



**Universidade Norte do Paraná**

---

**CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE  
MESTRADO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DO LEITE**

**CINTIA GISELE DE ANDRADE REAL**

**AVALIAÇÃO DA QUALIDADE FÍSICO-QUÍMICA E  
MICROBIOLÓGICA DO LEITE UHT (*ULTRA HIGH  
TEMPERATURE*) DURANTE O TEMPO DE  
ARMAZENAMENTO.**

---

Londrina  
2010

CINTIA GISELE DE ANDRADE REAL

**AVALIAÇÃO DA QUALIDADE FÍSICO-QUÍMICA E  
MICROBIOLÓGICA DO LEITE UHT (*ULTRA HIGH  
TEMPERATURE*) DURANTE O TEMPO DE  
ARMAZENAMENTO.**

Dissertação apresentada à Universidade Norte do Paraná - UNOPAR, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia do Leite.

Orientadora: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Elsa Helena Walter Santana

Londrina  
2010

CINTIA GISELE DE ANDRADE REAL

**AVALIAÇÃO DA QUALIDADE FÍSICO-QUÍMICA E  
MICROBIOLÓGICA DO LEITE UHT (*ULTRA HIGH  
TEMPERATURE*) DURANTE O TEMPO DE  
ARMAZENAMENTO**

Dissertação apresentada à Banca Examinadora da Universidade Norte do Paraná – UNOPAR, como exigência parcial para obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia do Leite, com nota igual à \_\_\_\_\_, conferida pela Banca Examinadora formada pelos professores:

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Elsa Helena Walter Santana  
Universidade Norte do Paraná

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Lina Casale Aragon Alegro  
Universidade Norte do Paraná

---

Prof. Dr<sup>o</sup>. Fabio Augusto Garcia Coro  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Dedico este trabalho primeiramente a Deus, por abençoar meu caminho; a meus filhos, João Victor e Arthur e a meu marido, Adriano, minhas razões de viver; à minha mãe, Lourdes Andrade, minha maior incentivadora e também a meu pai, Oscar de Andrade (in memoriam) que sempre aplaudiu cada vitória conquistada por mim...

## AGRADECIMENTOS

À Prof<sup>a</sup>. Elsa Helena Walter Santana, minha orientadora, pela humildade, carinho e a paciência durante esses dias de trabalho;

À Prof<sup>a</sup>. Marcela de Rezende Costa que nunca se negou a me ajudar no que foi preciso;

Ao Prof. Airton José Petris, que não mediu esforços para me ajudar na concretização do mestrado;

Às amigas Aline Tancler Stipp e Jaqueline Camisa e ao amigo Paulo Roberto Bignardi, presentes em todos momentos em que tive dificuldades;

Às amigas Meriane Turate e Gislaine Freitas, que me ajudaram na realização das análises;

A Jorge Donato (James), técnico do laboratório do mestrado do leite, uma das pessoas mais pacientes e sábias que já cruzaram meu caminho;

À professora Priscila Viana, disposta a tirar minhas dúvidas sempre que a procurei;

À minha mãe, Lourdes Andrade, que foi a “babá” dos meus filhos, enquanto eu realizava minhas análises, e nos momentos de desânimo me ajudava a continuar;

A meu sobrinho, Caio Vinícius, sempre presente;

À minha amiga, Cleusa Ludovina Santana Alves, que foi a segunda mãe do João Victor e do Arthur nos dias em que mais necessitei.

*"Embora ninguém possa voltar atrás e fazer um novo começo, qualquer um pode começar agora e fazer um novo fim."  
(Chico Xavier)*

REAL, Cintia Gisele de Andrade. **Avaliação da qualidade físico-química e microbiológica do leite UHT (*Ultra High Temperature*) durante o tempo de armazenamento**. 2010. 64p. Dissertação (Mestrado Acadêmico em Ciência e Tecnologia do Leite) – Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Norte do Paraná, Londrina, 2010.

## RESUMO GERAL

Antes de chegar ao consumidor, o leite é processado para destruir os micro-organismos patogênicos presentes. Uma das formas deste processamento é o tratamento térmico UHT (*Ultra High Temperature*). Com o objetivo de avaliar a qualidade físico-química e microbiológica do leite UHT comercializado na cidade de Rolândia - PR, amostras de 3 marcas diferentes de leite UHT foram submetidas a determinação de gordura, acidez, estabilidade ao etanol 68%, 72%, 76% e 80%, extrato seco total e extrato seco desengordurado, pH, densidade, crioscopia, proteínas totais, nitrogênios não-proteico e não-caseico, viscosidade e geleificação, além da contagem de micro-organismos mesófilos, termodúricos e psicrotróficos. Na avaliação físico-química das amostras, as 3 marcas não atenderam aos requisitos mínimos de qualidade para gordura, extrato seco total e extrato seco desengordurado; os leites analisados exibiram resistência (estabilidade) aos alcoóis testados; médias de valores de pH estavam adequados para as marcas de leite analisados e a densidade estava dentro dos parâmetros de qualidade até os 120 dias de armazenamento. O índice crioscópico manteve-se dentro do valor máximo estabelecido para duas marcas, tendo uma marca indicativo da adição de substância em solução ao leite. A viscosidade, geleificação e os índices de proteólises foram crescentes ao longo dos 150 dias. Quanto aos resultados das análises microbiológicas, uma marca apresentou valores acima dos limites para micro-organismos mesófilos dentro do prazo de validade de 120 dias. Houve diferença significativa entre as 3 marcas para as análises físico químicas em cada tempo de análise ( $p < 0,05$ ). Nas análises de 150 dias nenhuma marca apresentou qualidade microbiológica quanto a contagem de mesófilos, psicrotróficos e termodúricos. Pode-se observar que os parâmetros físico químicas e microbiológicos de qualidade são comprometidos a medida que aproxima-se do prazo de validade .

**Palavras-chave:** físico-química, microbiologia, leite UHT.

REAL, Cintia Gisele de Andrade. **Physico-chemical and microbiological quality analysis of UHT (Ultra High Temperature) milk during its storage time. durante o tempo de armazenamento.** 2010. 64p. Dissertação (Mestrado Acadêmico em Ciência e Tecnologia do Leite) – Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Norte do Paraná, Londrina, 2010.

## GENERAL ABSTRACT

Before reaching the consumer, milk is processed to destroy any pathogenic micro-organisms it may contain. One way of processing milk is heat treatment UHT (Ultra High Temperature). Aiming to evaluate the physico-chemical and microbiological quality of UHT milk sold in the city of Rolândia - PR, samples of 03 different brands of UHT milk were subjected to determination of fat, acidity, stability to ethanol 68%, 72%, 76 % and 80%, total solids and solids nonfat, pH, density, cryoscopy, total protein, non-protein nitrogen and the one without casein as well as gelling. Mesophilic, psychrotrophic and thermophilic micro-organisms were also counted. In the Physico-chemical evaluation, the three brands did not meet the minimum quality requirements for fat, total solids and solids nonfat; the milk analyzed exhibited resistance (stability) to the alcohols tested, average pH values were appropriate and the density was within the parameters of quality during the 120 days of storage. The cryoscopy index remained within the stipulated maximum value for two brands; the third one had an indication of a substance added in solution to the milk. Viscosity, gelling and the rate of proteolysis were increasing over the 150 days. Regarding the microbiological analysis, a brand had values above the limit for mesophilic microorganisms within the validity period of 120 days. There were significant differences among the three brands to the physico chemical analysis at each time of analysis ( $P < 0.05$ ). The 150 days analysis showed that none of the brands presented microbiological quality when counting mesophilic, psychrotrophic and thermophilic. It could be observed that the physico-chemical and microbiological quality are compromised as the expiration date approaches.

**Keywords:** physico-chemical , microbiology, UHT milk.



## LISTA DE GRÁFICOS

- Gráfico 1 – Índice de proteólise primária (%) de 3 marcas de leite UHT ao longo do armazenamento (30, 60, 90, 120 e 150 dias) comercializadas em Rolândia – PR, no período de julho a novembro de 2010.....48
- Gráfico 2 – Índice de proteólise secundária (%) de 3 marcas de leite UHT ao longo do armazenamento (30, 60, 90, 120 e 150 dias) comercializadas em Rolândia – PR, no período de julho a novembro de 2010 .....48
- Gráfico 3 – Resultados das análises de Viscosidade (Pa) de 3 marcas de leite UHT ao longo do armazenamento (30, 60, 90, 120 e 150 dias) comercializadas em Rolândia – PR, no período de julho a novembro de 2010 .....49
- Gráfico 4 – Análise da geleificação de 3 marcas de leite UHT ao longo do armazenamento (30, 60, 90, 120 e 150 dias) comercializadas em Rolândia – PR, no período de julho a novembro de 2010.....51

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 – Análise de estabilidade ao álcool 68% do leite UHT (Marca M1 / Lote 1) com 150 dias de armazenamento, comercializado em Rolândia – PR, no período de julho a novembro de 2010 .....46
- Figura 2 – Geleificação da marca M2 / Lote 2 de leite UHT no dia 150 de armazenamento (10/11/2010), comercializado em Rolândia – PR, no período de julho a novembro de 2010 .....52

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 – Resultados das análises de pH de 3 marcas de leite UHT ao longo do armazenamento (30, 60, 90, 120 e 150 dias) comercializadas em Rolândia – PR, no período de julho a novembro de 2010. ....37
- Tabela 2 – Resultados das análises de titulação de acidez (°D) de 3 marcas de leite UHT ao longo do armazenamento (30, 60, 90, 120 e 150 dias) comercializadas em Rolândia – PR, no período de julho a novembro de 2010. ....38
- Tabela 3 – Resultados das análises de gordura (%) de 3 marcas de leite UHT ao longo do armazenamento (30, 60, 90, 120 e 150 dias) comercializadas em Rolândia – PR, no período de julho a novembro de 2010. ....40
- Tabela 4 – Resultados das análises de densidade ( $\text{g/cm}^3$ ) de 3 marcas de leite UHT ao longo do armazenamento (30, 60, 90, 120 e 150 dias) comercializadas em Rolândia – PR, no período de julho a novembro de 2010. ....41
- Tabela 5 – Resultados das análises de crioscopia (°H) de 3 marcas de leite UHT ao longo do armazenamento (30, 60, 90, 120 e 150 dias) comercializadas em Rolândia – PR, no período de julho a novembro de 2010. ....43
- Tabela 6 – Resultados das análises de extrato seco total (%) de 3 marcas de leite UHT ao longo do armazenamento (30, 60, 90, 120 e 150 dias) comercializadas em Rolândia – PR, no período de julho a novembro de 2010. ....44
- Tabela 7 – Resultados das análises de extrato seco desengordurado (%) de 3 marcas de leite UHT ao longo do armazenamento (30, 60, 90, 120 e 150 dias) comercializadas em Rolândia – PR, no período de julho a novembro de 2010. ....45
- Tabela 8 – Contagem de micro-organismos aeróbios mesófilos (UFC/mL) em 3 marcas de leite UHT ao longo do armazenamento (30, 60, 90, 120 e 150 dias) comercializadas em Rolândia – PR, no período de julho a novembro de 2010. ....53
- Tabela 9 – Contagem de micro-organismos psicrotóxicos (UFC/mL) em 3 marcas de leite UHT ao longo do armazenamento (30, 60, 90, 120 e 150 dias) comercializadas em Rolândia – PR, no período de julho a novembro de 2010. ....54
- Tabela 10 – Contagem de micro-organismos termodúricos (UFC/mL) em 3 marcas de leite UHT ao longo do armazenamento (30, 60, 90, 120 e 150 dias) comercializadas em Rolândia – PR, no período de julho a novembro de 2010. ....54

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA</b> .....	<b>14</b>
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	<b>16</b>
<b>3 DESENVOLVIMENTO</b> .....	<b>17</b>
3.1 COMPOSIÇÃO DO LEITE .....	17
3.1.1 Água .....	18
3.1.2 Sólidos totais .....	18
3.1.3 Gordura .....	19
3.1.4 Proteínas .....	19
3.1.5 Lactose .....	21
3.1.6 Sais minerais .....	21
3.1.7 Vitaminas .....	22
3.2 GELEIFICAÇÃO .....	22
3.3 SEDIMENTAÇÃO .....	23
3.4 MICRO-ORGANISMOS DETERIORANTES EM LEITE .....	23
3.5 SISTEMA UHT .....	25
3.6 TIPOS DE TRATAMENTO UHT .....	25
3.6.1 Tratamento direto .....	25
3.6.2 Tratamento indireto .....	26
3.7 EMBALAGEM .....	26
3.8 INFLUÊNCIA DO TRATAMENTO TÉRMICO SOBRE OS CONSTITUINTES DO LEITE .....	27
<b>4 MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	<b>30</b>
4.1 AMOSTRAGEM .....	30
4.2 ANÁLISE FÍSICO QUÍMICA .....	30
4.2.1 Preparação das amostras .....	30
4.2.2 Análises físico-químicas .....	30
4.3.2 Análises microbiológicas .....	33
4.4 ESTIMATIVA DE GELEIFICAÇÃO .....	34
<b>5 ANÁLISE ESTATÍSTICA</b> .....	<b>35</b>
<b>6 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>36</b>
6.1 Análises físico-químicas .....	36
6.1.1 pH .....	36

6.1.2 Acidez titulável.....	38
6.1.3 Gordura.....	39
6.1.4 Densidade.....	41
6.1.5 Índice crioscópico.....	42
6.1.6 Extrato seco total e extrato seco desengordurado.....	44
6.1.7 Resistência ao álcool 68,72,78 e 80%.....	46
6.1.8 Índice de proteólise.....	47
6.1.9 Viscosidade e geleificação.....	48
6.2 Análises microbiológicas.....	52
<b>7 CONCLUSÃO.....</b>	<b>57</b>
<b>8 REFERÊNCIAS.....</b>	<b>58</b>

## 1 INTRODUÇÃO GERAL

O leite é um alimento de grande importância na alimentação humana, devido ao seu elevado valor nutritivo. Como fonte de proteínas, lipídeos, carboidratos, minerais e vitaminas, o leite torna-se também um excelente meio para o crescimento de vários grupos de micro-organismos desejáveis e indesejáveis (SOUZA et al., 1995).

A produção de leite no Brasil, vem crescendo ano a ano, estando em sintonia com o desenvolvimento econômico do país. Assim, o MAPA (Ministério da Agricultura e Pecuária e Abastecimento), projeta para o ano de 2010 uma produção nacional de 31,12 bilhões de litros de leite (MORAIS, 2010).

