959) e uma alíquota do extrato lipídico foi seca em evaporador rotatório e transesterificado de acordo com metodologia proposta por HARTMAN & LAGO (1973). Os ácidos graxos metilados foram analisados por um cromatógrafo a gás “Agilent Technologies” (HP 6890) equipado com uma coluna capilar Supelco SP-2560 (100 m x 0,25mm x 0,20µm) e detector de ionização de chama (FID). A temperatura do injetor foi fixada 250°C e o gás de arraste foi nitrogênio (1,1 mL/min). Após a injeção (1 µL, razão de separação 50:1), a temperatura do forno foi mantida a 140°C por 5 min e depois ajustada para 240°C a 4°C/min e mantidas a esta temperatura durante 12 min. O padrão de ésteres metílicos de ácidos graxos

FAME 37 (Sigma, Saint Louis, EUA) foram submetidos às mesmas condições e os tempos de retenção foram utilizados para identificar os ácidos graxos. Os resultados foram expressos como porcentagem da área total dos ácidos graxos identificados.

Para a análise estatística foi utilizado o programa estatístico SPSS 13.0 (NORUSIS, 2005). Os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e a diferença analisada pelo teste de Tukey, verificando-se as medidas estatisticamente significativas em nível de 5% de probabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

De acordo com o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite UHT do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 1996), o leite UHT deve atender as seguintes características sensoriais: aspecto líquido, cor branca, odor e sabor característicos, sem sabores nem odores estranhos e as seguintes características físico-químicas para o leite integral: no mínimo 3% de gordura, acidez entre 0,14 e 0,18 g de ácido láctico/100 mL e no mínimo 8,2% de extrato seco desengordurado (ESD).

A gordura contribui para a palatabilidade do leite, além de ser fonte de ácidos graxos essenciais, sendo seu valor nutricional atribuído as vitaminas lipossolúveis A, D, E e K (TRONCO, 2008). Na Tabela 1 são apresentadas as médias das análises do teor de gordura dos leites UHT integral analisados durante o inverno, 100% das amostras estão de acordo com a legislação. Nas análises de leites coletados durante a primavera, Tabela 2, a marca 10 apresentou um valor inferior ao permitido (BRASIL, 1996). Pode-se observar diferença significativa entre as marcas com destaque à marca 4 que teve um valor superior as demais de 3,45 e 3,5% no inverno e primavera, respectivamente. MARTINS et al. (2008) obtiveram resultados semelhantes ao analisarem 30 amostras de leite UHT provenientes de uma indústria

localizada no Estado de São Paulo no que se refere a gordura, 100% das amostras estavam dentro do estabelecido pela legislação brasileira, assim como SOUZA et al. (2004), em estudo no Norte e Noroeste do Estado do Paraná.

Segundo FONSECA & SANTOS (2000), o teste de acidez é comumente utilizado pela indústria leiteira e tem grande valor, uma vez que indica se o leite foi mantido em boas condições de controle para o desenvolvimento dos microrganismos mesófilos. A presença de acidez está correlacionada com o risco de ocorrência de coagulação do leite durante o processamento, já que o leite com maior acidez titulável possui menor estabilidade ao calor. Na Tabela 1 e 2 estão expressos os resultados de acidez nos dois períodos, ambos apresentaram diferenças significativas, sendo que somente uma marca, a de número 9 analisada durante o inverno, está em desacordo com a legislação, com valor de 0,19 g de ácido láctico/100mL de amostra. FERNANDEZ (2007) analisou 15 lotes de leites UHT após 8 dias de fabricação, mantidos a temperatura ambiente e verificou acidez de 16,60°D a 17,40°D.

Analisando os dados do ESD na Tabela 1 (inverno) e referenciando com os padrões estabelecidos na legislação para os leites UHT integral (BRASIL, 1996), os leites das marcas 2; 5; 6; 7; 9 e 10 estão com valores abaixo do permitido, perfazendo um total de 60% fora do padrão. Na Tabela 2 (primavera), analisando o mesmo dado, as marcas 1; 3; 4; 5; 6; 7;9 e 10 também ficaram abaixo do permitido, totalizando 80% das amostras em desacordo, com verificação de diferença significativa entre as marcas nos dois períodos. O ESD analisado por MARTINS et al. (2008), em trabalho já citado anteriormente, foram inferiores ao estabelecido de 8,2% em 100% das amostras. BERNARDI et al. (2006) analisaram leite UHT em Andradina - SP obtiveram resultados dentro dos padrões em 100% das amostras. MARTINS et al. (2008) relacionaram o valor abaixo do permitido do ESD com a crioscopia em que obtiveram resultados variados, afirmando que podem estar relacionados a adição de

água no leite, por falhas no processamento, pois logo após o tratamento UHT direto deve ser retirada a água que condensou durante a injeção de vapor quente ao leite.

Observando os resultados de gordura, ESD e acidez nos dois períodos avaliados na Tabela 1 e 2, pode-se concluir que a coleta das amostras no inverno ou na primavera não interferiram nos resultados já que as médias gerais das análises dos leites avaliados são muito próximas, mesmo existindo diferenças significativas entre as marcas dentro do mesmo período.

Para os demais parâmetros avaliados na Tabela 1 e 2 não foram encontrados padrões na legislação brasileira, por este motivo foi utilizado como fonte de comparação dos resultados de proteína, densidade e crioscopia os padrões para o leite tipo A integral da Portaria Nº 51 do Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Sendo os limites aceitos para proteína: mínimo de 2,9%, densidade: 1028 a 1034g/mL a 15°C e índice crioscópico: máximo $-0,530^{\circ}\text{H}$ (BRASIL, 2002).

Pode-se observar na Tabela 1, que as amostras 1, 5, 6, 7 e 10 tiveram médias inferiores a 2,9% de proteínas, representando 50% das marcas fora dos padrões, enquanto que na Tabela 2, somente a amostra 7 teve valor inferior. Nas mesmas tabelas verifica-se que a média total de proteínas no inverno e primavera foi respectivamente de 2,91% e 2,95%, com os valores que variaram de 2,83% e 3,03%. JOÃO et al. (2008) analisaram 50 amostras de leite UHT integral em Lages –SC, e encontraram uma média de 3,4% para proteínas com valores variando de 2,6 a 5,0%. MARTINS et al. (2006) encontraram valores de proteína abaixo de 2,9% em 57% das amostras, estes resultados diferem de BERNARDI et al. (2006) que obtiveram 100% dentro dos padrões.

A determinação da densidade serve como método de detecção de fraudes no leite no que se refere à desnatação ou a adição de água, apesar de não ser um teste conclusivo, pois leites com alto teor de gordura apresentam-se com valores de densidade menor em virtude da baixa densidade das gorduras (TRONCO, 2008). Pode-se verificar na Tabela 1 que a amostra 9 está em

desacordo com os limites da Instrução Normativa Nº 51 (BRASIL, 2002) e na Tabela 2 as amostras 3 e 4, com percentual fora dos padrões em 10% e 20% respectivamente. JOÃO et al. (2008) verificaram 4 % das amostras de leite UHT analisadas fora do padrão, mas com média geral de 1030g/mL, dentro do permitido.

Todas as marcas apresentaram médias dentro dos padrões para a crioscopia, Tabela 1 e 2. O índice crioscópico pode indicar adulteração do leite, alguns pesquisadores não consideram o ponto de congelamento como uma medida totalmente precisa para indicar adição fraudulenta de água no leite, sendo esta característica influenciada pela fase de lactação, estação do ano, clima, latitude, alimentação e raça (PEREIRA et al., 2000). VIEGAS et al. (2006) encontraram valores fora dos padrões em 10% das amostras analisadas em leite UHT comercializada em Belo Horizonte – MG e ANDRIOLI et al. (2001) observaram valores adequados de crioscopia em 50 amostras de leite UHT integral, comercializado em Juiz de Fora - MG.

