



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

RONALDO TAMANINI

CONTROLE DE QUALIDADE DO LEITE UHT

RONALDO TAMANINI

CONTROLE DE QUALIDADE DO LEITE UHT

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em
Ciência Animal (nível Doutorado) da Universidade
Estadual de Londrina como requisito para obtenção
do título de DOUTOR.

Orientadora: Prof. Dra. Vanerli Beloti

Londrina
2012

**Catálogo elaborado pela Divisão de Processos Técnicos da Biblioteca Central da
Universidade Estadual de Londrina.**

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)

T153c Tamanini, Ronaldo.
Controle de qualidade do leite UHT/ Ronaldo Tamanini. – Londrina,
2012.
100 f. : il.

Orientador: Vanerli Beloti.
Tese (Doutorado em Ciência Animal) - Universidade Estadual de
Londrina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação
em Ciência Animal, 2012
Inclui bibliografia.

1. Leite – Controle de Qualidade – Teses. 2. Leite homogenizado –
Teses. 3. Leite - Microorganismos – Teses. 4. Leite - Processamento – Teses. I.
Beloti, Vanerli. II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências
Agrárias Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal. III. Título.

CDU 637.1

RONALDO TAMANINI

CONTROLE DE QUALIDADE DO LEITE UHT

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em
Ciência Animal (nível Doutorado) da Universidade
Estadual de Londrina como requisito para obtenção
do título de DOUTOR.

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Vanerli Beloti
UEL – Londrina – PR

Prof. Dr. Italmir Teodorico Navarro
UEL – Londrina – PR

Profa. Dra. Elsa Helena Walter de Santana
UNOPAR – Londrina – PR

Dra. Kerlei Cristina Medici
UEL – Londrina – PR

Dra. Lucienne Garcia Pretto Giordano
UEL – Londrina – PR

Londrina, 06 de dezembro de 2012.

TAMANINI, Ronaldo. **Controle de qualidade do leite UHT**. 2012. 100 f. Tese (Ciência Animal) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2012.

RESUMO

O regulamento técnico de identidade e qualidade do leite ultra-alta temperatura (UHT) define leite UHT como leite homogeneizado submetido durante 2 a 4 segundos a uma temperatura entre 130°C e 150°C, mediante processo térmico de fluxo contínuo, e imediatamente resfriado à temperatura inferior a 32°C, envasado sob condições assépticas em embalagens estéreis e hermeticamente fechadas. Desta forma, o processo UHT tem como objetivo aumentar a vida prateleira dos produtos lácteos e fornecer aos consumidores um produto seguro. A longa vida do produto e a possibilidade de armazenamento em temperatura ambiente tem contribuído para o aumento da competitividade e aceitabilidade do leite UHT no mercado. O objetivo deste trabalho foi avaliar a eficiência do controle de qualidade estabelecido oficialmente para o leite UHT produzido no Brasil. Das 60 amostras estudadas, 23 (38,3%) amostras apresentaram resultados acima do padrão de 100 UFC/mL estabelecido para micro-organismos aeróbios mesófilos pelo Ministério da Agricultura. Foram encontrados micro-organismos psicrotróficos, termodúricos mesófilos e termodúricos psicrotróficos em 50 (83,3%) amostras. Não foram detectados coliformes totais, *Escherichia coli* e enterococos. Micro-organismos proteolíticos e lipolíticos foram detectados em 43 (71,7%) amostras estando em desconformidade com a legislação da Agência Nacional da Vigilância Sanitária. Quanto aos resultados observados na coloração de Gram, foram isoladas 462 colônias de aeróbios mesófilos, com predominância de cocos Gram-positivos (27,9%), 18,8% de *B. sporothermodurans*, 17,7% de bolores, 9,1% de cocos Gram negativos. Com relação as análises físico-químicas, 50 (83,3%) se apresentaram dentro dos padrões estabelecidos pela legislação. Na análise de gordura 10,0% das amostras apresentaram resultados fora dos padrões, 6,7% das amostras estavam alteradas para sólidos não gordurosos e 3,4% para acidez titulável. Todas as amostras foram estáveis ao álcool 68%. Quanto às análises complementares apresentaram alterações no pH, o índice crioscópico da maioria das amostras não foi compatível com o leite adicionado de citrato de sódio e foi verificada a presença de sedimentação e geleificação. Se levarmos em consideração as análises da legislação e também as provas complementares, exceto sedimentação e CCS, apenas 1 (1,7%) amostra atenderia todos os requisitos. Sobre a pesquisa de adulterantes, 12 (20,0%) amostras apresentaram pelo menos uma das substâncias pesquisadas. A presença de neutralizantes da acidez foi encontrada em 1 (1,7%) amostra. Em nenhuma amostra foi encontrada a presença dos conservantes ou resíduos de antibióticos. Reconstituintes da densidade foram encontrados em 12 (20,0%) amostras, sendo 3 (5,0%) amostras positivas para álcool etílico, 2 (3,3%) para cloretos, 7 (11,7%) para sacarose, nenhuma para amido e para soro. Os parâmetros e análises determinados pela legislação não são suficientes para garantir a segurança e a qualidade do leite UHT. Os resultados indicam a necessidade de se estabelecer novos parâmetros legais e introduzir a obrigatoriedade de análises complementares, de forma a auxiliar os órgãos fiscalizadores no controle de qualidade.