Fatores intrínsecos, como a raça do animal, o período de lactação, o número de parições, a dieta oferecida, e o estado de saúde do animal e extrínsecos, como o manejo e a higiene da ordenha, a velocidade e a temperatura de resfriamento do leite, o transporte e o armazenamento do leite antes de seu processamento podem afetar a composição e qualidade final do leite (FONSECA; SANTOS, 2000).

O mercado tende a buscar produtos que tenham qualidade e longa vida de prateleira, através da produção de leite UHT. De acordo com a Portaria nº. 370, de 04 de setembro de 1997, do MAPA (BRASIL, 1997), entende-se por leite UAT (Ultra Alta Temperatura) ou UHT (*Ultra High Temperature*), o leite homogeneizado que foi submetido, durante 2 a 4 segundos, a uma temperatura entre 130 °C e 150 °C, mediante um processo térmico de fluxo contínuo, imediatamente resfriado a uma temperatura inferior a 32 °C e envasado sob condições assépticas em embalagens estéreis e hermeticamente fechadas.

Segundo a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, a produção de leite UHT, deve aumentar, devido ao grande consumo desse alimento. Dados da ABLLV (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE LEITE LONGA VIDA, 2006), informam que o ano de 2005 dos 6,5 bilhões de litros de leite fluido comercializado no país, 4,8 bilhões de litros eram de leite UHT. A Tetra Pak acredita que em 2012 o

consumo mundial de leite UHT irá crescer a uma taxa anual média de 5,2%, atingindo mais de 70 bilhões de litros (ROCHA, 2009).

O sistema UHT é praticamente o único que permite a conservação e o prolongamento da durabilidade em temperatura ambiente, embora a qualidade microbiológica da matéria prima seja um requisito para o sucesso desse sistema (BIZARI et al, 2003). O tratamento térmico utilizado no processamento do leite UHT, altera o teor de nutrientes, principalmente das vitaminas hidrossolúveis e também provoca mudanças nas características sensoriais (ROCHA, 2004). Já os componentes da matéria são pouco sensíveis aos tratamentos térmicos moderados. É necessário realizar o aquecimento prolongado durante várias horas a 70 - 80°C, para se detectar a degradação dos glicerídeos (VEISSEYRE, 1988).

Sendo assim, devido ao aumento do consumo de leite UHT e ao fato de diversos autores no país (COELHO et al., 2001; REZENDE et al., 2000; MARTINS et al, 2005; SANTOS, 2006; BERSOT et al., 2010) terem encontrado alterações físico-químicas e contagem de micro-organismos fora dos padrões determinados pela legislação, acredita-se ser importante avaliar a qualidade do leite consumido em nossa região.

## **2 OBJETIVO**

Avaliar as características físico-químicas, microbiológicas e estimativa de geleificação de 3 marcas de leite UHT, ao longo de 150 dias de armazenamento.



### **3 DESENVOLVIMENTO**

Segundo Silva et al (1997), o leite fresco, produzido sob condições ideais, apresenta sabor pouco pronunciado, não ácido e não amargo. O leite deve ter as seguintes características e propriedades: ser agradável (com preservação das suas propriedades de sabor, cor, odor, viscosidade); estar limpo (livre de sujeiras, micro-organismos e resíduos); ser íntegro (composição correta e conservação adequada) e ser seguro (não causar problemas à saúde) (EMBRAPA, 2008).

Conforme o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Produtos Lácteos do MAPA (BRASIL, 1996), o leite UHT deve obedecer as seguintes características sensoriais: aspecto líquido, cor branca, odor e sabor característicos, ausência de sabores e odores estranhos. O leite integral deve apresentar as seguintes características físico-químicas: mínimo 3% de gordura, acidez entre 14 e 18<sup>o</sup>D, estabilidade ao álcool de 68% e, no mínimo, 8,2% de extrato seco desengordurado. Ainda de acordo com o mesmo Regulamento, o leite UHT não deve ter micro-organismos capazes de se multiplicar em condições normais de armazenamento e distribuição.

Os principais elementos que definem a qualidade do leite são: gordura, proteína; células somáticas (macrófagos, linfócitos, neutrófilos e células epiteliais); contagem bacteriana; adulteração por água, resíduos e antibióticos; qualidade sensorial (odor, sabor, aspecto) e temperatura (MONARDES, 1998).

#### **3.1 COMPOSIÇÃO DO LEITE**

Dentre os diferentes componentes do leite, a água apresenta-se em maior proporção, e os demais são formados principalmente por gordura, proteínas e carboidratos, todos sintetizados na glândula mamária. Existem, também, pequenas quantidades de substâncias minerais, substâncias hidrossolúveis transferidas

diretamente do plasma sanguíneo, proteínas específicas do sangue e traços de enzimas (TRONCO, 2003).

A composição do leite de vaca está descrita no quadro 1.

Quadro 1 - Principais constituintes do leite e suas quantidades.

<b>Principais componentes</b>	<b>Composição média</b>
Água	87%
Sólidos totais	13%
Gordura	3,9%
Proteínas	3,4%
Lactose	4,8%
Sais minerais	0,8%

Fonte: Adaptado de ANTUNES, 2003.

### 3.1.1 ÁGUA

O componente que existe no leite em maior quantidade é a água (87%), onde se encontram dissolvidos, suspensos ou emulsionados os demais componentes (carboidratos, lipídios, sais minerais, vitaminas e proteínas) (PEREIRA et al., 2001). Como causa da variação da porcentagem de água na composição do leite salientam-se os seguintes fatores: a raça do gado e o tempo de lactação (ROCHA, 2004).

### 3.1.2 SÓLIDOS TOTAIS

As definições de sólidos totais (ST) ou extrato seco total (EST) englobam todos os componentes do leite, com exceção da água. Os sólidos não-gordurosos (SNG) ou extrato seco desengordurado (ESD) compreendem todos os elementos do leite, menos a água e a gordura (TRONCO, 2003).

### 3.1.3 GORDURA

A gordura do leite, na sua maior proporção, está formada por triglicerídeos (97-98%), e menores quantidades de esteróis, ácidos graxos livres e fosfolipídios. Os glóbulos de gordura apresentam-se protegidos por uma membrana de natureza protéica, na qual estão associados fosfolipídios, proteínas e outras substâncias (GONZÁLEZ, 2001).

A presença da gordura é, ainda, um fator importante para determinar a palatabilidade dos alimentos, pois contém um número alto de lipídios de tamanho molecular pequeno, de ácidos gordurosos de cadeia curta e seus derivados, que contribuem ao sabor, aroma e, no caso dos lipídios, para a sensação na boca (VARNAM; SUTHERLAND, 1995).

A gordura é o constituinte que mais sofre variações em razão da alimentação, raça, estação do ano e período de lactação, podendo variar de 3,5 e 5,3% (PEREIRA et al., 2001).

### 3.1.4 PROTEÍNAS

As proteínas do leite são subdivididas em: caseína (80%) e proteínas do soro (20%). A caseína é uma substância coloidal complexa, associada ao cálcio e ao fósforo, podendo ser coagulada por ação de ácidos, coalho e/ou álcool. Trata-se de um grupo de fosfoproteínas específicas, que apresentam baixa solubilidade num pH de 4,6 (TRONCO, 2003).

São constituídas por micelas com 40 a 300 nm de diâmetro. As micelas são formadas por submicelas, grosseiramente esféricas, contendo agregados de várias moléculas de caseína, mantidas unidas por interações hidrofóbicas e pontes salinas. Fosfato de cálcio amorfo liga as submicelas entre si, com participação de ésteres fosfatos. Desta forma, quase todas as regiões nas moléculas de caseína têm mobilidades restritas (SILVA; ALMEIDA, 2000).

As caseínas do leite podem subdividir-se basicamente em 05 tipos:  $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  e K (VARNAM; SUTHERLAND, 1995).

As proteínas do soro são um conjunto de substâncias nitrogenadas que não precipitam quando o pH do leite atinge 4,6, que corresponde ao ponto isoelétrico (pKi) da caseína bruta. Por isto, são denominadas, também, proteínas solúveis. Encontram-se no soro que se separa do coágulo obtido por adição do coalho (VEISSEYRE, 1988).

A lactoalbumina ou albumina é inteiramente solúvel na água, não se coagula pelo coalho, mas sim pelos ácidos e pelo calor. É constituída por  $\alpha$ -lactoalbumina,  $\beta$ -lactoglobulina e soroalbumina (FOX; McSWEENEY, 1998).

A  $\alpha$ -lactoalbumina é muito solúvel em água e pH 6,0, porém é menos solúvel na zona de pH 4 - 4,6. Representa cerca de 25% da fração das albuminas. Desempenha atividade biológica participando da síntese da lactose, como uma das unidades protéicas da lactose sintetase, exercendo a função de proteína modificadora; está presente em todos os leites que contém lactose (VEISSEYRE, 1988).

A  $\beta$ -lactoglobulina representa cerca de 60% da fração de albumina. É a proteína mais abundante no soro (2 a 3 g/L). É praticamente insolúvel em água, mas solúvel em presença de sais. É desnaturada por tratamentos térmicos acima de 65 °C; sua estrutura é modificada, expondo grupos nucleofílicos bastante reativos (SH e NH<sub>2</sub>) capazes de reagir com outras proteínas. A sua desnaturação térmica pode causar a precipitação ou coagulação. A sua termoresistência é inferior à da  $\alpha$ -lactoalbumina (FOX; McSWEENEY, 1998).

A soroalbumina é oriunda do sangue e solúvel em água, sendo encontrada em concentrações mais elevadas no leite mastítico. A soroalbumina é constituída por um único polipeptídeo com 585 aminoácidos, 17 ligações dissulfídicas, um grupo sulfidril livre. Sua resistência térmica é intermediária, situando-se entre a de  $\beta$ -lactoglobulina (mais resistente) e a das imunoglobulinas. Representa, aproximadamente, de 5 a 6% da fração das albuminas (VEISSEYRE, 1988).

As lactoglobulinas representam de 10 a 12% das proteínas solúveis. Apresentam atividade imunológica importante, sendo chamadas imunoglobulinas (VEISSEYRE, 1988).

A estabilidade das proteínas do leite depende dos sais em solução, principalmente dos íons cálcio, magnésio, fosfatos e citratos. A elevação da atividade do cálcio, a baixa atividade de fosfatos e citratos e sucessivos tratamentos térmicos provocam instabilidade. Qualquer desequilíbrio entre os níveis dos cátions bivalentes e dos ânions polivalentes reduz a estabilidade da caseína (FOX; McSWEENEY, 1998).

### 3.1.5 LACTOSE

A lactose é um dissacarídeo característico do leite. Este carboidrato é obtido pela reação (ligação covalente) de alfa ou beta-glucose com a beta-galactose, ligados por ligações  $\beta$  1, 4 glicosídicas (GONZALEZ; CAMPOS, 2003).

A sua concentração, embora relativamente constante, varia de 4,4 a 5,2%, e depende do teor de sais no leite, com os quais mantém a pressão osmótica igual à do sangue (PINHEIRO; MOSQUIM, 1991).

A lactose é uma importante fonte de energia na dieta e pode facilitar a absorção do cálcio. Porém, o uso de lactose como fonte de energia está limitado pela porcentagem relativamente alta de pessoas intolerantes a esse carboidrato (VARNAM; SUTHERLAND, 1995).

### 3.1.6 SAIS MINERAIS

Os minerais representam cerca de 0,6 - 0,8% do peso do leite e são designados como cinzas, representando o resíduo que fica depois que o leite foi submetido ao processo de incineração. Entre os minerais encontrados no leite, o cálcio representa um papel importante para a saúde humana (TRONCO, 2003).

Além da presença de cálcio e fósforo, o leite contém potássio, ferro, manganês, zinco, sódio, iodo, enxofre, cobre, entre outros (VERRUMA; SALGADO, 1994).

Os complexos salinos do leite possuem tamanhos que variam desde ultrafiltrados, que incluem íons livres e complexos iônicos, até os que alcançam tamanho coloidal. Alguns deste último tipo participam da estrutura das micelas de caseína (FENNEMA, 2000). Eles controlam a termoestabilidade do leite, além de processos de coagulação (cálcio) (TRONCO, 2003).

### 3.1.7 VITAMINAS

O leite é uma importante fonte de vitaminas, onde se podem encontrar todas as vitaminas conhecidas, apesar de estarem em concentrações muito baixas (PEREIRA et al., 2001).

O leite é fonte de vitaminas lipossolúveis (A, D, E e K), e hidrossolúveis (C, B1, B2, B6, ácido pantotênico, niacina, biotina e ácido fólico) (VEISSEYRE, 1988).

## 3.2 GELEIFICAÇÃO

A geleificação constitui-se em um dos principais problemas que afetam a qualidade do leite UHT. O processo UHT promove o aumento da viscosidade do leite, mas não a sua coagulação, já que o tempo de aquecimento é curto. Durante o período de estocagem, a viscosidade do leite aumenta, até a formação do gel (geleificação), indicando que o produto não está mais apto para o consumo (HILL, 1988).

Os mecanismos envolvidos no fenômeno de geleificação compreendem, basicamente, alterações das proteínas do leite, associação e dissociação de íons cálcio, formação de polímeros provenientes da reação de Maillard, formação e dissociação do complexo  $\kappa$ -caseína com as proteínas do soro e participação de enzimas naturais do leite (plasmina) e proteases bacterianas, produzidas por psicrotóxicos (LEWIS, 1986; HILL, 1988).

Alguns pesquisadores acreditam que o fenômeno de geleificação é induzido, inicialmente, pela ação de enzimas (proteases) termorresistentes

presentes, naturalmente, no leite e/ou provenientes de bactérias, principalmente do grupo dos psicotróficos. Estas enzimas apresentam a capacidade de degradar as caseínas e promover a agregação das micelas do leite. Quando a contagem de bactérias psicotróficas atinge nível igual ou superior a  $10^7$  UFC/mL, as proteases produzidas por esses micro-organismos são capazes de degradar quantidades consideráveis de caseína (SHAH, 1994). Segundo Richardson e Newstead (1979), amostras de leite UHT, estocadas à temperatura de 30 °C, que apresentam níveis de protease superiores a 1 nanograma/mL podem causar alterações no produto, como aparecimento de sabor amargo e geleificação.