A Tabela 3 mostra os valores de área percentual de ácidos graxos saturados (AGS), monoinsaturados (AGMI), poliinsaturados (AGPI) e a relação entre os ácidos graxos insaturados e saturados (AGI/AGS). Observa-se diferença significativa ($p > 0,05$) na maioria dos resultados, com apenas uma exceção, o ácido graxo C12:00 (ácido láurico). Houve uma prevalência dos ácidos graxos mirístico (C14:00), palmítico (C16:00), esteárico (C18:00) e oléico (C18:1n9c). A área percentual do ácido mirístico variou entre as marcas de 8,57 a 11,27%, do ácido palmítico de 32,14 a 36,47%, do ácido esteárico de 12,78 a 14,85% e do ácido oléico de 22,96 a 26,88%. REZER et al. (2009), em estudo comparativo do perfil de ácidos graxos de leites UHT integral de bovino e caprino comercializados no Rio Grande do Sul, também observaram a mesma prevalência e uma média de ácido mirístico de 11,33%, ácido palmítico 31,02%, ácido esteárico 14,99% e do ácido oléico 28,21%. Outros autores confirmaram a predominância destes ácidos graxos com resultados semelhantes em leites e outros produtos lácteos (ARO et al., 1998; ANDRIKOPOULOS et al., 2003; RYHÄNEN et al. 2005; COLLOMB et al. 2006; DESTAILLATS et al., 2007).

Os teores de ácidos graxos dos leites variam intensamente, divergindo de forma significativa entre alguns autores (CHILLIARD & FERLY, 2004; SANZ SAMPELAYO et al., 2007), pois diversas variáveis (raça, processamento, obtenção da amostra, dieta dos animais, entre outras) devem ser levadas em consideração na caracterização cromatográfica do leite. Com relação aos ácidos graxos insaturados, o que apresentou maior nível foi o ácido oléico ((C18:1n9c). Os resultados encontrados neste estudo são semelhantes aos encontrados na literatura para diversos produtos lácteos de origens diferentes (ARO et al., 1998; ANDRIKOPOULOS et al., 2003).

CONCLUSÕES

As marcas de leite UHT integral comercializadas no Rio Grande do Sul e analisadas neste estudo atenderam parcialmente as especificações do Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Leite UHT, quanto aos parâmetros físico-químicos avaliados, apresentando resultados em desacordo com este em 60% no inverno e 80% na primavera. Levando em consideração os outros parâmetros que este regulamento não contempla e comparando-os com o leite pasteurizado tipo A, apenas uma marca 8 (10%) esteve de acordo nos dois períodos avaliados. Houve prevalência dos ácidos graxos mirístico, palmítico, esteárico e oléico com diferenças significativas entre as marcas. Pode-se concluir que o leite UHT analisado não manteve uma qualidade físico-química padronizada, provavelmente em virtude da variabilidade da matéria-prima e do processo.

REFERÊNCIA

ANDRIKOPOULOS, N.K. et al. Evaluation of cholesterol and other nutrient parameters of Greek cheese varieties. **Journal of Food Composition and Analysis**, n.16, v.2, p.155-167, 2003.

ANDRIOLI, A.S. et al. Padrões físico-químicos de identidade do leite “longa vida (UHT) comercializado na cidade de Juiz de Fora (MG). **Revista do instituto Candido Tostes**, v. 56, n.321, p.50-54, 2001.

ARO, A. et al. Trans fatty acids in dairy and meat products from 14 European countries: The TRANSFAIR study. **Journal of Food Composition and Analysis**, n.11, p.150-160, 1998.

BERNARDI, C.M.M. et al. Teste comparativo da qualidade do leite integral comercializado no município de Andradina. **Ciências Agrárias e Saúde. FEA**, Andradina, v.6, p.45-48, 2006.

BLIGH, E.G.; DYER, W.J. A rapid method of total lipid extraction and purification, **Canadian Journal Biochemistry Physiology**, v.37, p.911-917, 1959.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Abastecimento e Reforma Agrária. Portaria Nº 146 de 07mar. 1996. Regulamentos técnicos de identidade e qualidade dos produtos lácteos. **Diário Oficial da União**, Brasília, 11 de mar. 1996. Seção 1. p.3978 - 3986.

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Instrução Normativa Nº. 51 de 18 de setembro de 2002. Regulamento Técnico de Produção, Identidade e Qualidade do Leite Tipo A. **Diário Oficial da União**, Brasília, 20 de setembro de 2002, Seção 1, p.13.

BRASIL. Instrução Normativa Nº 68 de 12 de dezembro de 2006. Métodos analíticos oficiais físico-químicos para controle de leite e produtos lácteos. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 14 de dez. 2006.

CHILLIARD, Y.; FERLAY, A. Dietary lipids and forages interaction on cow and goat milk fatty acid composition and sensory properties. **Reproduction, Nutrition and Development**, v.44, p.467-492, 2004.

COLLOMB, M. et al. Conjugated linoleic acids in milk fat: variation and physiological effects. **International Dairy Journal**. n.16, p.1347-1361, 2006.

DESTAILLATS, F. et al. Comparison of available analytical methods to measure *trans*-octadecenoic acid isomeric profile and content by gas-liquid chromatography in milk fat. **J. Chromatogr. A**. n.1145, p.222-228, 2007.

FERNANDEZ, A.M Efeitos dos níveis de células somáticas sobre a qualidade do leite integral obtido por processo UHT direto. Tese. Faculdade de zootecnia e engenharia de alimentos. Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2007.111p.

FONSECA, L.F.L.; SANTOS, M.V. **Qualidade do leite e controle de mastite**: Lemos Editora, 2000. 175p.

HARTMAN, L.; LAGO, B.C. A rapid preparation of fatty methyl esters from lipids. **Laboratory Practice**, v.22, p.475-477, 1973.

JOÃO, J.H. et al., Diagnóstico da Qualidade do Leite UAT comercializado em Lages- SC. **Indústria e Laticínios**, p.50-54, jul/ago. 2008.

KONDYLI, E; KATSIARI, M.C. Fatty acid composition of raw caprine milk of a native Greek bred during lactation. **International Journal of Dairy Technology**, v.55, n.1, p.57-60, 2002.

MARTINS, F.O. et al. Avaliação da Composição na Qualidade Físico-Química e Ocorrência de Adulterações em Leite UHT. In: Congresso Brasileiro de qualidade de leite, 2, 2006. **Anais eletrônicos...** Disponível em: <<http://www.terraviva.com.br/IICBQL/p043.pdf>>. Acesso em: 19 jan. 2007.

MARTINS, A.M.C.V. et al. Efeito do processamento UAT (Ultra Alta Temperatura) sobre as características físico-químicas do leite. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.28, n.2, p.295-298, abr/jun. 2008.

NORUSIS, M. SPSS 13.0: **Guide to Data Analysis**. Upper Saddle River, NJ: Prentice-Hall, 2005.

PEREIRA, D.B.C. et al. **Físico-química do leite e derivados – Métodos analíticos**. 2. ed., Juiz de Fora: Oficina de Impressão Gráfica e Editora, 2000. 190p.

REZER, A.P.S. et al. Análise do perfil de ácidos graxos de leites UHT comercializados no Rio Grande do Sul – BR. In. XII Congreso CYTAL – AATA. Faculdade de Ciências dos Alimentos, UNER, **Anais em CD-ROM**, Entre Ríos, Argentina, 2009.

ROSSI-JUNIOR, O.D. Estudo das características microbiológicas do leite UAT ao longo de seu processamento. **Arquivos do Instituto de Biologia**. São Paulo, v.73, n.1, p.27-32, jan./mar., 2006.

RYHÄNEN, E.L. et al. Production of conjugated linoleic acid enriched milk and dairy products from cows receiving grass silage supplemented with a cereal-based concentrate containing rapessed oil. **International Dairy Journal**. n.15, p.207-211, 2005.

SANZ SAMPELAYO, M.R. et al. Influence of type of diet on the fat constituents of goat and sheep milk. **Small Ruminant Research**, v.68, p.42-63, 2007.

SOUZA, L.G. et al. Avaliação da composição do leite UHT proveniente de dois laticínios das regiões Norte e Noroeste do Estado do Paraná **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v.26, n.2, 2004.

TRONCO, V.M. **Manual para inspeção da qualidade do leite**. Santa Maria: Editora UFSM, 3º ed., 2008. 203p.