Palavras-chave: UAT. Micro-organismos deteriorantes. Qualidade. Fraude. Soro.

TAMANINI, Ronaldo. **Quality control of UHT milk**. 2012. 100 p. Thesis (Animal Science) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2012.

ABSTRACT

The technical regulation of identity and quality of milk ultra-high temperature (UHT) defines UHT as homogenized milk subjected for 2 to 4 seconds at a temperature between 130°C and 150°C, through a process heat flux, and immediately cooled to a temperature below 32°C, packaged under aseptic conditions in sterile packages and airtight. Thus the UHT process aims to increase the shelf life of dairy products and provide consumers with a safe product. The long life of the product and the possibility of storage at room temperature has contributed to increased competitiveness and acceptability of UHT milk market. The aim of this study was to evaluate the efficiency of quality control established officially for UHT milk produced in Brazil. Of the 60 samples studied, 23 (38,3%) samples tested above the standard of 100 CFU/ml set for mesophilic aerobic micro-organisms by the Ministry of Agriculture. Found psychotrophic micro-organisms, thermoduric mesophilic and psychotropic thermoduric in 50 (83,3%) samples. Were not detected total coliforms, *Escherichia coli* and enterococci. Microproteolytic and lipolytic organisms were detected in 43 (71,7%) samples being in disagreement with the legislation of the National Agency of Sanitary Surveillance. As for the results observed in the Gam stain, 462 colonies were isolated aerobic mesophilic, with a predominance of Gram-positive cocci (27,9%), 18,8% of *B. sporothermodurans*, 17,7% of mold, 9,1% of Gram negative. Regarding the physical and chemical analysis, 50 (83,3%) were within the standards set by legislation. In the analysis of fat 10,0% of the samples had results outside the standards, 6,7% of the samples were changed to non-fat solids and 3,4% for acidity. All samples were stable to alcohol 68%. As for further analysis showed changes in pH, the cryoscopic index of most samples was not compatible with the milk added sodium citrate and verified the presence of sedimentation and gelation. If we consider the analysis of legislation and also the additional evidence, except sedimentation and CCS, only 1 (1,7%) sample would meet all requirements. About the research adulterants, 12 (20,0%) samples had at least one of the substances studied. The presence of neutralizing the acidity found in 1 (1,7%) sample. In no sample was found the presence of residues of antibiotics or preservatives. Restoratives density were found in 12 (20,0%) samples, and three (5,0%) samples positive for ethyl alcohol, 2 (3,3%) to chlorides 7 (11,7%) for sucrose, no for starch and serum. The parameters and analyzes mandated by legislation are not sufficient to ensure the safety and quality of UHT milk. The results indicate the need to establish new legal parameters and introduce a requirement for further analysis, in order to assist in quality control.

Keywords: UAT. Spoilage micro-organisms. Quality. Fraud. Serum.