### **3.3 SEDIMENTAÇÃO**

A ocorrência de sedimentos durante a estocagem é considerada como um dos maiores problemas apontados pelas indústrias que processam leite UHT. No produto final, a sedimentação reduz a vida de prateleira e pode ocasionar rejeição do leite UHT pelo consumidor. A sedimentação pode ser entendida como um efeito da perda progressiva de estabilidade protéica no leite submetido a tratamentos térmicos. Quando o leite é aquecido, as partículas coloidais estáveis são desestabilizadas por alterações que afetam as interações eletrostáticas e espaciais envolvidas na manutenção da integridade das micelas, como o abaixamento do pH, a deposição de fosfato de cálcio, a desfosforilação das caseínas e as reações de polimerização (FOX; McSWEENEY, 1998).

### **3.4 MICRO-ORGANISMOS DETERIORANTES EM LEITE**

Os micro-organismos deteriorantes em leite fazem parte de três grupos: mesófilos, termofílicos e psicotróficos (ROBINSON, 1987).

Os mesófilos apresentam temperatura ótima de crescimento entre 25°C e 30°C. Os principais gêneros que pertencem a esse grupo são: *Lactobacillus*, *Streptococcus* e *Lactococcus*; eles fermentam a lactose e produzem ácido láctico; causam acidificação do leite e coagulação da caseína. O controle se dá através do

resfriamento imediato do leite e medidas de higiene (ROBINSON, 1987).

O termo psicrotrófico foi bem definido em 1976, pela FIL (Federação Internacional de Laticínios), como micro-organismos que têm a capacidade de se multiplicar a 7°C ou menos, sem considerar sua temperatura ótima de crescimento. Alguns psicrotróficos crescem em temperaturas abaixo de 0°C e outros, podem crescer em temperaturas próximas a 37°C. Os psicrotróficos são considerados como o ponto mais importante na determinação da qualidade do leite, uma vez que apresentam multiplicação lenta, desenvolvem-se em temperaturas de refrigeração (BARUFFALDI; OLIVEIRA, 1998) e produzem grandes quantidades de enzimas lipolíticas e proteolíticas termorresistentes (BISHOP; WHITE, 1998; CRAVEN; MACAULEY, 1992). As proteases também conferem sabores indesejáveis ao leite e afetam suas propriedades tecnológicas (WALSTRA et al., 2006).

Os psicrotróficos não constituem um grupo taxonômico específico de micro-organismos e apresentam aproximadamente 15 gêneros diferentes, que foram isolados do leite e produtos derivados (SUHREN, 1989). Dentre as bactérias Gram negativas encontram-se *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Aeromonas*, *Serratia*, *Alcaligenes*, *Chromobacterium* e *Flavobacterium* spp; entre as bactérias Gram positivas estão *Bacillus*, *Clostridium*, *Corynebacterium*, *Streptococcus*, *Lactobacillus* e *Microbacterium*. Alguns gêneros de bolores e leveduras também apresentam características do grupo dos psicrotróficos e podem causar problemas de qualidade do leite (SORHAUG; STEPANIAK, 1997).

Os psicrotróficos termodúricos constituem um importante grupo de micro-organismos que, além de multiplicarem-se bem em temperaturas de refrigeração, podem sobreviver a temperaturas de pasteurização e produzir enzimas extracelulares termorresistentes, que comprometem a qualidade e o tempo de vida de prateleira do leite pasteurizado e seus derivados (MUIR, 1996); são micro-organismos Gram positivos, formadores ou não de esporos (COUSIN, 1982), sendo os formadores de esporos mais frequentes, os pertencentes ao gênero *Bacillus* (COUSIN, 1982; SORHAUG; STEPANIAK, 1997).



### **3.5 SISTEMAS UHT**

A utilização de altas temperaturas busca a segurança ou conservação do leite pelos efeitos deletérios do calor sobre os micro-organismos. O controle da multiplicação microbiana busca eliminar riscos à saúde do consumidor, e prevenir ou retardar as alterações indesejáveis do leite, aumentando seu prazo de validade (ABLLV, 2008).

De acordo com a Portaria nº 370, de 04 de setembro de 1997, do MAPA, entende-se por leite UHT, o leite homogeneizado que foi submetido, durante 2 a 4 segundos, a uma temperatura entre 130°C e 150°C, mediante um processo térmico de fluxo contínuo, imediatamente resfriado a uma temperatura inferior a 32°C e envasado sob condições assépticas em embalagens estéreis e hermeticamente fechadas.

O processo UHT, que dá origem ao leite chamado longa vida, permite obter um produto comercialmente estéril, ou seja, um produto que não contém micro-organismos capazes de se desenvolver nas condições normais de estocagem / comercialização. Este procedimento oferece dupla vantagem de uma longa conservação do leite de consumo sem a necessidade de refrigeração (BIEDRZYCKI; HAUSCHILDT, 2010).

### **3.6 TIPOS DE TRATAMENTO DO LEITE UHT**

Os tratamentos para o leite UHT, segundo o método de aquecimento são dois: a esterilização com equipamentos de aquecimento direto, por vapor, e a esterilização com equipamentos de aquecimento indireto, por meio de trocadores de calor (GAVA, 2007).

#### **3.6.1 TRATAMENTO DIRETO**

O processo UHT pode ser realizado pelo sistema direto, em que a esterilização do produto é obtida pela ação do calor proveniente de injeção direta de

vapor (infusão). Neste sistema, o leite é pré-aquecido em temperatura entre 70 e 80 °C e aquecido à temperatura de 130 a 150 °C, durante 2 a 4 segundos pela injeção de vapor quente e homogeneizado. Depois passa pela câmara de vácuo a fim de reduzir a temperatura e eliminar a água do vapor condensado e as substâncias presentes que podem causar odores indesejáveis ao produto. Em seguida, o leite é acondicionado assepticamente em embalagens estéreis e hermeticamente fechadas (LEWIS, 1986; SÁ; BARBOSA, 1990).

### 3.6.2 TRATAMENTO INDIRETO

O sistema indireto, no qual se utiliza o mesmo princípio de permutação de calor por placas, como na pasteurização, isto é, o leite é aquecido pelo calor proveniente de dispositivos metálicos (placas ou tubos) condutores de energia calorífica. Como na pasteurização, o aquecimento destes dispositivos se dá por meio de água quente ou vapor (LEWIS, 1986; SÁ, 1990).

O sistema funciona em pressões positivas de maneira a evitar que o leite ferva nas altas temperaturas aplicadas. Na verdade, o processo UHT ocorre em faixas de temperaturas crescentes - com o avançar da incrustação nas paredes do trocador de calor - de 130°C a 140°C, por exemplo; atingindo pressões de 2 a 6 atm. Essas incrustações (*fouling film*) – que consistem de proteínas do soro desnaturadas e depósitos de cálcio - levam a um aumento gradativo da pressão no sistema até tornar necessário a realização de paradas de limpeza. Leites mamáticos, com teores anormalmente elevados de proteínas solúveis, favorecem uma taxa de incrustação mais alta (BIEDRZYCKI; HAUSCHILDT;2010).

## 3.7 EMBALAGEM

A embalagem de leite UHT, é composta, segundo a portaria nº370 de 4 setembro de 1997, dos seguintes itens:

- Polietileno: duas camadas impedem o contato direto do alimento com a camada de alumínio;

- Alumínio: evita a entrada de ar e luz, perda de aromas e contaminações;
- Polietileno: oferece aderência do papel ao alumínio;
- Papel: garante a estrutura a embalagem
- Polietileno: protege da umidade externa.

O acondicionamento asséptico consiste no envase do produto comercialmente esterilizado na embalagem esterilizada, seguido de fechamento hermético em meio asséptico, a fim de evitar a re-contaminação microbiológica do leite fluido no resfriamento após a esterilização e durante todo o período de estocagem e distribuição. Como o leite esterilizado é um produto de larga conservação, os recipientes de envase devem ser opacos, impermeáveis à água e a gases, sem sabor e odor, resistentes aos pré-tratamentos térmicos e químicos e de fácil utilização. A esterilização da embalagem pode ser feita por calor ou por agentes químicos ou ainda uma combinação dos dois métodos (VEISSEYRE, 1988).

### **3.8 INFLUÊNCIA DO TRATAMENTO TÉRMICO SOBRE OS CONSTITUINTES DO LEITE**

As alterações na acidez titulável do leite, em razão do tratamento térmico, variam de acordo com o tempo e temperatura empregados e podem ser: liberação de dióxido de carbono dissolvido, levando a redução na acidez; insolubilização do fosfato de cálcio, com conseqüente elevação na acidez; degradação térmica da lactose, que ocorre em temperaturas acima de 100 °C, com conseqüente elevação na acidez e desnaturação de soroproteínas, expondo grupos com caráter ácido, com conseqüente elevação na acidez (SILVA, 2004).

O aquecimento do leite a 120 °C por 10 minutos provoca um abaixamento no pH do leite em 0,09 unidades. Em temperaturas altas, o pH tende a ser muito menor, em conseqüência da maior dissociação da água, da precipitação de fosfato tricálcico e da produção de ácido (SILVA, 2004).

O aquecimento do leite causa alterações estruturais em proteínas; as proteínas do soro são mais sensíveis ao calor que as caseínas, pouco afetadas pelo

tratamento térmico. No processo de pasteurização, há desnaturação das proteínas do soro de 10 a 20%; no sistema UHT com injeção de vapor direto, de 40 a 60%; e no sistema UHT indireto, de 70 a 80% (TRONCO, 2003). As imunoglobulinas são as proteínas do soro mais termolábeis, e apresentam a seguinte ordem crescente de estabilidade: albumina sérica,  $\beta$ -lactoglobulina e  $\alpha$ -lactoalbumina (VARNAM; SUTHERLAND, 1995).

Os componentes da matéria gorda são pouco sensíveis aos tratamentos térmicos moderados. É necessário realizar um aquecimento prolongado durante várias horas a 70-80°C para se detectar uma degradação dos glicerídeos. (VEISSEYRE, 1988).

As vitaminas lipossolúveis A, D e E e as hidrossolúveis biotina, ácido nicotínico, ácido pantotênico e riboflavina são relativamente estáveis ao calor e não se produzem perdas muito significativas das mesmas durante a pasteurização e nos tratamentos UHT. Durante a pasteurização perde-se menos de 10% de ácido fólico, tiamina, vitamina B6 e vitamina B12; as perdas de vitamina B6 são ligeiramente maiores no tratamento UHT. As perdas mais importantes se produzem na vitamina C, cujo conteúdo total (ácido ascórbico e ácido dehidroascórbico) se reduz a 10-25% durante a pasteurização e em 25% ou mais durante o tratamento UHT. As perdas do conteúdo total de vitamina C se devem quase por completo, à sua instabilidade ao calor da forma oxidada, o ácido dehidroascórbico, e, portanto, podem reduzir-se limitando a quantidade de oxigênio dissolvido contido no leite (VARNAN; SUTHERLAND, 1995).

O aquecimento de dissoluções de lactose acarreta conseqüências tecnológicas importantes, sobretudo quando o açúcar está em presença de proteína. Isto é a origem do escurecimento não enzimático observado durante a fabricação e armazenamento dos diversos produtos lácteos. Quando os cristais de lactose são aquecidos a temperaturas mais elevadas, observa-se, primeiramente, a perda da água de cristalização a 110-130 °C, seguido de amarelamento a 150 °C, e escurecimento (marrom) a 170 °C, devido à caramelização (VEISSEYRE, 1988).

O escurecimento do leite durante o aquecimento se deve à reação entre o grupo aldeído da lactose e o grupo amino das proteínas (Reação de *Maillard*) e a polimerização (caramelização) das moléculas de lactose. Também é possível que a lactose se decomponha, por oxidação, em ácidos orgânicos, o que explicaria,

em parte, o aumento de acidez que se produz durante a esterilização do leite. No meio alcalino, a termodestruição da lactose pode dar lugar à aparição de uma cor cinza, mais ou menos escura, que se observam freqüentemente nos processos de cocção (AMIOT, 1991).

## **4 MATERIAL E MÉTODOS**

### **4.1 AMOSTRAGEM:**

As amostras de leite UHT foram adquiridas em supermercados da cidade de Rolândia – PR; foram avaliadas três marcas diferentes de leite UHT, sendo 2 lotes diferentes por marca. Para cada lote foram necessárias 3 caixas, uma utilizada para análises físico-químicas, uma para análises microbiológicas, uma para geleificação e proteólise, totalizando 6 caixas por marca. Como as análises aconteceram em 5 períodos diferentes (30, 60, 90, 120 e 150 dias de fabricação), um total de 90 caixas foram analisadas.

As análises físico-químicas ocorreram em triplicata, e as microbiológicas, em duplicata.

### **4.2 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS:**

#### **4.2.1 Preparação das amostras**

Seguindo as recomendações da Instrução Normativa nº. 62, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, de 26 de agosto de 2003, as caixas de leite UHT foram agitadas por 25 vezes antes da realização das análises.

#### **4.2.2 Análises físico-químicas**

A) Determinação da Gordura: Na determinação da gordura foi utilizado o butirômetro de Gerber, separando e quantificando a gordura por meio de tratamento da amostra com ácido sulfúrico e álcool amílico, conforme metodologia AOAC

(1997). A leitura foi realizada na escala do butirômetro, após centrifugação e imersão em banho-maria a 65 a 66 °C.

B) Determinação da Acidez Titulável: A determinação da acidez titulável consistiu na titulação de determinado volume de leite por uma solução alcalina de hidróxido de sódio 0,111 ou 0,1 mol/L, utilizando a fenolftaleína como indicador (BRASIL, 2006).

C) Determinação do pH: Na determinação do pH, conforme PEREIRA et al., 2000, foi empregado o método potenciométrico.

D) Determinação da Estabilidade ao álcool: Para a determinação da estabilidade térmica através da graduação do álcool, foram empregadas soluções de etanol de concentração padronizada de 68%, 72%, 78% e 80%, descrito por BRASIL (2006).

E) Determinação do Extrato Seco Total: Para a determinação do extrato seco total foi utilizado a técnica da pesagem.(LUTZ, 2005). A equação utilizada foi a seguinte:

$$\text{EST} = \frac{\text{Peso Placa seca} - \text{Peso do Conjunto}}{\text{Peso da Amostra}} \times 100$$

F) Determinação do Extrato Seco Desengordurado: O extrato seco desengordurado foi calculado pela diferença algébrica entre os teores de extrato seco total da amostra e seu respectivo teor de gordura (LUTZ, 2005).

G) Determinação da Densidade: Para determinação de densidade a 15 °C (g/cm<sup>3</sup>) foi realizada a imersão do aparelho termolactodensímetro na proveta constando a amostra de leite, corrigindo a densidade lida para a densidade a 15 °C por meio de fórmula, conforme BRASIL (2006).