VALSECHI, O.A. **O leite e seus derivados**. Tecnologia de produtos agrícolas de origem animal. Universidade Federal de São Carlos, Araras, 2001 Disponível em

<http://puhrs.campus2.br/~thompson/O%20LEITE%20E%20SEUS%20DERIVADOS.doc>.

Acesso em 23/10/2009.

VIEGAS, R.P. et al. Avaliação da qualidade físico-química do leite UAT desnatado comercializado em Belo Horizonte – MG. **Revista do Instituto Candido Tostes**, v.61 n.351, p.85-88, 2006.

Tabela 1. Médias e desvio padrão das análises físico-químicas em leites UHT integral comercializados no Rio Grande do Sul durante o inverno de 2009.

Marcas	Gordura (%)	Acidez **	ESD*** (%)	Proteína (%)	Densidade ****	Crioscopia (°H)
1	3,03 ^{b*} ± 0,05	0,16 ^{bcd} ± 0,09	8,30 ^b ± 0,01	2,84 ^{d*} ± 0,05	1030,20 ^a ± 0,13	- 0,547 ^a ± 0,00
2	3,03 ^b ± 0,05	0,16 ^{bcd} ± 0,08	7,86 ^h ± 0,01	2,92 ^{bc} ± 0,02	1028,40 ^d ± 0,11	-0,5497 ^a ± 0,00
3	3,03 ^b ± 0,05	0,18 ^{abc} ± 0,01	8,26 ^c ± 0,00	2,95 ^b ± 0,01	1029,90 ^b ± 0,13	-0,550 ^a ± 0,00
4	3,45 ^a ± 0,06	0,16 ^{bcd} ± 0,09	8,42 ^a ± 0,02	3,03 ^a ± 0,03	1029,90 ^b ± 0,11	-0,542 ^b ± 0,00
5	3,03 ^b ± 0,05	0,18 ^{abc} ± 0,02	8,19 ^d ± 0,01	2,88 ^{cd} ± 0,05	1029,90 ^b ± 0,11	-0,550 ^a ± 0,00
6	3,03 ^b ± 0,05	0,15 ^d ± 0,01	7,97 ^g ± 0,00	2,85 ^d ± 0,02	1028,90 ^c ± 0,13	-0,532 ^e ± 0,00
7	3,03 ^b ± 0,05	0,17 ^{bcd} ± 0,07	8,01 ^f ± 0,05	2,89 ^{bcd} ± 0,01	1028,90 ^c ± 0,11	-0,539 ^c ± 0,00
8	3,03 ^b ± 0,05	0,17 ^{bcd} ± 0,00	8,27 ^{bc} ± 0,01	2,90 ^{bcd} ± 0,02	1029,90 ^b ± 0,11	-0,537 ^{cd} ± 0,00
9	3,03 ^b ± 0,05	0,19 ^a ± 0,01	7,98 ^{fg} ± 0,00	2,93 ^{bc} ± 0,01	1027,90 ^e ± 0,11	-0,544 ^b ± 0,00
10	3,01 ^b ± 0,12	0,16 ^{bcd} ± 0,01	8,15 ^e ± 0,01	2,88 ^{cd} ± 0,61	1028,90 ^c ± 0,13	-0,535 ^{de} ± 0,00
MédiaTotal	3,07 ± 0,14	0,16 ± 0,02	8,14 ± 0,17	2,91 ± 0,06	1029,28 ± 0,75	-0,542 ± 0,01
P. 146*****	Mín. 3,00	0,14 a 0,18	Mín. 8,2	-	-	-
I.N. 51*****	Mín. 3,00	0,14 a 0,18	Mín. 8,4	Mín. 2,9	1028 a 1034	-0,530

* médias com letras diferentes na mesma coluna são significativamente diferentes pelo teste de Tukey (P<0,05), n = 6 (n = número de análises).

** g de ácido láctico/100 mL

***Extrato seco desengordurado

**** g/mL a 15°C

***** Portaria Nº 146 (BRASIL, 1996)

***** Instrução Normativa Nº 51 (BRASIL, 2002)

Tabela 2. Médias e desvio padrão das análises físico-químicas em leites UHT integral comercializados no Rio Grande do Sul durante a primavera de 2009.

Marcas	Gordura (%)	Acidez **	ESD (%)	Proteína (%)	Densidade ***	Crioscopia (°H)
1	3,17 ^{b*} ± 0,05	0,16 ^{bc} ± 0,01	7,92 ^b ± 0,10	2,91 ^{def} ± 0,02	1028,15 ^c ± 0,27	-0,540 ^{cd} ± 0,01
2	3,08 ^{bc} ± 0,13	0,16 ^{bc} ± 0,00	8,41 ^a ± 0,66	2,96 ^b ± 0,06	1029,95 ^{ab} ± 2,46	-0,551 ^a ± 0,00
3	3,02 ^{cd} ± 0,04	0,17 ^{abc} ± 0,01	7,86 ^b ± 0,03	2,95 ^{bc} ± 0,02	1027,75 ^c ± 0,16	-0,542 ^{bc} ± 0,01
4	3,50 ^a ± 0,00	0,18 ^a ± 0,01	7,84 ^b ± 0,08	3,01 ^a ± 0,02	1027,60 ^c ± 0,33	-0,540 ^{cd} ± 0,00
5	3,05 ^{bcd} ± 0,06	0,17 ^{abc} ± 0,01	8,06 ^{ab} ± 0,01	2,97 ^{bcd} ± 0,04	1028,60 ^{abc} ± 0,22	-0,546 ^b ± 0,02
6	3,02 ^{cd} ± 0,47	0,16 ^{bc} ± 0,00	7,99 ^{ab} ± 0,18	2,92 ^{ef} ± 0,13	1028,40 ^{bc} ± 0,77	-0,534 ^e ± 0,00
7	3,00 ^{cd} ± 0,00	0,17 ^{abc} ± 0,00	8,01 ^{ab} ± 0,05	2,83 ^f ± 0,01	1028,90 ^{abc} ± 0,00	-0,537 ^{de} ± 0,00
8	3,00 ^{cd} ± 0,00	0,16 ^{bc} ± 0,01	8,40 ^a ± 0,20	2,96 ^{bcd} ± 0,01	1030,20 ^a ± 0,00	-0,536 ^{de} ± 0,00
9	3,00 ^{cd} ± 0,00	0,17 ^{abc} ± 0,01	8,03 ^{ab} ± 0,02	2,95 ^{def} ± 0,02	1028,40 ^{bc} ± 0,44	-0,546 ^b ± 0,00
10	2,95 ^d ± 0,06	0,17 ^{abc} ± 0,01	8,16 ^{ab} ± 0,04	2,94 ^{cde} ± 0,02	1029,15 ^{abc} ± 0,05	-0,538 ^{cde} ± 0,00
Média total	3,06 ± 0,22	0,17 ± 0,01	8,07 ± 0,29	2,95 ± 0,06	1028,71 ± 1,13	-0,541 ± 0,00
P. 146****	Mín. 3,00	0,14 a 0,18	Mín. 8,2	-	-	-
I.N. 51*****	Mín. 3,00	0,14 a 0,18	Mín. 8,4	Mín. 2,9	1028 a 1034	-0,530

* médias com letras diferentes na mesma coluna são significativamente diferentes pelo teste de Tukey (P<0,05), n = 6 (n = número de análises)

** g de ácido láctico/100 mL

*** g/mL a 15°C

**** Portaria Nº 146 (BRASIL, 1996)

***** Instrução Normativa Nº 51 (BRASIL, 2002)

Tabela 3. Valores de área percentual dos ácidos graxos saturados, insaturados e poliinsaturados dos leites UHT integral comercializados no Rio Grande do Sul durante o inverno de 2009.