LISTA DE QUADROS

ESTADO DA ARTE

Quadro 1 – Classificação dos principais países produtores de leite em 2010	14
Quadro 2 – Classificação das regiões segundo a produção de leite no Brasil em 2011	15
Quadro 3 – Classificação dos principais Estados produtores de leite no Brasil em 2011	15
Quadro 4 – Classificação da produtividade de leite por vaca nas diversas regiões do Brasil em 2011	16
Quadro 5 – Classificação da produtividade de leite por vaca nos Estados do Brasil em 2011	16
Quadro 6 – Classificação da produção leite inspecionado nas diversas regiões no Brasil em 2011	17
Quadro 7 – Requisitos físico-químicas para o leite UHT determinados pela legislação	18

ARTIGO 4

Quadro 1 – Estrutura primária de CMP A, CMP B e pseudo CMP	59
---	----

LISTA DE GRÁFICOS

ESTADO DA ARTE

Gráfico 1 – Produção total de leite (mil litros), produção inspecionada (%) e produção informal (%) no Brasil entre os anos de 2009 a 2011..... 17

ARTIGO 1

Gráfico 1 – Distribuição dos resultados da coloração de Gram por porcentagem de colônias e porcentagem de amostras em 462 colônias isoladas leite UHT comercializadas em Londrina-PR entre novembro de 2011 e julho de 2012 30

ARTIGO 4

Gráfico 1 – Curva matriz padrão para quantificação de CMP..... 58

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 –Perfil cromatográfico por HPLC do CMP utilizando fase móvel tampão fosfato pH 6,0 com detecção a 205 nm.	60
Figura 2 –Perfil cromatográfico do CMP (padrão) e do Pseudo-CMP (amostra) análise por LC-MS/MS.....	61

ANEXO B

Figura 1 –Resultado negativo e positivo na análise de cloretos em leite UHT	74
Figura 2 –Resultado negativo e positivo na análise de sacarose em leite UHT.....	75
Figura 3 –Resultado negativo e positivo na análise de amido em leite UHT	76
Figura 4 –Resultado negativo e positivo na análise de formaldeído em leite UHT.....	77
Figura 5 –Resultado negativo e positivo na análise de peróxido em leite UHT	77
Figura 6 –Resultado negativo e positivo na análise de antibióticos em leite UHT	78
Figura 7 –Resultado negativo e positivo na análise de cloro em leite UHT	79
Figura 8 –Resultado negativo e positivo na análise de cloro em leite UHT	79
Figura 9 –Resultado negativo e positivo na análise de hipoclorito em leite UHT.....	79
Figura 10 – Resultado negativo e positivo na análise de hipoclorito em leite UHT.....	80
Figura 11 – Resultado negativo e positivo na análise de álcool em leite UHT	81
Figura 12 – Resultado negativo e positivo na análise de neutralizantes em leite UHT.....	82
Figura 13 – Presença de sedimento em leite UHT	82
Figura 14 – Presença de geleificação em leite UHT	83

LISTA DE TABELAS

ARTIGO 1

- Tabela 1** –Distribuição dos resultados da contagem micro-organismos aeróbios mesófilos e psicrotróficos em 60 amostras de leite UHT comercializadas em Londrina-PR entre novembro de 2011 e julho de 2012..... 27
- Tabela 2** –Distribuição dos resultados da contagem micro-organismos termodúricos mesófilos e termodúricos psicrotróficos em 60 amostras de leite UHT comercializadas em Londrina-PR entre novembro de 2011 e julho de 2012 28
- Tabela 3** –Distribuição dos resultados da contagem micro-organismos proteolíticos e lipolíticos em 60 amostras de leite UHT comercializadas em Londrina-PR entre novembro de 2011 e julho de 2012 29
- Tabela 4** –Distribuição das espécies de bolores encontrados em 19 das 60 amostras de leite UHT comercializadas em Londrina-PR entre novembro de 2011 e julho de 2012 31
- Tabela 5** –Médias, valores mínimos e máximos dos resultados das análises microbiológicas realizadas em 60 amostras de leite UHT comercializadas em Londrina-PR entre novembro de 2011 e julho de 2012..... 32