H) Determinação da Crioscopia: Para a análise da crioscopia ou ponto de congelamento foi empregado crioscópio eletrônico (BRASIL, 2006).

I) Avaliação da Proteólise: foi realizada através da determinação de nitrogênio total (NT), nitrogênio não caseico (NNC) e nitrogênio não protéico (NNP) sendo os dois últimos realizados pelos métodos de obtenção da fração solúvel em pH 4,6 e em ácido tricloroacético a 12%, respectivamente (AOAC, 1995). Assim, as nomenclaturas NNC e NNP foram utilizadas para expressar a proteólise, ambas como porcentagem do NT. As equações utilizadas foram as seguintes:

### **Cálculo para nitrogênio não-caseíco**

$$\% \text{NNC} = \frac{1,4007 \times (V_a - V_b) \times N \times f_c \times 2 \times 0,994}{p_a}$$

onde:

V<sub>a</sub>= volume de titulante gasto p/ titular a amostra

V<sub>b</sub>= volume de titulante gasto p/ titular o branco

N = normalidade do HCl

f<sub>c</sub> = fator de correção do HCl utilizado

p<sub>a</sub>= peso de amostra, em gramas

0,994 = correção do volume de precipitado, considerando leite integral. Se o leite for desnatado, considerar o fator 0,998.

2: fator de diluição se for digerido a alíquota de 50 mL. Se for digerido o volume total da filtração, não considerar esse fator.

Proteólise primária= NNC/NT x 100

### **Cálculo para nitrogênio não-protéico**

$$\% \text{NNP} = \frac{V \cdot N \cdot F_c \cdot 1,4008 \cdot 20}{p_a \cdot p_b}$$

onde:

V, f<sub>c</sub>, N = HCl utilizado na titulação.

p<sub>a</sub> e p<sub>b</sub> = peso das alíquotas, em g.

20 = diluição

Proteólise secundária NNP/NT x 100



### 4.3 ANÁLISES MICROBIÓLOGICAS:

#### 4.3.1 Preparação das amostras:

As caixas de leite UHT foram previamente incubadas em estufa a  $36 \pm 1$  °C por 7 dias e posteriormente verificadas ocorrências de alterações das características do produto. As diluições realizadas foram decimais em solução salina peptonada 0,1%, segundo *International Dairy Federation* (IDF, 1998). Após a pré-incubação, as amostras visualmente inalteradas foram agitadas por 25 vezes antes do início das análises (BRASIL, 2003).

Antes da abertura das embalagens, estas foram higienizadas externamente com etanol 70%. Com auxílio de tesoura previamente esterilizada, as embalagens foram abertas em fluxo laminar para realização das análises microbiológicas (BRASIL, 2003).

Todos os resultados foram fornecidos em UFC/mL e em todas as análises foi utilizada uma placa apenas com o meio de cultura específico de cada análise para controle de esterilidade.

#### 4.3.2 Análises microbiológicas:

A) Contagem de aeróbios mesófilos: Para contagem de micro-organismos aeróbios mesófilos utilizou-se o volume de 1 mL de cada diluição que foi semeada em profundidade, em placa com PCA (*Plate Count Agar*). As amostras ficaram incubadas a  $32$  °C  $\pm$   $1$  °C por  $48$  h  $\pm$   $3$ h, segundo o *Standart Methods for the Examination of Dairy Produts* (FRANK; CHRISTEN; BULLERMAN, 1992).

B) Contagem de psicotróficos: Para a contagem total de micro-organismos psicotróficos, 0,1 mL das diluições das amostras foram semeadas na superfície do meio de cultura PCA com o auxílio da alça de Drigalski, incubando-as a  $21$  °C/25 horas (FRANK; CHRISTEN; BULLERMAN, 1992).

C) Contagem de termodúricos: Para determinação de micro-organismos termodúricos, foram transferidos 5 mL de leite para um tubo de ensaio estéril que foi aquecido em banho-maria a 62,8 °C, por 30 minutos. Após este período, a amostra foi resfriada a 10 °C e 1 mL desta amostra estéril foi semeada em ágar PCA em profundidade, incubando-se as placas a 32 °C ± 1 °C por 48 h ± 3h (FRANK; CHRISTEN; BULLERMAN, 1992).

#### **4.4 ESTIMATIVA DE GELEIFICAÇÃO: (BIZARI; PRATA; RABELO, 2003):**

Foi estimada a geleificação dos leites UHT, através da visualização, por 3 avaliadores não treinados, utilizando-se uma escala de valores de 0 a 5:

- 0 = ausência de sedimento ou geleificação;
- 1 = sedimento ou geleificação somente no fundo da embalagem;
- 2 = sedimento ou geleificação de aproximadamente ¼ conteúdo;
- 3 = comprometendo cerca de ½ do conteúdo;
- 4 = comprometendo cerca de ¾ do conteúdo;
- 5 = geleificação completa do conteúdo.

## **5 ANÁLISE ESTATÍSTICA:**

Os parâmetros físico químicos de pH, acidez titulável, densidade, índice crioscópico, extrato seco desengordurado, proteína total e índices de proteólise foram avaliados através de análise de variância (ANOVA) e Teste de Tukey, ambos ao nível de 5% de significância, utilizando o programa Statistica (STATSOFT, 2000).

## **6 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **6.1 ANÁLISES FÍSICO - QUÍMICAS**

A legislação vigente (BRASIL,1997) estabelece padrões físico químicos para o leite UHT integral de mínimo de 3% de gordura, acidez titulável entre 14 e 18 °D (0,14 a 0,18 de acidez em gramas de ácido láctico/100ml), estabilidade ao etanol a 68%, no mínimo 8,2% de ESD e pH 6,6 e 6,8. A legislação em questão, não estabelece padrões físico-químicos de densidade, extrato seco total (EST) e índice crioscópico para o leite UHT, mas apesar disto, estes padrões são importantes parâmetros de qualidade. No presente trabalho foram utilizados os seguintes valores para os outros parâmetros: densidade entre 1028 e 1034 g/mL e o índice crioscópico máximo aceitável de -0,530 °H (BRASIL, 2002), pH variando entre 6,6 a 6,8 a 20 °C (WALSTRA et al., 2006), EST mínimo de 11,5% e ESD mínimo de 8,2%, (BRASIL,2002).

#### **6.1.1 pH**

As análises de pH durante os 150 dias de armazenamento das 3 marcas de leite UHT, mantiveram-se inseridas dentro dos valores considerados normais para o pH de leite que é de 6,6 a 6,8 (FOX; MCSWEENEY,1998), conforme tabela 1. Houve diferença significativa ( $p < 0,05$ ) ao longo do armazenamento para as três marcas para o pH, havendo redução do parâmetro analisado ao longo dos 150 dias de armazenamento.

A variação de pH durante o tempo de armazenamento do leite UHT pode ser devido aos ácidos formados nas reações de Maillard, á desfosforilação de caseínas e as reações proteína-proteína que resultam na liberação de íons H<sup>+</sup> (AL-SAADI; DEETH, 2008).

Tabela 1: Resultados das análises de pH de 3 marcas de leite UHT ao longo do armazenamento (30, 60, 90, 120 e 150 dias) comercializadas em Rolândia – PR, no período de julho a novembro de 2010.

Marcas	pH				
	30 dias	60 dias	90 dias	120 dias	150 dias
M1 / L1	6,8	6,8	6,6	6,7	6,6
M1 / L2	6,8	6,8	6,6	6,7	6,6
<b>Media M1</b>	<b>6,8<sup>a</sup></b>	<b>6,8<sup>a</sup></b>	<b>6,6<sup>c</sup></b>	<b>6,7<sup>b</sup></b>	<b>6,6<sup>c</sup></b>
M2 / L1	6,8	6,8	6,6	6,7	6,6
M2 / L2	6,7	6,8	6,6	6,6	6,6
<b>Média M2</b>	<b>6,75<sup>b</sup></b>	<b>6,8<sup>a</sup></b>	<b>6,6<sup>d</sup></b>	<b>6,65<sup>c</sup></b>	<b>6,6<sup>e</sup></b>
M3 / L1	6,7	6,7	6,6	6,6	6,6
M3 / L2	6,7	6,7	6,6	6,6	6,6
<b>Média M3</b>	<b>6,7<sup>b</sup></b>	<b>6,7<sup>a</sup></b>	<b>6,6<sup>d</sup></b>	<b>6,6<sup>c</sup></b>	<b>6,6<sup>d</sup></b>

\*Valor de referência: 6.6 a 6.8

<sup>a,b,c</sup>. Para cada marca, valores com letras iguais na mesma linha não diferem estatisticamente ( $p < 0,05$ )

Os valores de pH e acidez do leite não são equivalentes, embora, haja uma relação inversa, ou seja, à medida que a acidez se eleva, ocorre abaixamento do pH. A exigência na obtenção de uma boa correlação está ligada no fato de que na determinação da acidez são quantificados os prótons hidrogênio livres (íons) e acessíveis (ionizáveis/ dissociáveis); por outro lado, apenas os prótons hidrogênio livres (íons) são quantificados na determinação do pH (SILVA; TORRES, 1995).

Santos (2006), avaliou as características físico-químicas de 2 lotes de leite UHT, em Uberada – MG, durante o período de estocagem. Os valores de pH, encontrados estavam dentro dos valores de referencia, tendo apenas uma amostra com pH 6,5 alterada em 120 dias de analises.

Martins et.al. (2008), analisaram 30 amostras do leite UHT, em uma industria do estado de São Paulo –SP. Das amostras de leite UHT, apenas uma apresentou resultado de pH = 6,4 e o restante das amostras mantiveram-se dentro dos valores de referência de pH 6,6 a 6,8.

### 6.1.2 ACIDEZ TITULÁVEL (ACIDEZ DORNIC)

O teste de acidez titulável, das diferentes marcas de leite UHT, mantiveram-se dentro dos valores de referência estabelecidos, de 14 a 18 °D, com exceção da marca 1 que apresentou acidez aumentada em um lote no dia 150, conforme tabela 2.

Quanto à acidez titulável, houve diferença significativa ( $p < 0,05$ ), ao longo do armazenamento para a marca M1, exceto entre os dias 60 e 90. Para a Marca M2 não foi observada diferença ( $p > 0,05$ ) ao longo dos 120 dias e para a marca M3 a diferença significativa ( $p < 0,05$ ) ocorreu no dia 90, quando comparado com os demais dias de análises.

Tabela 2: Resultados das análises de titulação de acidez (°D) de 3 marcas de leite UHT ao longo do armazenamento (30, 60, 90, 120 e 150 dias) comercializadas em Rolândia – PR, no período de julho a novembro de 2010.

Marcas	ACIDEZ (°D)				
	30 dias	60 dias	90 dias	120 dias	150 dias
M1 / L1	16	17	17	16	19
M1 / L2	16	16	16	15	18
<b>média M1</b>	<b>16<sup>bc</sup></b>	<b>16,5<sup>b</sup></b>	<b>16,5<sup>b</sup></b>	<b>15,5<sup>c</sup></b>	<b>18,5<sup>a</sup></b>
M2 / L1	15	16	16	16	17
M2 / L2	16	16	16	15	18
<b>média M2</b>	<b>15,5<sup>b</sup></b>	<b>16<sup>b</sup></b>	<b>16<sup>b</sup></b>	<b>15,5<sup>b</sup></b>	<b>17,5<sup>a</sup></b>
M3 / L1	17	17	18	17	16
M3 / L2	16	17	18	16	17
<b>média M3</b>	<b>16,5<sup>b</sup></b>	<b>17<sup>b</sup></b>	<b>18<sup>a</sup></b>	<b>16,5<sup>b</sup></b>	<b>16,5<sup>b</sup></b>

\*Valor de referência: 14°D a 18°D.

<sup>a,b,c</sup> Para cada marca, valores com letras iguais na mesma linha não diferem estatisticamente ( $p < 0,05$ )

A acidez titulável dentro do estabelecido pode ser um indicativo de que o leite possui baixa contagem de micro-organismos mesófilos e de que foi armazenado sob refrigeração adequada (SHIRAI, 2010). A acidez pode ser proveniente da acidificação do leite por micro-organismos presentes em multiplicação e que fazem o desdobramento da lactose, pela presença de citrato, fosfatos e a própria proteína em quantidades elevadas.

Andrioli et al. (2004) avaliaram 50 amostras de leite UHT de 15 marcas diferentes, comercializadas em Juiz de Fora (MG). Das 50 amostras analisadas, 12 apresentaram valores de acidez fora do padrão. Bersot et al. (2010) encontram 7,3% das 150 amostras de leite UHT fora dos padrões determinados pela legislação. Martins et al. (2008) analisaram 150 amostras de leite UHT, a cada 2 meses, em 6 etapas diferentes do processamento e todos os resultados obtidos estavam dentro dos padrões estabelecidos pela legislação.

### **6.1.3 GORDURA**

Os valores de gordura analisados em 150 dias das 3 marcas de leite UHT, se mantiveram em maior parte das amostras analisadas, valores médios abaixo do mínimo exigido, que de acordo com o regulamento técnico de identidade e qualidade do leite UHT integral é de 3,0% (BRASIL, 1996) (tabela 3). Somente nas análises de 30 e 60 dias, a marca M3 teve valores acima do mínimo, ou seja, 3,1 e 3,2% (tabela 3), respectivamente.

Diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) foram observadas nas marcas M1 e M2 ao longo do armazenamento para a porcentagem de gordura. Nestas marcas as porcentagens de gordura variaram entre 1,7 e 2,65% para M1 e 1,7 e 2,8% para m2. Para marca M3 a diferença significativa ( $p < 0,05$ ) ocorreu a partir dos 60 dias de armazenamento, onde a porcentagem de gordura ficou abaixo do mínimo de 3%.

Tabela 3: Resultados das análises de gordura (%) de 3 marcas de leite UHT ao longo do armazenamento (30, 60, 90, 120 e 150 dias) comercializadas em Rolândia – PR, no período de julho a novembro de 2010.

Marcas	GORDURA (%)				
	30 dias	60 dias	90 dias	120 dias	150 dias
M1 / L1	2,50	2,00	2,00	2,30	1,50
M1 / L2	2,80	2,10	2,60	2,70	1,90
<b>média M1</b>	<b>2,65<sup>a</sup></b>	<b>2,05<sup>bc</sup></b>	<b>2,30<sup>ab</sup></b>	<b>2,50<sup>a</sup></b>	<b>1,70<sup>c</sup></b>
M2 / L1	2,80	2,10	2,80	2,60	1,50
M2 / L2	2,60	2,20	2,80	3,00	1,90
<b>média M2</b>	<b>2,70<sup>a</sup></b>	<b>2,15<sup>b</sup></b>	<b>2,80<sup>a</sup></b>	<b>2,80<sup>a</sup></b>	<b>1,70<sup>c</sup></b>
M3 / L1	3,10	3,10	2,40	2,10	1,90
M3 / L2	3,20	3,10	2,70	2,20	2,00
<b>média M3</b>	<b>3,15<sup>a</sup></b>	<b>3,10<sup>a</sup></b>	<b>2,55<sup>b</sup></b>	<b>2,15<sup>b</sup></b>	<b>1,95<sup>b</sup></b>

\*Valor de referência: mínimo de 3,0% para leite integral.