Ácido Graxo	Leites UHT integral (Marcas)										CV ¹ (%)
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
C8:00	0,72 ^{ab*}	0,78 ^{ab}	0,40 ^b	0,93 ^a	0,62 ^{ab}	0,81 ^{ab}	0,81 ^{ab}	0,86 ^{ab}	0,72 ^{ab}	0,79 ^{ab}	25,84
C10:00	1,80 ^{ab}	1,97 ^{ab}	1,75 ^b	2,22 ^a	1,70 ^b	2,11 ^{ab}	2,04 ^{ab}	2,01 ^{ab}	1,95 ^{ab}	1,88 ^{ab}	10,57
C12:00	2,41 ^a	2,63 ^a	2,60 ^a	2,94 ^a	2,29 ^a	2,76 ^a	2,69 ^a	2,32 ^a	2,71 ^a	2,52 ^a	10,88
C14:00	8,57 ^c	10,70 ^{ab}	10,69 ^{ab}	11,24 ^a	9,71 ^{bc}	11,27 ^a	11,09 ^{ab}	11,05 ^{ab}	11,07 ^{ab}	10,55 ^{ab}	8,73
C15:00	1,11 ^c	1,12 ^c	1,20 ^{bc}	1,35 ^a	1,12 ^c	1,14 ^c	1,19 ^{bc}	1,21 ^{bc}	1,30 ^{ab}	1,10 ^c	7,45
C16:00	33,29 ^{de}	34,98 ^{abcd}	34,02 ^{cd}	35,71 ^{abc}	32,14 ^e	36,47 ^a	34,51 ^{bcd}	36,18 ^{ab}	36,47 ^a	34,20 ^{cd}	4,19
C17:00	1,91 ^{ab}	1,69 ^{abc}	1,62 ^{abc}	1,60 ^{bc}	1,94 ^a	1,83 ^{abc}	1,57 ^c	1,80 ^{abc}	1,69 ^{abc}	1,62 ^{abc}	4,23
C18:00	13,48 ^{de}	13,84 ^{cd}	14,71 ^{ab}	13,86 ^{cd}	13,96 ^{bcd}	12,78 ^e	14,40 ^{abc}	13,63 ^{cd}	13,85 ^{cvd}	14,85 ^a	4,54
C21:00	0,56 ^d	0,89 ^a	0,73 ^{bc}	0,74 ^{bc}	0,72 ^{bc}	0,83 ^{ab}	0,76 ^{bc}	0,74 ^{bc}	0,70 ^c	0,80 ^{abc}	12,28
Σ AGS²	65,09	69,46	68,77	71,64	65,10	70,72	69,76	70,63	71,52	69,23	3,40
C14:1	0,82 ^{b*}	0,91 ^{ab}	0,89 ^{ab}	0,89 ^{ab}	0,82 ^b	0,98 ^a	0,91 ^{ab}	0,99 ^a	0,92 ^{ab}	0,84 ^b	7,58
C16:1	1,91 ^{ab}	1,69 ^{abc}	1,62 ^{abc}	1,60 ^{bc}	1,94 ^a	1,83 ^{abc}	1,57 ^c	1,80 ^{abc}	1,69 ^{abc}	1,62 ^{abc}	9,07
C18:1n9C	26,88 ^a	25,20 ^{abc}	25,37 ^{ab}	22,96 ^c	25,69 ^{ab}	24,16 ^{bcd}	23,51 ^d	24,52 ^{bcd}	23,58 ^{cd}	25,59 ^{ab}	5,12
Σ AGMI³	30,12	28,32	28,44	25,87	28,97	27,46	26,52	27,81	26,49	28,55	4,66
C18:2n6C	4,14 ^a	2,07 ^b	2,66 ^{ab}	2,35 ^b	3,48 ^{ab}	1,98 ^b	1,81 ^b	1,84 ^b	2,18 ^b	1,95 ^b	36,85
Σ AGPI⁴	5,77	3,01	3,47	3,15	6,08	2,65	4,40	3,80	2,84	2,95	32,21
AGI/AGS⁵	0,55	0,45	0,46	0,40	0,54	0,43	0,44	0,45	0,41	0,46	10,79

Ácidos graxos com valores de área percentual menor que 0,5% não foram tabelados, mas aparecem nos somatórios. (C13:00, C20:00, C22:00, C23:00, C24:00, C17:1, C20:1, C18:2n9T, C18:3n6, C18:3n3, C:20:2, C20:3n3, C20:3n6, C20:4n6, C20:5n3, C22:6n3)

* médias com letras diferentes na mesma linha são significativamente diferentes pelo teste de Tukey (P<0,05), n = 6 (n = número de análises)

¹CV – Coeficiente de variação

²AGS – Ácidos Graxos Saturados

³AGMI – Ácidos Graxos Monoinsaturados

⁴AGPI – Ácidos Graxos Poliinsaturados

⁵AGI/AGS – Relação entre ácidos graxos insaturados e saturados

4. DISCUSSÃO GERAL

O consumidor está cada vez mais preocupado com a qualidade físico-química e segurança dos produtos que consome, e aliado a este fato, a praticidade de uso e estocagem também são bem aceitas. Neste contexto, o crescimento da produção de leite UHT no Brasil, a partir de 1990, teve um grande aumento, representando atualmente, em torno de 75% da total de leite fluido comercializado no país (SOUZA et al., 2004; ROSSI-JUNIOR, 2006; EMBRAPA, 2008; JOÃO et al., 2008; MARTINS et al., 2008).

No processamento UHT o leite sofre uma esterilização comercial, podendo ainda estar presente formas esporuladas de alguns microrganismos, principalmente *Bacillus sporothermodurans*, *Bacillus stearothermophilus* e *Bacillus subtilis*, cujos esporos ou sobreviveram ao tratamento ou contaminaram o leite processado (MURRAY & STEWART, 1978). A ocorrência de *Bacillus sporothermodurans* em leite UHT foi relatada em diversos estudos (PETTERSSON et al., 1996; ZACARCHENCO et al., 2000, BUSATTA et al., 2005; NEUMANN et al., 2008). Nos leites analisados, neste estudo, não foi confirmada a presença de *Bacillus sporothermodurans* e a contagem de Esporos Termófilos foi $<1,0 \text{ UFC.mL}^{-1}$ o que demonstra ter sido eficiente o processo térmico. As indústrias de laticínios parecem ter melhorado o controle do processo UHT, nos últimos anos, isso pode ser devido aos escândalos na “fraude do leite” em 2007, na Operação Ouro Branco, realizada pela Polícia Federal, em que foi descoberta fraudes que mascaravam a acidez do leite e o teor de sólidos do leite, entre outras adulterações.

Os microrganismos patogênicos, veiculados por alimentos, são mesófilos e sensíveis a temperaturas de pasteurização, o processamento UHT elimina a totalidade de suas formas vegetativas (TRONCO, 2008). Neste estudo não foram encontrados microrganismos indicadores ou patogênicos, demonstrando que as dez marcas de leites analisadas são consideradas produtos seguros de acordo com a legislação vigente (BRASIL, 2001).

Dos parâmetros físico-químicos analisados, o ESD foi o que apresentou mais resultados fora dos padrões, com 60% no inverno e 80% na primavera. Este resultado pode estar relacionado com falhas durante o processamento, pois a água injetada junto com o vapor deve ser retirada no final do processo.

Como era esperado, o perfil de ácidos graxos apresentou diferenças significativas entre as marcas analisadas, em virtude da variabilidade da matéria-prima. O ácido palmítico

(C16:0) foi o que apresentou o nível mais elevado nas amostras analisadas, estando de acordo com os resultados obtidos por RYHÄNEN et al. (2005), COLLOMB et al. (2006) e DESTAILLATS et al. (2007). A gordura do leite é um excelente carreador de energia por causa do seu alto conteúdo energético e também porque não aumenta a pressão osmótica do leite, sendo bem digerida não importando a forma física (glóbulos de gordura naturais ou homogeneizados, ou manteiga) do qual é retirado (WALSTRA et al., 2006).

A composição do leite está sujeita a variações e a contínuas mudanças dependendo do manejo dos animais, da alimentação e da raça, entre outros fatores. Algumas mudanças aparecem lentamente enquanto outras são mais rápidas. Portanto é essencial ter conhecimento da composição atual do leite a fim orientar o desenvolvimento de produtos lácteos e informar a comunidade sobre os benefícios dos produtos lácteos, uma vez que estes são importantes fontes de proteínas, vitaminas e minerais.

Faz-se necessário um acompanhamento da qualidade do leite UHT, por ser um produto cada vez mais consumido, devendo ser continuamente estudado e acompanhado para que a sua qualidade seja assegurada e melhorada.