ARTIGO 2

- Tabela 1** –Distribuição dos os resultados de porcentagens de gordura e sólidos não gordurosos em 60 amostras de leite UHT comercializadas em Londrina-PR entre novembro de 2011 e julho de 2012 38
- Tabela 2** –Distribuição do pH em 60 amostras de leite UHT comercializadas em Londrina-PR entre novembro de 2011 e julho de 2012 40
- Tabela 3** –Distribuição dos resultados de proteína em 60 amostras de leite UHT comercializadas em Londrina-PR entre novembro de 2011 e julho de 2012..... 41
- Tabela 4** –Distribuição dos resultados de lactose em 60 amostras de leite UHT comercializadas em Londrina-PR entre novembro de 2011 e julho de 2012..... 42
- Tabela 5** –Distribuição da crioscopia em 60 amostras de leite UHT comercializadas em Londrina-PR entre novembro de 2011 e julho de 2012..... 43

Tabela 6 –Médias, valores mínimos e máximos dos resultados das análises realizadas em 60 amostras de leite UHT integral e desnatados comercializadas em Londrina-PR entre novembro de 2011 e julho de 2012	45
Tabela 7 –Resultados das análises físico-químicas de 30 amostras de leite UHT integral comercializadas em Londrina-PR entre novembro de 2011 e julho de 2012	45
Tabela 8 –Resultados das análises físico-químicas em 30 amostras de leite UHT integral comercializadas em Londrina-PR entre novembro de 2011 e julho de 2012	46

ARTIGO 3

Tabela 1 –Frequência da presença de neutralizantes da acidez, conservantes, antibióticos e reconstituintes da densidade em 60 amostras de leite UHT comercializadas em Londrina-PR em novembro de 2011 e julho de 2012	52
---	----

ARTIGO 4

Tabela 1 –Resultados da concentração de CMP em 30 amostras de leite UHT comercializadas em Londrina-PR em novembro de 2011	59
---	----

APÊNDICE A

Tabela 1 –Resultados das análises microbiológicas por amostra, em 60 amostras de leite UHT integral comercializadas em Londrina-PR entre novembro de 2011 e julho de 2012	85
Tabela 2 –Distribuição de acordo com os resultados da contagem de aeróbios mesófilos e análise estatística em 60 amostras de leite UHT comercializadas em Londrina-PR entre novembro de 2011 e julho de 2012	87
Tabela 3 –Distribuição de acordo com os resultados da contagem de psicrotóxicos e análise estatística em 60 amostras de leite UHT comercializadas em Londrina-PR entre novembro de 2011 e julho de 2012	87

Tabela 4 –Distribuição de acordo com os resultados da contagem de termodúricos mesófilos e análise estatística em 60 amostras de leite UHT comercializadas em Londrina-PR entre novembro de 2011 e julho de 2012.....	88
Tabela 5 –Distribuição de acordo com os resultados da contagem de termodúricos psicrotróficos e análise estatística em 60 amostras de leite UHT comercializadas em Londrina-PR entre novembro de 2011 e julho de 2012.....	88
Tabela 6 –Distribuição de acordo com os resultados da contagem de proteolíticos e análise estatística em 60 amostras de leite UHT comercializadas em Londrina-PR entre novembro de 2011 e julho de 2012	89
Tabela 7 –Distribuição de acordo com os resultados da contagem de lipolítico e análise estatística em 60 amostras de leite UHT comercializadas em Londrina-PR entre novembro de 2011 e julho de 2012	89

APÊNDICE B

Tabela 1 –Tabela 1: Resultados das análises físico-químicas por amostra, em 60 amostras de leite UHT integral comercializadas em Londrina-PR entre novembro de 2011 e julho de 2012	90
Tabela 2 –Distribuição de acordo com os resultados da gordura e análise estatística em 60 amostras de leite UHT comercializadas em Londrina-PR entre novembro de 2011 e julho de 2012	92
Tabela 3 –Distribuição de acordo com os resultados sólidos não gordurosos e análise estatística em 60 amostras de leite UHT comercializadas em Londrina-PR entre novembro de 2011 e julho de 2012	92
Tabela 4 –Distribuição de acordo com os resultados da acidez e análise estatística em 60 amostras de leite UHT comercializadas em Londrina-PR entre novembro de 2011 e julho de 2012	93
Tabela 5 –Distribuição de acordo com os resultados do pH análise estatística em 60 amostras de leite UHT comercializadas em Londrina-PR entre novembro de 2011 e julho de 2012.....	93
Tabela 6 –Distribuição de acordo com os resultados de contagem de células somáticas (CCS) e análise estatística em 60 amostras de leite UHT comercializadas em Londrina-PR entre novembro de 2011 e julho de 2012.....	94