<sup>a,b,c</sup>. Para cada marca, valores com letras iguais na mesma linha não diferem estatisticamente ( $p < 0,05$ )

A redução do teor de gordura no leite UHT pode ser proveniente de um leite inicial com um baixo teor de gordura ou estar associada a diluição do componente gorduroso através da adição de água ou soro ao leite. Segundo Santos; Fonseca (2000) o leite cru com baixa porcentagem de gordura pode ocorrer devido ao alto teor de concentrados na dieta, alimentos muito moídos ou rápida degradação ruminal, mudanças bruscas na dieta, estresse térmico e falta de conforto.

Andrioli et al. (2004), analisaram 15 marcas diferentes de leite UHT, tendo 50 amostras analisadas, em Juiz de Fora (MG). Os resultados obtidos foram que 9 amostras das 50 analisadas não continham o percentual mínimo de gordura exigido por lei.

Domareski (2009), avaliando diferentes marcas de leite UHT em 3 países do Mercosul encontrou, para o teor de gordura o teor de gordura, 100% das amostras do Brasil dentro dos valores mínimos, porém 75% das amostras da Argentina e 25% do Paraguai estavam abaixo dos padrões determinados pela legislação.

Bersot et al. (2010) analisaram 150 amostras de leite UHT integral de três marcas comercializadas em Palotina (PR) e 29% das amostras tiveram o teor de gordura em desacordo com a legislação vigente.



#### 6.1.4 DENSIDADE

A densidade das diferentes marcas de leite UHT mantiveram-se dentro dos valores de referência (1,028 a 1,034 g/cm<sup>3</sup>) nos 120 dias de armazenamento (Tabela 4). No dia 150 duas marcas (M1 e M2) apresentaram valores de densidade abaixo dos padrões estabelecidos, amostras estas que apresentaram os menores teores de gordura encontrados ao longo do estudo (Tabela 2). Já a marca M3 manteve-se com 150 dias de estocagem dentro dos padrões mínimos estabelecidos (Tabela 4).

A Marca M1 apresentou diferença significativa ( $p < 0,05$ ) para a densidade ao longo dos 150 dias de análises, com valores variando entre 1025,8 e 1030,9 g.cm<sup>3</sup>. Na marca M2, diferença significativa ( $p < 0,05$ ) ocorreu apenas a partir dos 120 dias onde a densidade aos 150 dias estava abaixo do limite mínimo. Na marca M3 não foi observada diferença ( $p > 0,05$ ) estatística, exceto na análise do dia 60, embora todas as amostras estivessem dentro dos padrões de normalidade.

Tabela 4: Resultados das análises de densidade (g/cm<sup>3</sup>) de 3 marcas de leite UHT ao longo do armazenamento (30, 60, 90, 120 e 150 dias) comercializadas em Rolândia – PR, no período de julho a novembro de 2010.

Marcas	DENSIDADE (g/cm <sup>3</sup> )				
	30 dias	60 dias	90 dias	120 dias	150 dias
M1 / L1	1029,4	1029,4	1029,4	1030,4	1025,8
M1 / L2	1028,4	1030,4	1028,4	1031,4	1025,8
<b>média M1</b>	<b>1028,9<sup>c</sup></b>	<b>1029,9<sup>b</sup></b>	<b>1028,9<sup>c</sup></b>	<b>1030,9<sup>a</sup></b>	<b>1025,8<sup>d</sup></b>
M2 / L1	1029,4	1030	1029,4	1029,4	1019,7
M2 / L2	1029,4	1030	1029,4	1029,4	1026,8
<b>média M2</b>	<b>1029,4<sup>a</sup></b>	<b>1030<sup>a</sup></b>	<b>1029,4<sup>a</sup></b>	<b>1029,4<sup>a</sup></b>	<b>1023,2<sup>b</sup></b>
M3 / L1	1028,4	1030	1028,4	1028,4	1028,8
M3 / L2	1028,4	1029	1028,4	1029,4	1028,8
<b>média M3</b>	<b>1028,4<sup>b</sup></b>	<b>1029,5<sup>a</sup></b>	<b>1028,4<sup>b</sup></b>	<b>1028,9<sup>b</sup></b>	<b>1028,8<sup>b</sup></b>

\*Valor de referência: 1028 a 1034 g/cm<sup>3</sup>.

<sup>a,b,c</sup>. Para cada marca, valores com letras iguais na mesma linha não diferem estatisticamente ( $p < 0,05$ )

A variação da densidade do leite é decorrente da presença de vários componentes, diluídos ou não na água, os quais apresentam densidades variáveis, sendo esses responsáveis por constituir o leite. Assim, dentre as causas anormais

de variação da densidade, pode-se destacar a adição de água, que leva a uma diminuição na densidade do leite. Já o desnatado e a adição de amido faz a densidade aumentar (AGNESE et al., 2002). Neste estudo pode-se observar que apesar das baixas porcentagens de gordura encontradas nas amostras de leite, o índice de densidade manteve-se dentro do limite estabelecido na maioria das amostras (Tabela 4).

Arruda et al. (2007) avaliaram 5 marcas de leite UHT integral comercializadas em supermercados de Arapongas – PR, durante o prazo de validade, tendo apenas 2 amostras com valores acima dos de referência.

Martins et al. (2006) avaliaram 55 amostras de 20 marcas diferentes produzidas nos Estados de Minas Gerais, Goiás, Rio Grande do Sul, São Paulo, Rio de Janeiro e Paraná, onde todas as amostras analisadas apresentaram valores de densidade dentro dos valores de referência. Soares; Zuppa, (2007) avaliaram 10 amostras de leite UHT comercializadas na cidade de Anápolis-GO, onde os valores da densidade se mantiveram dentro do intervalo de referência, que é de 1,028 a 1.034 g/cm<sup>3</sup>.

### **6.1.5 ÍNDICE CRIOSCÓPICO (IC)**

A análise crioscópica da Marca M1 apresentou valores dentro daqueles estabelecidos pela legislação, que é de no máximo -0,530 °H (Tabela 5), (BRASIL, 2002). A marca M2 apresentou IC dentro do normal, exceto em 90 dias de armazenamento, com valor médio abaixo do normal. A marca M3 apresentou valores abaixo do valor de referência ao longo de toda a vida de prateleira do leite UHT (Tabela 5), indicando a adição de substâncias, citrato de sódio, por exemplo, que abaixam o ponto de congelamento do leite.

Na marca M1 houve diferença significativa ( $p < 0,05$ ) para o IC durante os 150 dias de estocagem com valores variando entre -0,530 e -0,540° H. A marca M2 e M3 apresentaram diferença ( $p < 0,05$ ) apenas no dia 90 de análise com IC de -0,554 ° H e -0,565 ° H, respectivamente.

Tabela 5: Resultados das análises de crioscopia (°H) de 3 marcas de leite UHT ao longo do armazenamento (30, 60, 90, 120 e 150 dias) comercializadas em Londrina – PR, no período de julho a novembro de 2010.

Marcas	ÍNDICE CRIOSCÓPICO (°H)				
	30 dias	60 dias	90 dias	120 dias	150 dias
M1 / L1	-0,534	-0,535	-0,546	-0,536	-0,538
M1 / L2	-0,527	-0,529	-0,535	-0,528	-0,528
<b>média M1</b>	<b>-0,530<sup>a</sup></b>	<b>-0,532<sup>a</sup></b>	<b>-0,540<sup>b</sup></b>	<b>-0,532<sup>a</sup></b>	<b>-0,533<sup>ab</sup></b>
M2 / L1	-0,541	-0,538	-0,546	-0,539	-0,540
M2 / L2	-0,532	-0,540	-0,563	-0,534	-0,533
<b>média M2</b>	<b>-0,536<sup>b</sup></b>	<b>-0,539<sup>b</sup></b>	<b>-0,554<sup>a</sup></b>	<b>-0,536<sup>b</sup></b>	<b>-0,536<sup>b</sup></b>
M3 / L1	-0,551	-0,555	-0,564	-0,548	-0,551
M3 / L2	-0,551	-0,551	-0,566	-0,556	-0,561
<b>média M3</b>	<b>-0,551<sup>b</sup></b>	<b>-0,553<sup>b</sup></b>	<b>-0,565<sup>a</sup></b>	<b>-0,552<sup>b</sup></b>	<b>-0,556<sup>b</sup></b>

\*Valor de referência: -0,550 a -0,530 °H

<sup>a,b,c</sup>: Para cada marca, valores com letras iguais na mesma linha não diferem estatisticamente (p<0,05)

Os componentes responsáveis pelo abaixamento do ponto de congelamento são a lactose, alguns minerais, certas proteínas solúveis, e os gases dissolvidos (oxigênio, nitrogênio, e dióxido de carbono). A lactose e os cloretos são os que mais afetam o ponto de congelamento. O conservante citrato de sódio que é adicionado legalmente ao leite UHT, pode ter influência no resultado do índice crioscópico, uma vez que diminui o ponto de congelamento do leite.

Já a adição de água ao leite altera o índice crioscópico, fazendo com que os valores se aproximem de zero, por que se diluem as concentrações dos componentes que estão em solução verdadeira na água do leite (TRONCO, 2003).

Rabelo (2003) examinou 90 amostras de leite UHT e observou que, com exceção de uma amostra que estava em divergência com o padrão para crioscopia, as demais encontravam-se de acordo com o estabelecido pela legislação vigente. Em trabalho semelhante ao de Rabelo, Barros et al. (2003) e Santos (2006) analisaram os parâmetros físico-químicos de leite UHT e observaram que para a crioscopia, todas as amostras estavam em concordância com os padrões da legislação.

### 6.1.6 EXTRATO SECO TOTAL (EST) e EXTRATO SECO DESENGORDURADO (ESD)

Os valores de Extrato Seco Total das três marcas de leite UHT analisadas, com exceção da marca M3 em 90 dias de armazenamento, estão abaixo do valor mínimo de referência, que é de 11,5% (BRASIL, 2002). O ESD das 3 marcas apresentou-se abaixo do mínimo exigido de 8,2% ao longo dos 150 dias, exceto a média das marcas M1 com 120 e 150 dias, M2 com 150 dias e M3 com 90 dias (Tabelas 6 e 7).

Houve diferença estatística ( $p < 0,05$ ) para o EST e ESD somente para a marca M3 durante os 150 dias de armazenamento. O valor de EST na última análise foi de 9,8%, sendo que nos outros períodos este parâmetro variou entre 10,705 e 11,14%. O ESD variou entre 7,85% (150 dias) e 8,6% (90 dias)

Tabela 6: Resultados das análises de extrato seco total (EST) (%) de 3 marcas de leite UHT ao longo do armazenamento (30, 60, 90, 120 e 150 dias) comercializadas em Rolândia – PR, no período de julho a novembro de 2010.

MARCAS	30 dias EST (%)	60 dias EST (%)	90 dias EST (%)	120 dias EST (%)	150 dias EST (%)
M1 / L1	10,61	10,01	11,2	10,62	14,89
M1 / L2	10,72	10,32	10,47	11,35	8,97
<b>média M1</b>	<b>10,665<sup>a</sup></b>	<b>10,165<sup>a</sup></b>	<b>10,855<sup>a</sup></b>	<b>10,855<sup>a</sup></b>	<b>11,93<sup>a</sup></b>
M2 / L1	10,97	10,27	10,96	10,72	13,36
M2 / L2	10,73	10,39	10,96	11,2	9,23
<b>média M2</b>	<b>10,85<sup>a</sup></b>	<b>10,33<sup>a</sup></b>	<b>10,96<sup>a</sup></b>	<b>10,96<sup>a</sup></b>	<b>11,295<sup>a</sup></b>
M3 / L1	11,08	10,67	11,7	10,83	9,74
M3 / L2	11,2	10,74	11,7	11,47	9,86
<b>média M3</b>	<b>11,14<sup>b</sup></b>	<b>10,705<sup>c</sup></b>	<b>11,7<sup>a</sup></b>	<b>11,15<sup>b</sup></b>	<b>9,8<sup>d</sup></b>

\*Valor de referência: mínimo de 11,5% para EST e 8,2% para ESD

<sup>a,b,c</sup> Para o ESD de cada marca, valores com letras iguais na mesma linha não diferem estatisticamente  $p < 0,05$ .

Tabela 7: Resultados das análises de extrato seco desengordurado (ESD) (%) de 3 marcas de leite UHT ao longo do armazenamento (30, 60, 90, 120 e 150 dias) comercializadas em Rolândia – PR, no período de julho a novembro de 2010.

MARCAS	30 dias	60 dias	90 dias	120 dias	150 dias
	ESD (%)	ESD (%)	ESD (%)	ESD (%)	ESD (%)
M1 / L1	8,11	8,01	8,2	8,32	13,39
M1 / L2	7,92	8,22	7,87	8,65	7,07
<b>média M1</b>	<b>8,015<sup>a</sup></b>	<b>8,115<sup>a</sup></b>	<b>8,035<sup>a</sup></b>	<b>8,485<sup>a</sup></b>	<b>10,22<sup>a</sup></b>
M2 / L1	8,17	8,17	8,16	8,12	11,86
M2 / L2	8,13	8,19	8,16	8,2	7,33
<b>média M2</b>	<b>8,15<sup>a</sup></b>	<b>8,18<sup>a</sup></b>	<b>8,16<sup>a</sup></b>	<b>8,16<sup>a</sup></b>	<b>9,595<sup>a</sup></b>
M3 / L1	7,98	8,27	8,6	7,93	7,84
M3 / L2	8	8,04	8,6	8,27	7,86
<b>média M3</b>	<b>7,99<sup>b</sup></b>	<b>8,155<sup>c</sup></b>	<b>8,6<sup>a</sup></b>	<b>8,1<sup>a</sup></b>	<b>7,85<sup>bc</sup></b>

\*Valor de referência: mínimo de 8,2% para ESD

<sup>a,b,c</sup>. Para o ESD de cada marca, valores com letras iguais na mesma linha não diferem estatisticamente  $p < 0,05$ .