5. CONCLUSÕES

Não foram encontrados microrganismos indicadores e patogênicos, nas marcas de leite UHT integral analisadas, indicando que os produtos estão aptos e seguros para o consumo humano.

Pode-se afirmar através dos resultados das contagens de microrganismos formadores de esporos termoresistentes que o processo térmico utilizado, nas dez marcas de leite analisadas, foi eficiente.

Em virtude da variabilidade da matéria-prima, os parâmetros físico-químicos diferiram significativamente entre as marcas analisadas, demonstrando que não há um padrão uniforme dos leites UHT.

Melhorias na coleta da matéria-prima e processamento devem ser objetivos perseguidos pelas indústrias de laticínios, estimulando os produtores a investir nas propriedades, de modo a obter leite com qualidade, visando adequar a produção às normas brasileiras.

6. BIBLIOGRAFIA

ABLV - Associação Brasileira da indústria de Leite Longa Vida. Estatísticas. [S.l.], [200-?]. Disponível em: < <http://www.ablv.org.br/Estatisticas.aspx> > Acesso em: 25 fev. 2010.

ANDRIOLI, A.S. et al. Padrões físico-químicos de identidade do leite “longa vida (UHT) comercializado na cidade de Juiz de Fora (MG). **Revista do instituto Candido Tostes**, v. 56, n. 321, p. 50-54, 2001.

ANDRIKOPOULOS, N.K. et al. Evaluation of colesterol and other nutrient parameters of Greek cheese varieties. **Journal of Food Composition and Analysis**, n. 16, v. 2, p. 155-167, 2003.

ANTUNES, A.C.; PACHECO, M.T.B. **Leite para adultos: mitos e fatos frente à ciência**. São Paulo: Livraria Varela, 2009. 457 p.

ARAÚJO, J.M.A. **Química de alimentos: teoria e prática**. Viçosa: Imprensa Universitária da UFV, 1995. 335 p.

ARO, A. et al. van POPEL, G. Trans fatty acids in dairy and meat products from 14 European countries: The TRANSFAIR study. **Journal of Food Composition and Analysis**, n.11, p.150-160, 1998.

BELOTI, V. et al. Utilização de bolores e leveduras como indicadores de contaminação na cadeia produtiva de leite em propriedades da região de Londrina, Paraná. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA, 21., 2001, Foz do Iguaçu, PR. **Anais...** Foz do Iguaçu: [s.n.], 2001. p. 377.

BERNARDI, C.M.M. et al. Teste comparativo da qualidade do leite integral comercializado no município de Andradina. **Ciência Agrárias e Saúde. FEA**, Andradina, v. 6, p. 45-48, 2006.

BIZARI, V.R.M.; PRATA, L. F.; RABELO, R. N. Eficiência da contagem microscópica a partir de leite UAT processado na retroavalição da qualidade microbiológica da matéria-prima. **Indústria de Laticínios**, v. 8, p. 70-78, 2003.

BLIGH, E.G.; DYER, W.J. A rapid method of total lipid extraction and purification, **Canadian Journal Biochemistry Physiology**, v. 37, p. 911-917, 1959.

BONASSI, A.T. Métodos atuais e modernos para análise de leite e derivados. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 39, n. 235, p. 17-22, 1984.

BRASIL. Ministério da Agricultura. **Regulamento da inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal**. Aprovada pelo Decreto 30.6912 de 29/03/1952 e alterado pelo Decreto 1255 de 25/06/1962). Brasília, 1980.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Abastecimento e Reforma Agrária. Portaria Nº 146 de 07 de março de 1996. Regulamentos técnicos de identidade e qualidade dos produtos lácteos. **Diário Oficial da União**. Brasília, 11 de março de 1996. Seção 1. p.3978-3986.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Regulamento técnico sobre os padrões microbiológicos para alimentos. **Resolução RDC Nº 12, de 2 de janeiro de 2001**. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/12>>. Acesso em: 28 out. 2008.

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Instrução Normativa n. 51 de 18 de setembro de 2002. Regulamento Técnico de Produção, Identidade e Qualidade do Leite Tipo A. **Diário Oficial da União**, Brasília, 20 de setembro de 2002, Seção 1, p. 13.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa 62 de 26 de agosto de 2003. Métodos analíticos oficiais para análises microbiológicas para controle de produtos de origem animal e água. Publicado no **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, de 18 de setembro de 2003.

BRASIL. Instrução Normativa n. 68 de 12 de dezembro de 2006. Métodos analíticos oficiais físico-químicos para controle de leite e produtos lácteos. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 14 de dez. 2006.

BEHMER, M.L.A. **Tecnologia do leite**. 13. ed. São Paulo: Nobel, 1984. 320 p.

BUSATTA, C.; VALDRUGA, E.; CANSIAN, R.L. Ocorrência de *Bacillus sporothermodurans* em leite UAT integral e desnatado. **Ciencia e Tecnologia de Alimentos**, v. 25, n. 3, p. 408-411, 2005.

CAMACHO, N.N. et al. Determinação de *Staphylococcus* coagulase positiva e de indicadores higiênico-sanitários em amostras de queijo ralado. In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 13., 2004, Pelotas. **Resumo...** Pelotas: [s.n.], 2004. Disponível em: <http://www.ufpel.edu.br/cic/2004/arquivos/conteudo_CB.html#00594> Acesso em: 2. set. 2008.

CITADIN, A.S. et al. Qualidade microbiológica de leite cru refrigerado e fatores associados **Revista Brasileira de Saúde Produção Animal.**, v.10, n.1, p. 52-59, 2009. Disponível em: <<http://www.rbspa.ufba.br/index.php/rbspa/article/viewFile/943/762>>. Acesso em: 27 out. 2009..

CHILLIARD, Y.; FERLAY, A. Dietary lipids and forages interaction on cow and goat milk fatty acid composition and sensory properties. **Reproduction, Nutrition and Development**, v. 44, p. 467-492, 2004.

COELHO P.S. et al. Avaliação da qualidade microbiológica do leite UAT integral comercializado em Belo Horizonte. **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária Zootecnia**, v. 53, p. 256-262, 2001.

COLLOMB, M. et al. Conjugated linoleic acids in milk fat: variation and physiological effects. **International Dairy Journal**, n.16, p. 1347-1361, 2006.

CONFEDERAÇÃO DA AGRICULTURA E PECUÁRIA DO BRASIL. **Balço e Perspectivas da Agropecuária Brasileira**. Brasília, 2007. 13 p. Disponível em: <<http://www.cna.org.br/>>. Acesso em: 24 out. 2008.

CRIELLY, E.M. et al. Studies on the *Bacillus* flora of milk and milk products. **Journal of Applied Bacteriology**, v. 77, p. 256-263, 1994.

DESTAILLATS, F. et al. Comparison of available analytical methods to measure *trans*-octadecenoic acid isomeric profile and content by gas-liquid chromatography in milk fat. **Journal.. Chromatography. A.**, n. 1145, p. 222-228, 2007.

EVANCHO, G.M.; WALLS, I. Aciduric flat sours sporeformes. In: DOWNES, F. P.; ITO, K. (Ed.). **Compedium mof Methods for the Microbiological Examination of Foods**, 4th ed. Washington, D. C.: American Public Health Association, 2001. chapter 24, p. 239-244.

EVANGELISTA, J. Noções de microbiologia de alimentos. In: **Tecnologia de alimentos**. 2. ed. [S.l.]: Atheneu, 1994. p. 59-148.

FERNANDEZ, A.M. **Efeitos dos níveis de células somáticas sobre a qualidade do leite integral obtido por processo UHT direto**. Tese. (Doutorado em Ciência, Área de concentração e Ciência e Tecnologia de Alimentos.) - Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2007.111 p.

FONSECA, L.F.L.; SANTOS, M.V. **Qualidade do leite e controle de mastite**. [S.l.]: Lemos, 2000. 175 p.

FELLOWS, P. **Tecnologia do processamento de alimentos**. Porto Alegre: Artmed, 2006. 602 p.

FITZGERALD, R.J.; MURRAY, BA.; WALSH, D.J. The emerging role of dairy protein and bioactive peptides in nutrition and health. **American Society of Nutritional Science**, 980S-988S, 2004.

FRANCO, B.D.G.M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2008. 182 p.

FRAZIER, W.C.; WESTHOFF, D.C. **Microbiologia de los alimentos**. 4. ed. Zaragoza: Acribia, 1993. 667 p.

GUIMARÃES, K.A. S.; ANDRADE, A.S. Contaminação de produtos lácteos por *Staphylococcus aureus*: revisão bibliográfica. **Higiene Alimentar**, v. 22, n. 163, p. 56-62, 2008.

HARTMAN, L. & LAGO, B.C. A rapid preparation of fatty methyl esters from lipids. **Laboratory Practice**, v. 22, p. 475-477, 1973.

HUEMER, I.A. et al. Thermal death kinetics of spores of *Bacillus sporothermodurans* isolated from UHT milk. **International Dairy Journal**, v. 8, p. 851-855, 1998.

HUTH, P.J.; DIRIENZO, D. B.; MILLER, G. D. Major scientific advances with dairy foods in nutrition and health. **Journal.. Dairy Science**, American Dairy Science Association, n. 89, p. 1207–1221, 2006.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz: métodos físicos e químicos de análises de alimentos**. 3. ed. São Paulo, 1985.

ITURRINO, R.P.S. et al. Ocorrência de bactérias esporuladas do gênero *Bacillus* e *Clostridium* em amostras de leite longa vida. **Higiene Alimentar**, v. 10, p. 25-27, 1996.

JAY, J.M. **Microbiología moderna de los alimentos**. 3. ed. Zaragoza: Acribia, 1994. 804 p.

JAY, J.M. **Modern Food Microbiology**. 6. ed. Gaithersburg, MD: Aspen Publication, 2000. 854 p.

JOÃO, J.H. et al. Diagnóstico da Qualidade do Leite UAT comercializado em Lages- SC. **Indústria e Laticínios**, p. 50-54, julho/ago. 2008.

KLIJN, N. et al. Genotypical and phenotypical characterization of *Bacillus sporothermodurans* strains, surviving UHT sterilization. **International Dairy Journal**, v. 7, p. 421-428, 1997.

KLIJN, N. et al. Heat resistant. **Bulletin of Internacional Dairy Federation**, Bruxelas, n. 357, p. 4-8, 2000.

KONDYLI, E; KATSIARI, M.C. Fatty acid composition of raw caprine milk of a native Greek bred during lactation. **International Journal of Dairy Technology**, v. 55, n. 1, p. 57-60, 2002.

LANG, C.C.; BRITO, J.R.F. Microrganismos que deterioram a qualidade do leite. **Revista Balde Branco**, ago. 2005. Disponível em: <<http://www.rehagro.com.br/siterehagro/printpublicacao.do?cdnoticia=728>> Acesso em: 20 nov. 2008.

LEWIS, M.; HEPPELL, N. **Continuous thermal processing of food**. Maryland: Aspen Publication, 2000. 456 p.

MARTIN, J.H. Heat resistant microorganism in dairy food system. Heat resistant mesophilic microorganisms. **Journal Dairy Science**, v. 64, p. 149-156, 1981.

MARTINS, P.C. et al. **Políticas de longo prazo para a cadeia produtiva do leite do Brasil**. Brasília: Câmara Setorial da Cadeia Produtiva do Leite e Derivados, 2004. 40 p.

MARTINS, F.O. et al. Avaliação da Composição na Qualidade Físico-Química e Ocorrência de Adulterações em Leite UHT. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE QUALIDADE DE LEITE, 2., 2006. **Anais eletrônicos...** Disponível em: <<http://www.terraviva.com.br/IICBQL/p043.pdf>>. Acesso em: 19 jan. 2007.

MARTINS, A.M.C.V. et al. Efeito do processamento UAT (Ultra Alta Temperatura) sobre as características físico-químicas do leite. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, n. 2, p. 295-298, abr./junho 2008.

MCKELLAR, R.C. Development of off-flavours in ultra high temperature and pasteurized milk as a function of proteolysis. **Journal of Dairy Science**, Baltimore, v. 64, n. 11, p. 2138-2145, nov. 1981.

MURRAY, J.G.; STEWART, D.B. Advances in the microbiology of milk and dairy products. **Journal of the Society of Dairy Technology**, v. 31, p. 28-35, 1978.

NEUMANN, F.D. et al. Ocorrência de *Bacillus sporothermodurans* em leite UHT comercializado no estado do Rio Grande do Sul / Brasil. In: CONGRESSO SUL BRASILEIRO DE AVICULTURA, SUINOCULTURA E LATICÍNIOS, 2008, [Bento Gonçalves]: AVISULAT, 2008. Disponível em: <http://www.avisulat.com.br/trabalhos/premio_laticinios.pdf>. Acesso em: 15 de jan 2009.

NEVES, M.V.O. et al. Parâmetros físico- uímicos e contagem de células somáticas de leite cru individual do Estado de Minas Gerais - Brasil. In: CONGRESSO NACIONAL DE LATICÍNIOS, 2004, Juiz de Fora. **Anais...** Juiz de Fora: Templo, 2004. p. 239-242.

NOGUEIRA, A.C.L. A cadeia produtiva de leite no estado de São Paulo. **Informações Fipe**, São Paulo, jul. 2007. Disponível em: < http://www.fipe.org.br/publicacoes/downloads/bif/2007/7_5-7-agr.pdf>. Acesso em: 17 nov. 2008.

NORUSIS, M. **SPSS 13.0: guide to data analysis**. Upper Saddle River, NJ: Prentice-Hall, 2005.

OLIVEIRA R.P.S. **Condições microbiológicas e avaliação da pasteurização em amostras de leite comercializados no município de Piracicaba**. Dissertação (M.S.) - Escola Superior de agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 2005. 81 p. Mestrado em Ciência, Área de concentração e Ciência e Tecnologia de Alimentos.

OLSON, K.E.; SORRELLS, K.M. Thermophilic flat sour sporeformers. In: In: DOWNES, F. P.; ITO, K. (Ed.). **Compedium mof Methods for the Microbiological Examination of Foods**. 4th ed. Washington, D. C.: American Public Health Association, 2001. chapter 25, p. 245-248.

PEDRAS, M.M. **Avaliação de propriedades físico-químicas e funcionais de leite processado por tecnologia de homogeneização a ultra-alta pressão**. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia de Alimentos. Campinas, 2007. Programa de Pós-Graduação: Programa em Tecnologia de Alimentos

PEDRA, D.F.B.M.; PIGATTO G.; APARECIDA G. Análise de fatores produtivos e comerciais da cadeia láctea no Brasil. In: CONGRESSO SOCIEDADE BRASILEIRA DE ECONOMIA, ADMINISTRAÇÃO E SOCIOLOGIA RURAL, 46., 2008, Rio Branco. **Anais...** Rio Branco: [s.n.], 2008. Disponível em: <<http://www.sober.org.br/palestra/9/875.pdf>> Acesso em: 14 nov. 2008.

PEREIRA, D.B.C. et al. **Físico-química do leite e derivados – Métodos analíticos**. 2. ed. Juiz de Fora: Oficina de Impressão, 2000. 190 p.

PERRY, K.S.P. Queijos: aspectos químicos, bioquímicos e microbiológicos. **Química Nova**, São Paulo, v. 27, n. 2, p. 293-300, mar./ abr. 2004.

PETTERSSON, B. et al. *Bacillus sporothermodurans*, a new species producing highly heat resistant endospores. **International Journal of Systematic Bacteriology**, v. 46, p. 759-764, 1996.

PINHEIRO, A.J.R.; MOSQUIM, M.C.A.V. **Processamento de leite de consumo**: apostila: Viçosa: UFV, 1991.

PRATA, L.F. Leite UHT: solução ou problema? Uma análise da situação. **Higiene Alimentar**, v. 12, p. 10-15, 1998.

REZENDE, N.C.M. et al. Ocorrência de microrganismos indicadores em leite UHT (@ultra-high-temperature») integral. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v. 7, p. 58-60, 2000.

REZENDE-LAGO, N.C.M. et al. Ocorrência de *Bacillus cereus* em leite integral e capacidade enterotoxigênica das cepas isoladas. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 59, n. 6, p. 1563-1569, 2007.