Denomina-se matéria seca total ou extrato seco total (EST) todos os componentes do leite menos a água (PEREIRA et al., 2001), assim a determinação do EST tem como objetivo verificar fraudes por adição de água, verificar a integridade do leite e estimar o rendimento na indústria de produtos lácteos (EMBRAPA, 2007). A matéria seca desengordurada ou extrato seco desengordurado (ESD) corresponde aos componentes do leite, menos a gordura e a água. (TRONCO, 2003).

Segundo Martins et al. (2008), a redução do EST pode ocorrer devido ao aumento no teor de água do leite, o que pode gerar a diluição do ESD, diminuindo a sua concentração no leite. Segundo Luquet (1991) o resultado de EST está relacionado intimamente com a densidade e o teor de gordura do leite. Neste estudo as amostras analisadas apresentaram um baixo teor de gordura (Tabela 3) e um índice crioscópico (Tabela 5) sem indicação da adição de água, sendo assim a baixa porcentagem de gordura o provável responsável pelos valores abaixo dos determinados pela legislação para o EST.

Trabalho realizado por Domaresk (2009), analisou 4 marcas de cada país de leite UHT comercializadas no Brasil, Argentina e Paraguai e quanto ao teor de ESD verificou que três marcas comercializadas no Brasil, quatro marcas comercializadas na Argentina e quatro marcas comercializadas no Paraguai apresentaram-se abaixo do estabelecido.

Silva et al. (2003), analisando a qualidade físico-química de amostras de leite UHT, observaram que 70% das amostras estavam em desacordo com a

legislação para EST e 50% em relação ao ESD. Martins (2008), que analisou 150 amostras de leite UHT, a cada 2 meses em 6 etapas diferentes, verificou que o EST das 6 amostras, apenas 1 estava acima do valor mínimo exigido de 11,5%. Bersot et al. (2010), em Palotina (PR), encontram 50,7% das amostras de UHT com ESD em desacordo com a legislação

### **6.1.7 RESISTÊNCIA AO ÁLCOOL 68, 72,78 e 80%**

As 3 marcas de leite UHT durante as análises de 30, 60, 90 e 120 dias encontraram-se estáveis quando analisadas com diferentes porcentagens de álcool; com 150 dias somente a marca 1, lote 1 ficou instável ao álcool 68%, estando as outras duas marcas estáveis à diferentes concentrações de álcoois.

Sabe-se que a estabilidade da fração protéica do leite diminui com o aumento da acidez. Portanto, a coagulação pode ocorrer por efeito de acidez elevada ou desequilíbrio salino, quando é promovida a desestabilização das micelas pelo álcool (TRONCO,2003).



Figura 1: Análise de estabilidade ao álcool 68% do leite UHT (Marca M1/Lote 1) com 150 dias de armazenamento, comercializadas em Rolândia – PR, no período de julho a novembro de 2010.

### 6.1.8 ÍNDICE DE PROTEÓLISE

Todas as marcas de leite UHT, ao longo dos 150 dias de armazenamento tiveram um índice de proteólise primária e secundária crescentes (gráfico 1 e 2), ocorrendo um aumento de proteólise primária significativa ( $p < 0,05$ ) para as 3 marcas entre 90 e 120 dias (gráfico 1). Na marca M1 os valores de NNC foram de 7,00 com 90 dias e de 11,5 com 120 dias. Na marca M2 o NNC foi de 8,45 e 14,40 para 90 e 150 dias respectivamente. Para marca M3 o NNC passou de 9,15 (90 dias) para 12,60 com 120 dias.

A proteólise secundária apresentou aumento significativo ao longo dos 150 dias de armazenamento para as marcas M1, com NNP de 5,50 com 30 dias e 9,75 com 150 dias, e M2, com NNP de 5,50 para 30 dias e 11,20 para 150 dias (gráfico2). Na marca M3 os valores de NNP também foram crescentes (gráfico 1), variando entre 8,15 (30 dias) e 11,85, não havendo diferença significativa ( $p < 0,05$ ) apenas entre os dias 90 e 120.

Vidal- Martins et al. (2005) acompanharam a evolução do índice proteolítico e da viscosidade aparente durante 120 dias de prateleira do leite UHT, observando o aumento do índice proteolítico no decorrer do armazenamento e da viscosidade aparente após 60 dias, que foi relacionado a presença de proteases produzidas por psicrotóxicos no leite cru. Entretanto os autores não encontraram correlação entre a viscosidade e a proteólise. Já neste estudo, observou-se nas 3 marcas estudadas o aumento da viscosidade associada aos índices de proteólise ao longo dos 150 dias, sendo estes dois parâmetros menores para a marca M1.

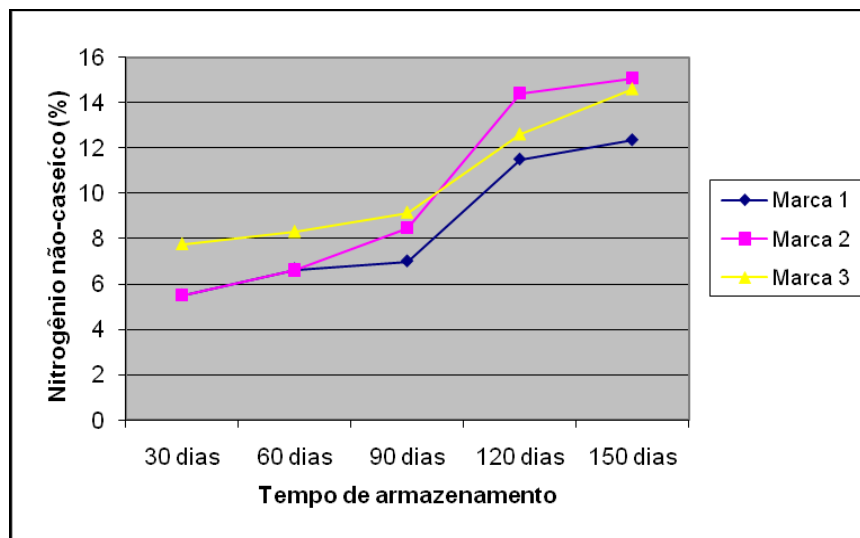


Gráfico 1: Índice de proteólise primária (%) de 3 marcas de leite UHT ao longo do armazenamento (30, 60, 90, 120 e 150 dias) comercializadas em Rolândia – PR, no período de julho a novembro de 2010.

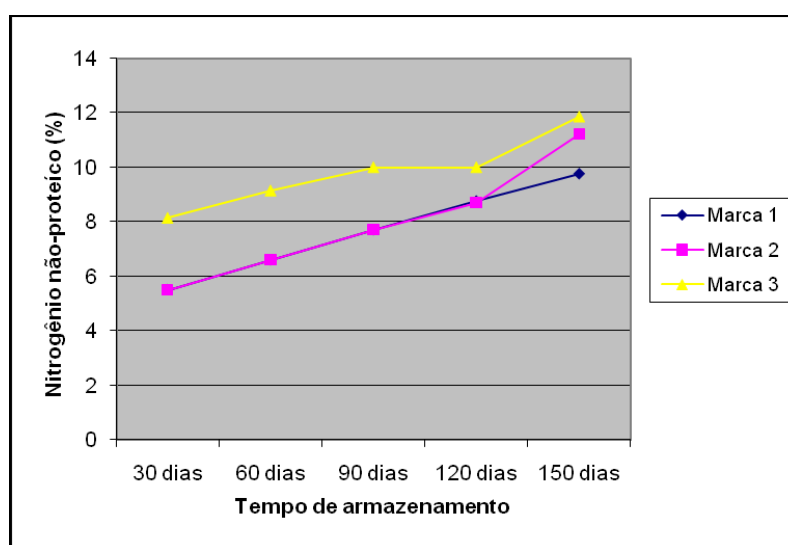


Gráfico 2: Índice de proteólise secundária (%) de 3 marcas de leite UHT ao longo do armazenamento (30, 60, 90, 120 e 150 dias) comercializadas em Rolândia – PR, no período de julho a novembro de 2010.

### 6.1.9 VISCOSIDADE e GELEIFICAÇÃO

Na análise de viscosidade, observou-se que houve um aumento da mesma conforme aumentou o tempo de armazenamento. O aumento da viscosidade



tornou-se mais evidente após os 120 dias, sendo mais marcante na análise de 150 dias das marcas M2 e M3, quando comparadas com a M1 (Gráfico 3)

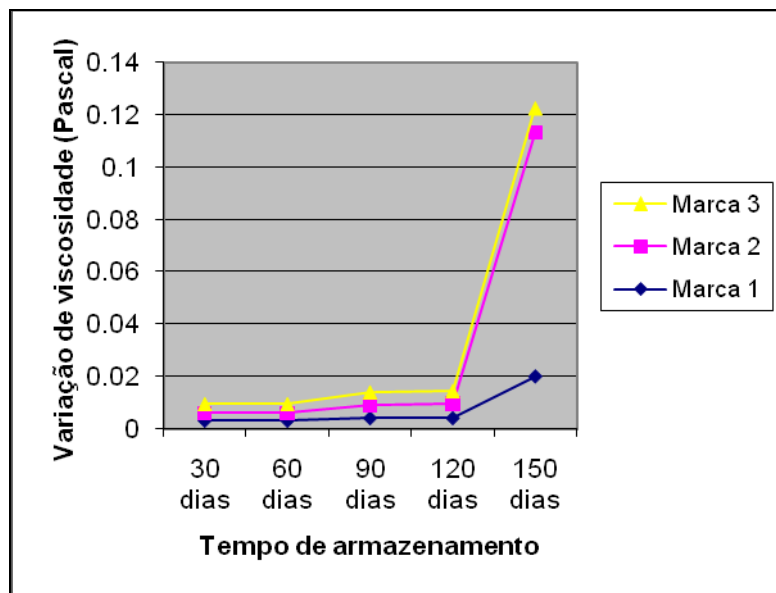


Gráfico 3: Resultados das análises de viscosidade (Pascal) de 3 marcas de leite UHT ao longo do armazenamento (30, 60, 90, 120 e 150 dias) comercializadas em Rolândia – PR, no período de julho a novembro de 2010.

O aumento da viscosidade do leite UHT ao longo do armazenamento também foi verificado por Abreu (2004) em Minas Gerais, Junior (2005), também em Minas Gerais e Martins (2005) em São Paulo.

No que diz respeito à geleificação, as 3 marcas de leite UHT analisadas apresentaram aumento na geleificação (gráfico 4), associado ao aumento da viscosidade e da proteólise

Das 3 marcas analisadas, todas atingiram grau de geleificação de no mínimo 2 (sedimento ou geleificação de aproximadamente  $\frac{1}{4}$  do conteúdo) com 150 dias, sendo a marca M2 a que apresentou o maior grau de geleificação comprometendo cerca de  $\frac{1}{2}$  do conteúdo. Considerando-se a data de validade dos leite, de 120 dias, todas as três marcas apresentariam algum grau de geleificação, variando entre 1 e 2 (gráfico 4). Law et al. (1977) concluíram que a geleificação de leite UHT é um fator que contribui para a limitação da vida de prateleira desse produto.

Segundo Harwalkar (1997), na geleificação observa-se alteração na viscosidade, com espessamento do produto, podendo culminar na formação de gel, sem separação de soro, na maioria dos casos. Neste trabalho também foi observado e associado ao longo dos 150 dias o aumento da geleificação com o da viscosidade, bem como dos índices de proteólise.

A geleificação geralmente é oriunda da atividade das enzimas termoresistentes (proteases e lipases) produzidas por micro-organismos psicotróficos, que com o passar do tempo de armazenamento do leite UHT, começam agir e a degradar as proteínas e a gordura do leite, gerando o fenômeno conhecido como geleificação (CUNHA; BRANDÃO, 2000; SANTOS; FONSECA, 2000). As lipases e as proteases degradam a caseína e promovem a agregação das micelas do leite. De acordo com Adams et al. (1976) acredita-se que a geleificação está associada à severidade do tratamento térmico e à quantidade de bactérias psicotróficas no leite, pois amostras de leite submetidas a tratamento térmico a 75 °C/10 segundos, gelificaram após uma semana em temperatura ambiente, quando a contagem de micro-organismos psicotróficos foi de  $10^9$  UFC/mL. Já no leite aquecido a 135° C/10 segundos, a geleificação ocorreu nas mesmas condições de estocagem, com amostras apresentando uma contagem de micro-organismos psicotróficos de  $10^8$  UFC/mL.

Segundo Hill (1988), o processo UHT promove o aumento da viscosidade do leite, mas não a sua coagulação, já que o tempo de aquecimento é curto. Durante o período de estocagem, a viscosidade do leite aumenta, até a formação do gel (geleificação), indicando que o produto não está apto para o consumo. A geleificação pode ter também a participação de enzimas naturais do leite (plasmina) e das proteases bacterianas (psicotróficos).

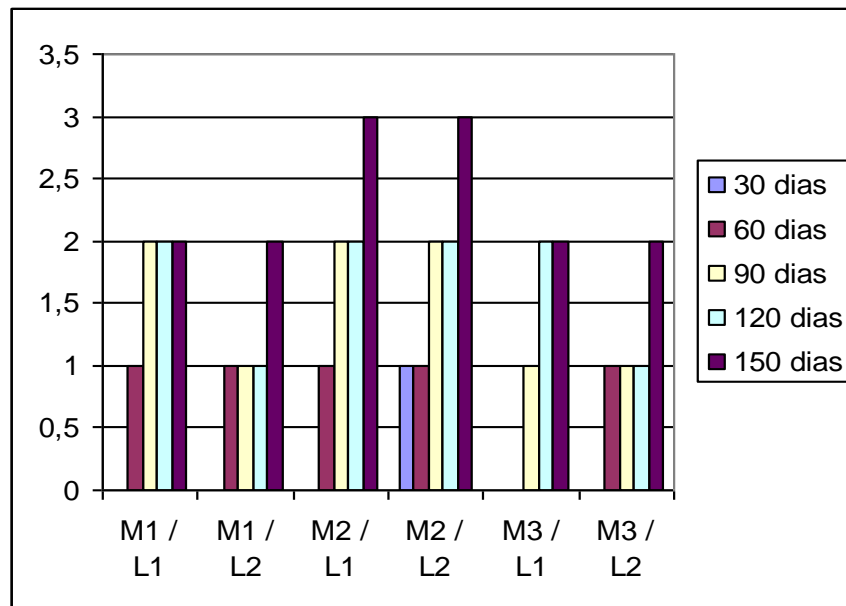


Gráfico 4: Análise da geleificação das 3 marcas de leite UHT ao longo do armazenamento (30, 60, 90, 120 e 150 dias) comercializadas em Rolândia – PR, no período de julho a novembro de 2010.

Tem sido comum o aparecimento de alterações no leite UHT, como geleificação, sedimentação, coagulação parcial ou total. Estas alterações começaram a surgir principalmente pela interpretação errônea que o processo UHT corrigia todos os problemas anteriores da matéria-prima, principalmente os de ordem microbiológica, uma vez que promoveria a esterilização do produto. O aumento da viscosidade no leite UHT durante o tempo de estocagem é um dos principais indícios da geleificação. A geleificação no leite UHT é antecedida pela alteração da viscosidade e espessamento do produto, culminando na formação de gel, sem separação de soro, na maioria dos casos.



Figura 2: Geleificação da marca M2 / lote 2 de leite UHT no dia 150 de armazenamento (10/11/2010) comercializado em Rolândia – PR, no período de julho a novembro de 2010.

## 6.2 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS

De acordo com o regulamento de identidade e qualidade do leite UHT (BRASIL, 1996), o leite UHT não deve ter micro-organismo capaz de se proliferar em condições normais de armazenamento e distribuição após uma incubação na embalagem fechada a 35-37°C, durante 7 dias, podendo apresentar contagem máxima de mesófilos de 100 UFC/mL. Para a contagem de psicrotóxicos, utilizou-se como critério de qualidade o Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal: BRASIL - RIISPOA (1976), onde o leite deve apresentar no máximo 10% de micro-organismos psicrotóxicos, em relação a contagem total de aeróbios mesófilos. Para micro-organismos termodúricos não há padrões determinados pela legislação.

Quanto a contagem de aeróbios mesófilos, as marcas M1 e M2 não atenderam aos requisitos da legislação com 120 dias, que estabelece o máximo de 100 UFC de mesófilos/ mL de leite. O mesmo comportamento observou-se na marca M3 com 150 dias, mas já fora do prazo de validade do produto (Tabela 8). Presença de micro-organismos mesófilos acima do mínimo estabelecido pela legislação foi

relatada por diversos autores em estudos de qualidade de leite UHT no Brasil (BERSOT et al., 2010; MARTINS, 2005; COELHO et al., 2001).

Tabela 8: Contagem de micro-organismos aeróbios mesófilos (UFC/mL) em 3 marcas de leite UHT ao longo do armazenamento (30, 60, 90, 120 e 150 dias) comercializadas em Rolândia – PR, no período de julho a novembro de 2010.

Marca	Aeróbios mesófilos (UFC/mL)				
	30 dias	60 dias	90 dias	120 dias	150 dias
M 1	< 1	< 1	< 1	$8,25 \times 10^2$	> 10
M 2	< 1	< 1	< 1	$3,87 \times 10^2$	> 10
M 3	< 1	< 1	< 1	< 1	$2,11 \times 10^2$

\*Os valores das marcas referem-se a média de 2 lotes diferentes

Deve-se ressaltar que o processamento térmico aplicado ao leite UHT pode ser capaz de reduzir, mas não de eliminar a carga microbiana encontrada no leite *in natura*. Assim, mediante o número de micro-organismos mesófilos encontrados neste estudo, entende-se que a matéria prima utilizada para processamento do leite UHT poderia não dotar de boa qualidade microbiológica ou ainda, associando este fator a problemas no tratamento térmico e/ou integridade das embalagens utilizadas no armazenamento destes leites

Em análise realizada na cidade de Jaboticabal por Martins et al. (2005), encontraram 22,7% das amostras de nove marcas de leite UHT com população de micro-organismos aeróbios mesófilos fora dos padrões. Foram analisadas por Coelho et al., (2001), oito marcas de leite UHT integral, comercializadas em Belo Horizonte, no ano de 2001, onde das 80 amostras 33 (41,2%) apresentaram contagem de bactérias mesófilas aeróbicas entre  $1,3 \times 10^4$  e  $1,4 \times 10^5$  UFC/ml.

Resultados semelhantes foram encontrados com as amostras obtidas em Jaboticabal e Ribeirão Preto, analisadas por Rezende et al., no ano 2000, onde os pesquisadores verificaram que das 120 amostras de leite UHT de quatro diferentes marcas, 36 (30%) não atenderam ao padrão estabelecido pela legislação brasileira, por encontrarem alta população de micro-organismos indicadores mesófilos.

Foschino et al., 1990 e Bahout, 2000 afirmam que as diferenças observadas entre as marcas podem ser atribuídas a vários fatores como: qualidade do leite cru (matéria-prima) e da água utilizada na higienização dos equipamentos, não treinamento da mão-de-obra empregada, processamento inadequado do leite e contaminação pós-tratamento térmico.

A presença de micro-organismos psicrotróficos também foi constatada a partir dos 120 dias nas marcas M1 e M2, mantendo-se presentes nos 150 dias nas 3 marcas (Tabela 9). O leite deve apresentar no máximo 10% de micro-organismos psicrotróficos, em relação à contagem total de aeróbios mesófilos, estando, portanto, as marcas em questão fora dos parâmetros de qualidade. Já a contagem de micro-organismos termodúricos foi observada somente após o fim do prazo de validade, nas análises de 150 dias para as 3 marcas avaliadas (Tabela 10).

Tabela 09: Contagem de micro-organismos psicrotróficos (UFC/mL) em 3 marcas de leite UHT ao longo do armazenamento (30, 60, 90, 120 e 150 dias) comercializadas em Rolândia – PR, no período de julho a novembro de 2010.

Marca	Psicrotróficos (UFC/mL)				
	30 dias	60 dias	90 dias	120 dias	150 dias
M 1	< 1	< 1	< 1	$1,27 \times 10^2$	$1,05 \times 10^2$
M 2	< 1	< 1	< 1	$2,39 \times 10^2$	$1,21 \times 10^2$
M 3	< 1	< 1	< 1	< 1	$2,1 \times 10^1$

\*Os valores das marcas referem-se a média de 2 lotes diferentes

Tabela 10: Contagem de micro-organismos termodúricos (UFC/mL) em 3 marcas de leite UHT ao longo do armazenamento (30, 60, 90, 120 e 150 dias) comercializadas em Rolândia – PR, no período de julho a novembro de 2010.

Marca	Termodúricos (UFC/mL)				
	30 dias	60 dias	90 dias	120 dias	150 dias
M 1	< 1	< 1	< 1	< 1	$2,58 \times 10^2$
M 2	< 1	< 1	< 1	< 1	$4,58 \times 10^2$
M 3	< 1	< 1	< 1	< 1	$5,14 \times 10^2$

\*Os valores das marcas referem-se a média de 2 lotes diferentes

A presença de micro-organismos psicrotróficos em leite UHT deve ter origem na carga inicial de micro-organismos no leite cru, obtido com falhas na

higiene de produção. Domaresk (2009), ao avaliar diferentes marcas de leite UHT no Brasil encontrou 50 % das amostras fora dos padrões de qualidade para a contagem de psicotróficos, com valores entre  $1,0 \times 10^2$  e  $2,0 \times 10^4$  UFC/ml.

As contagens de psicotróficos encontradas nas amostras estudadas podem estar relacionadas a falhas no tratamento térmico empregado nas amostras avaliadas ou a presença de micro-organismos psicotróficos termorresistentes (termodúricos), observados também quando foi pesquisado somente este grupo específico (tabela 10).

A contagem de micro-organismos psicotróficos no leite cru correlaciona-se positivamente com o aumento da viscosidade, e tendo isso como base, é admissível presumir que ocorre produção de enzimas proteolíticas termorresistentes pelas bactérias psicotróficas, ocasionando proteólise durante a estocagem do leite UHT.

Os micro-organismos termodúricos possuem a capacidade de resistir por 30 minutos sob uma temperatura de 63 °C ou 15 segundos em temperatura de 72 °C, sendo resistentes à pasteurização (BRITO et al, 2007), seja pela produção de esporos ou pela termoestabilidade a temperaturas mais altas. A alta contagem de micro-organismos termodúricos esta associada à falta de manejo higiênico dos equipamentos e utensílios de ordenha, assim como os tetos dos animais

Os psicotróficos termodúricos constituem um importante grupo de micro-organismos que, além de multiplicarem-se bem em temperaturas de refrigeração, podem sobreviver a temperaturas de pasteurização e produzir enzimas extracelulares termorresistentes, que comprometem a qualidade e o tempo de vida de prateleira do leite pasteurizado e seus derivados (MUIR, 1996); são micro-organismos Gram positivos, formadores ou não de esporos (COUSIN, 1982), sendo os formadores de esporos mais frequentes, os pertencentes ao gênero *Bacillus* (COUSIN, 1982; SORHAUNG; STEPANIAK, 1997).

Na perspectiva formada pela literatura, fica evidente que é fundamental evitar a formação de proteases termorresistentes no leite cru destinado ao processamento UHT. Para isso é necessário garantir boas condições higiênicas e o menor tempo possível de manutenção do leite cru sob refrigeração entre a ordenha e o processamento. A contaminação do leite por micro-organismos não

depende do sistema de produção ou tipo de ordenha utilizado nas propriedades, mas sim, das boas práticas aplicadas em todo o processo de produção leiteira (SILVA, 2004; SANTANA et al., 2001).



## 7. CONCLUSÃO

Quanto às análises físico-químicas, os parâmetros de pH, acidez titulável e estabilidade ao álcool atenderam aos requisitos mínimos de qualidade do leite UHT durante o prazo de 150 dias. A densidade manteve-se dentro da normalidade durante o prazo de validade.

Todas as amostras das três marcas de leite UHT analisadas não atenderam ao valor mínimo de gordura, extrato seco total (EST) e extrato seco desengordurado (ESD) ao longo dos 150 dias de análises. Quanto ao teor de gordura as marcas M1 e M2 apresentaram os piores índices. Para o EST e ESD as três marcas de modo geral não atenderam os padrões de qualidade mínimos.

O índice crioscópico apresentou-se fora dos padrões somente na marca M3, indicando a presença de soluto.

A viscosidade e a proteólise foram índices crescentes durante o período de análises para as três marcas, sendo mais intensos e evidentes para as marcas M2 e M3. A geleificação também foi crescente ao longo dos 150 dias de análises, sendo a marca M2 a que apresentou o maior grau de geleificação.

Das três marcas analisadas somente uma (marca M3) atendeu aos padrões microbiológicos quanto à contagem de aeróbios mesófilos dentro do prazo de validade. As 3 marcas não atingiram os parâmetros microbiológicos com 150 dias de estocagem para a contagem de mesófilos, psicrotróficos e termodúricos.

Pode-se observar que as alterações físico-químicas e microbiológicas foram mais acentuadas próximo aos 120 dias de fabricação, acarretando inclusive alterações perceptíveis pelo consumidor.

Das três marcas analisadas, a marca M2 foi a que apresentou o maior número de parâmetros físico químicos e microbiológicos fora dos requisitos mínimos de qualidade.

## 8 REFERÊNCIAS

- ABLV. Associação Brasileira de Leite Longa Vida. **Brasil – Mercado de leite longa vida**. Disponível em: <<http://www.ablv.org.br/Estatisticas.aspx>>. Acesso em: 20 set. 2010.
- ABREU, L.R. et al. **Influência de microorganismos psicotróficos na geleificação e sedimentação do leite UAT**. 2004. Disponível em: <<http://www.terraviva.com.br/IICBQL/p030.pdf>>. Acesso em: 02 nov. 2010.
- AGNESE, A.P. et al. Avaliação físico-química do leite cru comercializado informalmente no município de Seropédica. **Hig. aliment.**, São Paulo, v.16, n.94, p.58-61, mar. 2002.
- AI-SAAD, J.M.S.; DEETH, H. C. Cross-linking of proteins and other changes in UHT milk during storage at different temperatures. **Aut. j. dairy technol.**, Melbourne, v.63, n.3, p.93-99, 2008.
- AMIOT, J. **Ciência y tecnologia de la leche**: Principios y aplicaciones. Zaragoza: Acribia, 1991. 547p.
- ANDRIOLI, A.S et al. Padrões físico-químicos de identidade e qualidade do leite “Longa vida” (UHT) comercializado na cidade de Juiz de Fora, MG. **Rev. Inst. Laticínios Cândido Torres**, Juiz de Fora, v.59, [s.n.], p.50-54, 2004.
- ANTUNES, A.J. **Funcionalidade de proteínas do soro de leite bovino**. São Paulo: Manole, 2003. 135 p.
- AOAC. Association of Official Analytical Chemists. **Official methods of analysis**. 16.ed. Maryland, 1997.
- APHA. American Public Health Association. Milk and milk products. In: \_\_\_\_\_. (org). **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. Washington: APHA, 1992. p.837-856.
- ARRUDA, P.M. et al. Características físico-químicas do leite pasteurizado tipo C e leite Ultra Alta Temperatura comercializados na cidade do Rio de Janeiro. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, Rio de Janeiro, v.66, n.2, p.125-129, maio./ago. 2007.
- BARROS, V.R.M. et al. **Leite longa vida**: aspectos técnicos e econômicos. São Paulo: Associação Brasileira de Produtores de Leite B, 1992. 40p.
- BARUFFALDI, R.; OLIVEIRA, M.N. **Fundamentos de tecnologia de alimentos**. São Paulo: Atheneu, 1998.
- BERSOT, L.S. et al. Avaliação microbiológica e físico-química de leites UHT produzidos no Estado do Paraná – Brasil. **Semina ciênc. agrar.**, Londrina, v.31, n.3, p.645-652, jul./set. 2010.

BISHOP, J.R.; WHITE, C.H. Estimation of potencial shelflife of pasteurized fluid milk utilizing bacterial numbers and metabolites. **J. food protect.**, Des Moines, v.48, p.663-667, ago. 1998.

BIZARI, P.A.; PRATA, L.F.; RABELO, R.N. Eficiência da contagem microscópica a partir do leite UAT processado na retroavaliação da qualidade da matéria-prima. **Caderno Fazer Melhor**, Jaboticabal, p.70-78, maio/jun. 2003.

BRAMLEY, A.J.; McKINNON, C.H. The microbiology of raw milk. In: ROBINSON, R.K. (org.). **Dairy Microbiology: the microbiology of milk** 2.ed. London/New York: Elsevier Science, 1990. p.163-207.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Decreto nº. 30.691, de 29 de março de 1952. Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal – RIISPOA. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 1976.