REZER, A.P.S.; RICHARDS, N.S.P.S.; MATTANNA, P. Análise do perfil de ácidos graxos de leites UHT comercializados no Rio Grande do Sul – BR. In: CONGRESO CYTAL – AATA, 12., 2009, Entre Ríos, Argentina. **Anais...** Entre Ríos, Argentina: Faculdade de Ciências dos Alimentos, UNER, 2009. 1 CD-ROM.

ROSSI-JUNIOR, O.D. Estudo das características microbiológicas do leite UAT ao longo de seu processamento. **Arquivos do Instituto de Biologia**, São Paulo, v. 73, n. 1, p. 27-32, jan./mar. 2006.

RYHÄNEN, E.L. et al. Production of conjugated linoleic acid enriched milk and dairy products from cows receiving grass silage supplemented with a cereal-based concentrate containing rapessed oil. **International Dairy Journal**, n. 15, p. 207-211, 2005.

SAEKI, E.K.; MATSUMOTO, L. S. Contaminação bacteriana de leite pasteurizado e UHT comercializado no município de Bandeirantes – PR. In: EAIC, 18., 2009, Londrina. **Anais...** Londrina: [s.n.], 2009. Disponível em: <<http://www.eaic.uel.br/artigos/CD/3402.pdf>>. Acesso em: 14 jan. 2010.

SCHOCKEN-ITURRINO, R.P. et al. Ocorrência de bactérias esporuladas dos gêneros *Bacillus* e *Clostridium* em amostras de leite longa vida. **Higiene Alimentar**, v. 10, n. 42, p. 25-27, 1996.

SILVA, N. et al. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. 3. ed. São Paulo: Livraria Varela, 2007. 552 p.

SILVA, A. P. et al. Qualidade sanitária de queijo prato, comercializado em supermercados de pequeno e médio porte na cidade de Recife, PE. **Higiene Alimentar**, v. 22, n. 158, p. 92-97, jan./fev. 2008.

SOUZA, M.R. et al. Pasteurização do leite. **Caderno Técnico da Escola de Veterinária. UFMG**, n. 3, p. 85-93, 1995.

SOUZA, L.G. et al. Avaliação da composição do leite UHT proveniente de dois laticínios das regiões Norte e Noroeste do Estado do Paraná **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v. 26, n. 2, 2004.

TAUZIN, J.; MICLO, L. GAILLARD, J.L. Aangiotensin- I converting enzyme inhibitory peptides from tryptic hydrolysate of bovine α_{s2} - casein. **FEBS Letters**, v.531, p.369-374, 2002.

TETRA PACK. Uma fonte de notícias semestrais sobre a Indústria de Laticínios. Foco nos mercados desenvolvidos. **Dairy Índex**, n. 2, dez. 2009. Disponível em: <http://www.tetrapak.com/br/Documents/DairyIndex_Brasil_dez2009.pdf> Acesso em: 27 fev. 2010.

TINÔCO, A.L.A. et al. Análise das condições físico-químicas do leite oferecido ao comércio em Viçosa – MG. **Revista Higiene Alimentar**, v. 16, n. 98, p. 101-106, jul. 2002.

TRONCO, V.M. **Manual para inspeção da qualidade do leite**. 3. ed. Santa Maria: Ed. UFSM, 2008. 203 p.

USDA (UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE). **Dairy World Markets and Trade**. 2009. Circular Séries. Disponível em: <http://www.fas.usda.gov/dlp/circular/2009/dairy_08-2009.pdf>. Acesso em: 12 dez.. 2009.

VAEREWIJK, M.J.M. et al. Occurrence of *Bacillus sporothermodurans* and other aerobic spore forming species in feed concentrate for dairi cattle. **Journal of Applied Microbiology**. n. 91, p. 1074-1084, 2001.

VALSECHI, O.A. **O leite e seus derivados**. Tecnologia de produtos agrícolas de origem animal. Araras: Universidade Federal de São Carlos, 2001 Disponível em: <<http://pucrs.campus2.br/~thompson/O%20LEITE%20E%20SEUS%20DERIVADOS.doc>>.

Acesso em: 23 set. 2009.

VIDAL-MARTINS, A.M.C. et al. Microrganismos heterotróficos mesófilos e bactérias do grupo de *Bacillus cereus* em leite integral submetido a ultra alta temperatura. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 57, p. 396-400, 2005.

VIEGAS, R.P. et al. Avaliação da qualidade físico-química do leite UAT desnatado comercializado em Belo Horizonte – MG. **Revista do instituto Candido Tostes**, v. 61 n. 351, p. 85-88, 2006.

VITTORI, J. et al. Qualidade microbiológica de leite UHT caprino: pesquisa de bactérias dos gêneros *Staphylococcus*, *Bacillus* e *Clostridium*. *Ciência. Rural*, v. 38, p. 761-765, 2008.

WALSTRA, P.; WOUTERS, J.T.M.; GEURTS, T.J. **Dairy Science and Technology**. New York: CRC Press, 2006. 782 p.

WESTHOFF, D.C.; DOUGHERTY, S.L. Characterization of *Bacillus* species isolated from spoiled ultrahigh temperature processed milk. **Journal Dairy Science**, v. 64, p. 572–578, 1981.

YOO, J. et al. The influence of milk composition on the growth of *Bacillus stearothermophilus*. **Journal of Food Engineering**, v. 77, p. 96-102, 2006.

ZACARCHENCO, P.B. et al. Ocorrência de *Bacillus sporothermodurans* em leite UAT/UHT brasileiro e a influência do tratamento térmico. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 20, n. 3, p. 51-57, 2000.

ANEXO 1

Normas exigidas para publicação na Revista Ciência Rural

1. CIÊNCIA RURAL - Revista Científica do Centro de Ciências Rurais da Universidade Federal de Santa Maria publica artigos científicos, revisões bibliográficas e notas referentes à área de Ciências Agrárias que deverão ser destinados com exclusividade.

2. Os **artigos científicos, revisões e notas** devem ser encaminhados via eletrônica editados em idioma Português ou Inglês, todas as linhas deverão ser numeradas e paginados no lado inferior direito. O trabalho deverá ser digitado em tamanho A4 210 x 297 mm, com no máximo, 25 linhas em espaço duplo, as margens superior, inferior, esquerda e direita em 2,5cm, fonte Times New Roman, tamanho 12. **O máximo de páginas será 15 para artigos científicos, 20 para revisão bibliográfica e 8 para nota, incluindo tabelas, gráficos e ilustrações.** Cada figura e ilustração deverá ser enviado em arquivos separados e constituirá uma página (cada tabela também constituirá uma página). **Tabelas, gráficos e figuras não poderão estar com apresentação paisagem.**

3. O artigo científico deverá conter os seguintes tópicos: Título (Português e Inglês); Resumo; Palavras-chave; Abstract; Key words; Introdução com Revisão de Literatura; Material e Métodos; Resultados e Discussão; Conclusão e Referências. Agradecimento(s) ou Agradecimento (s) e Apresentação; Fontes de Aquisição e Informe Verbal, quando for necessário o uso deve aparecer antes das referências. **Antes das referências deverá também ser descrito quando apropriado que o trabalho foi aprovado pela Comissão de Ética e Biossegurança da instituição e que os estudos em animais foram realizados de acordo com normas éticas.** (Modelo .doc, .pdf).

4. A revisão bibliográfica deverá conter os seguintes tópicos: Título (Português e Inglês); Resumo; Palavras-chave; Abstract; Key words; Introdução; Desenvolvimento; Conclusão; e Referências. Agradecimento(s) ou Agradecimento (s) e Apresentação; Fontes de Aquisição e Informe Verbal, devem aparecer antes das referências. **Antes das referências deverá também ser descrito quando apropriado que o trabalho foi aprovado pela Comissão de Ética e Biossegurança da instituição e que os estudos em animais foram realizados de acordo com normas éticas.** (Modelo .doc, .pdf).

5. A nota deverá conter os seguintes tópicos: Título (Português e Inglês); Resumo; Palavras-chave; Abstract; Key words; Texto (sem subdivisão, porém com introdução; metodologia; resultados e discussão e conclusão; podendo conter tabelas ou figuras); Referências. Agradecimento(s) ou Agradecimento (s) e Apresentação; Fontes de Aquisição e Informe Verbal, caso existam devem aparecer antes das referências. **Antes das referências deverá também ser descrito quando apropriado que o trabalho foi aprovado pela Comissão de Ética e Biossegurança da instituição e que os estudos em animais foram realizados de acordo com normas éticas.** (Modelo [.doc](#), [.pdf](#)).

6. Não serão fornecidas separatas. Os artigos estão disponíveis no formato pdf no endereço eletrônico da revista www.scielo.br/cr.

7. Descrever o título em português e inglês (caso o artigo seja em português) - inglês português (caso o artigo seja em inglês). Somente a primeira letra do título do artigo deve ser maiúscula exceto no caso de nomes próprios. Evitar abreviaturas e nomes científicos no título. O nome científico só deve ser empregado quando estritamente necessário. Esses devem aparecer nas palavras-chave e resumo e demais seções quando necessários.

8. As citações dos autores, no texto, deverão ser feitas com letras maiúsculas seguidas do ano de publicação, conforme exemplos: Esses resultados estão de acordo com os reportados por MILLER & KIPLINGER (1966) e LEE et al. (1996), como uma má formação congênita (MOULTON, 1978).

9. As Referências deverão ser efetuadas no estilo ABNT (NBR 6023/2000) conforme normas próprias da revista.

9.1. Citação de livro:

JENNINGS, P.B. **The practice of large animal surgery**. Philadelphia: Saunders, 1985. 2 v.
TOKARNIA, C.H. et al. (Mais de dois autores) **Plantas tóxicas da Amazônia a bovinos e outros herbívoros**. Manaus : INPA, 1979. 95p.

9.2. Capítulo de livro com autoria:

GORBAMAN, A. A comparative pathology of thyroid. In: HAZARD, J.B.; SMITH, D.E. **The thyroid**. Baltimore : Williams & Wilkins, 1964. Cap.2, p.32-48.

9.3. Capítulo de livro sem autoria:

COCHRAN, W.C. The estimation of sample size. In: _____. **Sampling techniques**. 3.ed. New York : John Willey, 1977. Cap.4, p.72-90. TURNER, A.S.; McILWRAITH, C.W. Fluidoterapia. In: _____. **Técnicas cirúrgicas em animais de grande porte**. São Paulo : Roca, 1985. p.29-40.

9.4. Artigo completo:

Sempre que possível o autor deverá acrescentar a url para o artigo referenciado e o número de identificação DOI (Digital Object Identifiers) conforme exemplos abaixo:

MEWIS, I.; ULRICHS, CH. Action of amorphous diatomaceous earth against different stages of the stored product pests *Tribolium confusum* (Coleoptera: Tenebrionidae), *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae), *Sitophilus granarius* (Coleoptera: Curculionidae) and *Plodia interpunctella* (Lepidoptera: Pyralidae). **Journal of Stored Product Research**, Amsterdam (Cidade opcional), v.37, p.153-164, 2001. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.1016/S0022-474X\(00\)00016-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0022-474X(00)00016-3)>. Acesso em: 20 nov. 2008. doi: 10.1016/S0022-474X(00)00016-3.

PINTO JUNIOR, A.R. et al (Mais de 2 autores). Resposta de *Sitophilus oryzae* (L.), *Cryptolestes ferrugineus* (Stephens) e *Oryzaephilus surinamensis* (L.) a diferentes concentrações de terra de diatomácea em trigo armazenado a granel. **Ciência Rural**, Santa Maria (Cidade opcional), v. 38, n. 8, nov. 2008. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782008000800002&lng=pt&nrm=iso>. Acesso em: 25 nov. 2008. doi: 10.1590/S0103-84782008000800002.

9.5. Resumos:

RIZZARDI, M.A.; MILGIORANÇA, M.E. Avaliação de cultivares do ensaio nacional de girassol, Passo Fundo, RS, 1991/92. In: JORNADA DE PESQUISA DA UFSM, 1., 1992, Santa Maria, RS. **Anais...** Santa Maria: Pró-reitoria de Pós-graduação e Pesquisa, 1992. V.1. 420p. p.236.

9.6. Tese, dissertação:

COSTA, J.M.B. **Estudo comparativo de algumas características digestivas entre bovinos (Charolês) e bubalinos (Jafarabad)**. 1986. 132f. Monografia/Dissertação/Tese (Especialização/ Mestrado/Doutorado em Zootecnia) - Curso de Pós-graduação em Zootecnia, Universidade Federal de Santa Maria.

9.7. Boletim:

ROGIK, F.A. **Indústria da lactose**. São Paulo: Departamento de Produção Animal, 1942. 20p. (Boletim Técnico, 20).

9.8. Informação verbal:

Identificada no próprio texto logo após a informação, através da expressão entre parênteses. Exemplo: ... são achados descritos por Vieira (1991 - Informe verbal). Ao final do texto, antes das Referências Bibliográficas, citar o endereço completo do autor (incluir E-mail), e/ou local, evento, data e tipo de apresentação na qual foi emitida a informação.

9.9. Documentos eletrônicos:

MATERA, J.M. **Afecções cirúrgicas da coluna vertebral: análise sobre as possibilidades do tratamento cirúrgico**. São Paulo: Departamento de Cirurgia, FMVZ-USP, 1997. 1 CD.

GRIFON, D.M. Arthroscopic diagnosis of elbow displasia. In: WORLD SMALL ANIMAL VETERINARY CONGRESS, 31., 2006, Prague, Czech Republic. **Proceedings...** Prague: WSAVA, 2006. p.630-636. Acessado em 12 fev. 2007. Online. Disponível em: <http://www.ivis.org/proceedings/wsava/2006/lecture22/Griffon1.pdf?LA=1>

UFRGS. **Transgênicos**. Zero Hora Digital, Porto Alegre, 23 mar. 2000. Especiais. Acessado em 23 mar. 2000. Online. Disponível em: <http://www.zh.com.br/especial/index.htm>

ONGPHIPHADHANAKUL, B. Prevention of postmenopausal bone loss by low and conventional doses of calcitriol or conjugated equine estrogen. **Maturitas**, (Ireland), v.34, n.2, p.179-184, Feb 15, 2000. Obtido via base de dados MEDLINE. 1994-2000. Acessado em 23 mar. 2000. Online. Disponível em: <http://www.Medscape.com/server-java/MedlineSearchForm>

MARCHIONATTI, A.; PIPPI, N.L. Análise comparativa entre duas técnicas de recuperação de úlcera de córnea não infectada em nível de estroma médio. In: SEMINARIO LATINOAMERICANO DE CIRURGIA VETERINÁRIA, 3., 1997, Corrientes, Argentina. **Anais...** Corrientes : Facultad de Ciencias Veterinarias - UNNE, 1997. Disquete. 1 disquete de 31/2. Para uso em PC.

10. Desenhos, gráficos e fotografias serão denominados figuras e terão o número de ordem em algarismos arábicos. A revista não usa a denominação quadros. As figuras devem ser enviadas à parte, cada uma sendo considerada uma página. Os desenhos figuras e gráficos (com largura de no máximo 16cm) devem ser feitos em editor gráfico sempre em qualidade máxima com pelo menos 800 dpi em extensão .tiff. As tabelas devem conter a palavra tabela, seguida do número de ordem em algarismo arábico e não devem exceder uma lauda. Também devem apresentar a seguinte formatação que se encontra nesse exemplo.

11. Os conceitos e afirmações contidos nos artigos serão de inteira responsabilidade do(s) autor(es).

12. Será obrigatório o cadastro de todos os autores nos metadados de submissão. O artigo não tramitará enquanto o referido item não for atendido. Excepcionalmente, mediante consulta prévia para a Comissão Editorial outro expediente poderão ser utilizados.

13. Lista de verificação (Checklist .doc, .pdf).

14. Os artigos serão publicados em ordem de aprovação.

15. Os artigos não aprovados serão arquivados havendo, no entanto, o encaminhamento de uma justificativa pelo indeferimento.

16. Em caso de dúvida, consultar artigos de fascículos já publicados antes de dirigir-se à Comissão Editorial.