\_\_\_\_\_. Instrução Normativa nº. 51, 18 de setembro de 2002. Anexo III do Regulamento Técnico de Produção, Identidade e Qualidade do Leite Tipo C. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 2002.

\_\_\_\_\_. Instrução Normativa nº. 62, 26 de agosto de 2003. Métodos analíticos oficiais para análises microbiológicas para controle de produtos de origem animal e água. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 2003.

\_\_\_\_\_. 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, 2006.

\_\_\_\_\_. Portaria nº. 146, de 07 de março de 1996. Regulamento técnico para fixação da identidade e qualidade do leite UHT (UAT). **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 1996.

\_\_\_\_\_. Portaria nº. 451, de 19 de Setembro de 1997. Estabelece padrões microbiológicos de alimentos. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 1997.

\_\_\_\_\_. Portaria nº. 370, de 4 de Setembro de 1997. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 1997.

BRITO, M.A. et al. **pH do Leite**. 2007. Disponível em: <<http://www.agencia.cnptia.embrapa.br>>. Acesso em: 19 set. 2010.

COELHO, P.S. et al. Avaliação da qualidade microbiológica do leite UAT integral comercializado em Belo Horizonte. **Arq. bras. med. vet. zool.**, Belo Horizonte, v.53, n.2, p.1-7, abr. 2001.

COUSIN, M.A. Presence and activity of psychrotrophic microorganisms in milk and dairy products: a review. **J. food protect.**, Des Moines, v.45, n.2, p.172-207, fev. 1982.

CRAVEN, H.M.; MACAULEY, B.J. Microorganisms in pasteurized milk after refrigerated storage. 2. Seasonal variation. **Aut. j. dairy technol.**, Melbourne, n.47, p.46-49, 1992.

DOMARESK, J.L. **Avaliação físico-química e microbiológica de leite UAT (Ultra Alta Temperatura) comercializados em três países do MERCOSUL (Brasil, Argentina e Paraguai)**. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia do Leite). 2009. 70p. Universidade Norte do Paraná – UNOPAR, Londrina, 2009.

EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Composição do leite**. 2008. Disponível em: <<http://www.agencia.cnptia.embrapa.br>>. Acesso em: 23 ago. 2010.

FENNEMA, O.R. **Química de los alimentos**. 2.ed. Zaragoza: Acribia, 2000.

FONSECA, L.F.L.; SANTOS, M.V. **Qualidade do Leite e Controle de Mastite**. São Paulo: Lemos Editorial, 2000.

FOSCHINO, R.; GALLI, A.; OTTTOGALLI, G. Research on the microflora of UHT milk. **Ann. microbiol.**, v.40, n.1, p.47-59, 1990.

FOX, P.F.; MCSWEENEY, P.L.H. **Dairy chemistry and biochemistry**. Londres: Blackie Academic, 1998.

FRANCO, B.D.G.M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos Alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2003, 182 p.

FRANK, J.F.; CHRISTEN, G.L.; BULLERMAN L.B. Tests for groups of microorganisms. In: MARSHALL, R. T. (org.). **Standard methods for the examinations of dairy products**. 6.ed. Washington: APHA, 1992. p.271-283.

GAVA, A.J. **Princípios de tecnologia de alimentos**. São Paulo: Nobel, 2007.

GONZALEZ, F.H.D. et al. Composição bioquímica do leite e hormônios da lactação. In: GONZÁLEZ, F.H.D.; DÜRR, J.W.; FONTANELI, R.S. (org.). **Uso do leite para monitorar a nutrição e o metabolismo de vacas leiteiras**. Porto Alegre: UFRGS, 2001, p. 5-22.

GONZALEZ, F.H.D.; CAMPOS, R. Indicadores metabólicos nutricionais do leite. In: Simpósio de Patologia Clínica Veterinária da Região Sul do Brasil, 1., 2003, Porto Alegre. **Anais...** Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2003. p.31-46.

HARWALKAR, V.R. Age gelatinon of sterilized milks. In: FOX, P.F. (org.). **Advanced dairy chemistry**, v.1. London: Chapman Hall, 1997. p.691-734.

HILL, A. Quality of ultra-high-temperature processed milk. **Food technol.**, Chicago, v.12, n.9, p.92-97, 1988.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz. **Métodos químicos e físicos para análise de alimentos**, v.1. 3.ed. São Paulo: IMESP, 1985. p.204-205.

INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION. **Enumeration of numbers of psychrotrophic microorganisms**. Brussels, 1991. 3 p. (International Standard, 132 A: 1991).

KOCAK, H.R.; ZADOW, J.G. Age gelation of UHT whole milk as influenced by storage temperature. **Aut. j. dairy technol.**, Melbourne, v.40, n.1, p.14-21, 1985.

LAW, B.A.; ANDREWS, A.T.; SHARPEK, A.E. Gelation of ultra-high-temperature-sterilized milk by proteases from a strain of *Pseudomonas fluorescens* isolated from raw milk. **J. dairy res.**, Cambridge, v.44, n.1, p.145-148, 1977.

LEWIS, M.J. Advances in heat treatment of milk. In: Robinson, R.K. (org.). **Modern dairy technology**, v.1. London: Elsevier Applied Science, 1986. p.1-50.

LUQUET, F. M. **Leche y productos lácteos (vaca-oveja-cabra): transformación y tecnologías**, v.2. Zaragoza: Acribia, 1993.

MANJI, B.; KAKUDA, Y. The role of protein denaturation, extent of proteolysis, and storage temperature on the mechanism of age gelation in model system. **J. dairy sci.**, Champaign, v.71, n.6, p.1455-1463, jun. 1988.

MANJI, B.; KAKUDA, Y.; ARNOTT, D.R. Effect of storage temperature on age gelation of ultra-high temperature milk processed by direct and indirect heating systems. **J. dairy sci.**, Champaign, v.69, n.2, p.2994-3001, dez. 1986.

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

MARTINS, A.M.C.V.; ROSSI JUNIOR, O.D.; LAGO, N.C.R. Microorganismos heterotróficos mesófilos e bactérias do grupo do *Bacillus cereus* em leite integral submetido a ultra alta temperatura. **Arq. bras. med. vet. zoo.**, Jaboticabal, v.57, n.3, p.396-400, fev./mar. 2005.

MARTINS, F.O. et al. **Avaliação da Composição, da Qualidade Físico-Química e Ocorrência de Adultrações em Leite UHT**. 2006. Disponível em: <<http://www.terraaviva.com.br/IICBQL/p043.pdf>>. Acesso em: 01 nov. 2010.

MILKNET. **Consumo de leite no Brasil é de 40% menor do que o recomendado**. Disponível em: <[www.milknet.com.br](http://www.milknet.com.br)>. Acesso em: 28 set. 2010.

MONARDES, H. Programa de pagamento de leite por qualidade em Québec, Canadá. In: Simpósio Internacional sobre Qualidade do Leite, 1., 1998, Curitiba-PR. **Anais...** Curitiba: UFPR, 1998. p.88.

MORAIS, D. **Produção de leite no Brasil**. 2010. Disponível em: <[blog.lecherialatina.com](http://blog.lecherialatina.com)>. Acesso em: 25 maio 2010.

MUIR, D.D. The fresh- life of Dairy Products: 1. Factors influencing raw milk and fresh products. **J. society dairy technol.**, Cumbria, v.49, n.1, p.24-32, fev. 1996.

PEREIRA, D.B.C. et al. **Físico-química do leite e derivados: métodos analíticos**. 2.ed. Juiz de Fora: EPAMIG, 2000.

PINHEIRO, A.J.R.; MOSQUIM, M.C.A.V. **Processamento de leite de consumo**. Viçosa-MG: Universidade Federal de Viçosa, 1991 (Apostila).

RÉVILLION, J.P. **Leite UHT (UAT)**. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Disponível em: <[http://www.ufrgs.br/alimentus/laticinios/leite\\_uht/uht\\_inicio.htm](http://www.ufrgs.br/alimentus/laticinios/leite_uht/uht_inicio.htm)>. Acesso em: 02 jul. 2010.

REZENDE, N.C.M. et al. Ocorrência de micro-organismos indicadores em leite UHT (“ultra-high-temperature”) integral. **Rev. bras. ciên. vet.**, v.7, p.58-60, 2000a.

REZENDE, N.C.M.; ROSSI Jr., O.D.; AMARAL, L.A. Ocorrência de bactérias do grupo do *Bacillus cereus* em leite UHT integral (ultra-high-temperature). **Rev. Bras. Ciên. Vet.**, Niterói, v.7, n.3, p.162-166, set./dez. 2000b.

RICHARDSON, B.C.; NEWSTEAD, D.F. Effect of heat-stable proteases on storage life of UHT milk. **New Zeal. j. dairy sci. tech.**, Palmerston North, v.14, n.3, p.273-279, 1979.

ROBINSON, R.K.; PHILL, M.A.D. **Microbiologia Lactológica**. Zaragoza: Acribia, 1987.

ROCHA, A.A.R. **Com impulso de emergentes, consumo global de leite cresce**. Disponível em: <<http://www.abiq.com.br/associados/noticia11.asp>> Acesso em: 25 ago. 2010.

ROCHA, G.L. **Influência do tratamento térmico no valor nutricional do leite fluido**. 2004. 44p. Trabalho de Conclusão de Curso (Engenharia de Alimentos). Universidade Católica de Goiás, Goiânia, 2004.

ROCHE. Nutrição de leite. **Receita**, São Paulo, v.2 n.39, nov./dez. 1991.

SÁ, F.V.; BARBOSA, M. **O leite e os seus produtos**. 5.ed. Lisboa, Portugal: Clássica, 1990. 519p.

SAMUEL, R.; WEAVER, R.W.V.; GAMMACK, D.B. Changes on storage in milk processed by ultra-high-temperature sterilization. **J. dairy res.**, Cambridge, v.38, n.3, p. 323-332, 1971.

SANTANA, E.H.W. et al. Contaminação do leite em diferentes pontos do processo de produção: I. Microorganismos aeróbios mesófilos e psicrotóxicos. **Semina ciênc. agrar.**, Londrina, v.22, n.2, p.145-154, dez. 2001.

SANTOS, M.G. **Avaliação da qualidade do leite UHT durante o período de estocagem**. Faculdades Associadas de Uberaba – Fazu, Ciências Exatas e da Terra. 2006. Disponível em: <[www.semesp.org.br](http://www.semesp.org.br)>. Acesso em: 26 set. 2010.

SANTOS, M.V.; FONSECA, L.F.L. **Qualidade do Leite e Controle de Mastite**. São Paulo: Lemos Editorial, 2000. 175p.

SHAH, N.P. Psychrotrophs in milk: a review. **Milchwissenschaft**, Muenchen, v.49, n.8, p.432-437, 1994.

SILVA, P.H.F. et al. Variações regionais e sazonais na composição salina do leite. In: Congresso Nacional de Laticínios, 23. Juiz de Fora, 2004. **Anais...** Juiz de Fora: EPAMIG, 2004. p.25-31.

SILVA, P.H.F. **Leite UHT: fatores determinantes para sedimentação e geleificação**. Juiz de Fora: EPAMIG, 2004. p.7-127.

SILVA, P.H.F.; ALMEIDA, M.C.F. Estabilidade térmica do leite. In: Congresso Nacional de Laticínios, 15. Juiz de fora, 2000. **Anais...** Juiz de Fora: EPAMIG, 2000. p.157-163.

SILVA, P.H.F.; TORRES, K.F. Acidez, pH e efeitos tampão no leite. **Rev. Inst. laticínios Cândido Torres**, Juiz de Fora, v.50, n.296, p.33-41, nov./dez. 1995.

SILVA, S.R.N.C. et al. Qualidade físico-química do leite pasteurizado tipo C em um estabelecimento no estado do Maranhão. In: Congresso Latino-americano de Higienistas de Alimentos, 1. Congresso Brasileiro de Higienistas de Alimentos, 7, 2003. Belo Horizonte. **Anais...** Belo Horizonte-MG: Sociedade Brasileira de Higienistas de Alimentos, 2003. p.194.

SOARES, D.X. ZUPPA, T. O. **Avaliação das características físico-químicas do leite ultrapasteurizado (UHT)**. 2007. Disponível em: <<http://www.prp.ueg.br/06v1/>>. Acesso em: 01 nov. 2010.

SORHAUNG, T.; STEPANIAK, L. Psychrotrophs and their enzymes in milk and dairy products: Quality aspects. **Trends food sci. technol.**, Cambridge, v.8, n.2, p.35-41, fev. 1997.

SOUZA, M.R. et al. **Pasteurização do leite**. Caderno Técnico da Escola de Veterinária UFMG, n.13, 1995. p.85-93.

STATSOFT, INC. **STATISTICA for Windows** [Computer program manual]. Tulsa, OK: StatSoft, Inc. 2000.

SUHREN, G. Producer microorganisms. In: MCKELLER, R.G. **Enzymes of psychrotrophs in raw food**. CRC Prees: Ranton, 1989. 310p.

THOMAS, S.B. Sources, incidence and significance of psychrotrophic bacteria in milk. **Milchwissenschaft**, Muenchen, v.21, p.270-275, 1966.

TRONCO, V.M. **Manual para inspeção da qualidade do Leite**. 2.ed. Santa Maria: UFSM, 2003.

VARNAM, A.H.; SUTHERLAND, J.P. **Leche e productos lácteos: tecnologia, química y microbiología**. Zaragoza: Acribia, 1995. 476p.

VEISSEYRE, R. **Lactologia técnica: composición, recogida, tratamiento y transformación de la leche**. 2.ed. Zaragoza: Acribia, 1988. 629p.

VENKATACHALAM, N.; McMAHON, D.J.; SAVELLO, P.A. Role of protein and lactose interaction in the age gelation of ultra-hightemperature processed concentrated skim milk. **J. dairy sci.**, Champaign, v. 76, n.7, p.1882-1894, jul. 1993.

VERRUMA, V.R.; SALGADO, J.M. Análise química do leite de Búfala em comparação ao leite de vaca. **Sci. agric.**, Piracicaba, v.51, n.1, p.131-137, jan./abr. 1994.

VIDAL-MARTINS et al. Microorganismos heterotróficos mesófilos e bactérias do grupo do *Bacillus cereus* em leite integral submetido a ultra alta temperatura. **Arq. bras. med. vet. zoo.**, Belo Horizonte, v.57, n.3, p.396-400, jun. 2005.

WALSTRA, P.; WOUTERS, J.T.M.; GEURTS, T.J. **Dairy Science and Technology**. 2.ed. Boca Raton: CRC Press, 2005.  
2nd Edition, Boca Raton: CRC Press. 2006.