Tabela 7 –Distribuição de acordo com os resultados de proteína e análise estatística em 60 amostras de leite UHT comercializadas em Londrina-PR entre novembro de 2011 e julho de 2012	94
Tabela 8 –Distribuição de acordo com os resultados de lactose e análise estatística em 60 amostras de leite UHT comercializadas em Londrina-PR entre novembro de 2011 e julho de 2012	94
Tabela 9 –Distribuição de acordo com os resultados de crioscopia e análise estatística em 60 amostras de leite UHT comercializadas em Londrina-PR entre novembro de 2011 e julho de 2012	95
Tabela 10 – Distribuição de acordo com os resultados da densidade e análise estatística em 60 amostras de leite UHT comercializadas em Londrina-PR entre novembro de 2011 e julho de 2012	95
Tabela 11 – Distribuição de acordo com os resultados de sedimentação e análise estatística em 60 amostras de leite UHT comercializadas em Londrina-PR entre novembro de 2011 e julho de 2012	96

APÊNDICE C

Tabela 1 –Resultados das análises de pesquisa de fraudes por amostra, em 60 amostras de leite UHT integral comercializadas em Londrina-PR entre novembro de 2011 e julho de 2012	97
Tabela 2 –Distribuição de acordo com os resultados de fraudes em 60 amostras de leite UHT comercializadas em Londrina-PR entre novembro de 2011 e julho de 2012	99

APÊNDICE D

Tabela 1 –Resultados das concentração de CMP por amostra, em 30 amostras de leite UHT integral comercializadas em Londrina-PR entre novembro de 2011 e julho de 2012	100
Tabela 2 –Distribuição das 30 amostras de leite UHT comercializadas em Londrina-PR em novembro de 2011, de acordo com os resultados da concentração de CMP	100

SUMÁRIO

1 ESTADO DA ARTE	14
1.1 PRODUÇÃO DE LEITE	14
1.2 LEITE UHT	17
1.3 PROCESSAMENTO DO LEITE UHT	19
1.4 REFERÊNCIAS	20
2 OBJETIVOS	22
2.1 OBJETIVO GERAL	22
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	22
3 ARTIGO 1	23
3.1 RESUMO	23
3.2 INTRODUÇÃO	23
3.3 MATERIAL E MÉTODOS	25
3.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	26
3.5 CONCLUSÕES	32
3.6 REFERÊNCIAS	32
4 ARTIGO 2	35
4.1 RESUMO	35
4.2 INTRODUÇÃO	35
4.3 MATERIAL E MÉTODOS	36
4.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	38
4.5 CONCLUSÕES	46
4.6 REFERÊNCIAS	47
5 ARTIGO 3	50
5.1 RESUMO	50
5.2 INTRODUÇÃO	50
5.3 MATERIAL E MÉTODOS	51
5.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	52
5.5 CONCLUSÕES	63

5.6 REFERÊNCIAS	54
6 ARTIGO 4	56
6.1 RESUMO	56
6.2 INTRODUÇÃO	56
6.3 MATERIAL E MÉTODOS	57
6.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	59
6.5 CONCLUSÕES	63
6.6 REFERÊNCIAS	63
7 CONCLUSÕES	64
ANEXOS	65
ANEXO A –Protocolo de realização das análises microbiológicas	66
ANEXO B –Protocolo de realização das análises físico-químicas e pesquisa de fraudes	70
APÊNDICES	84
APÊNDICE A –Resultados das análises microbiológicas por amostra	85
APÊNDICE B –Resultados das análises físico-químicas por amostra	90
APÊNDICE C –Resultados das fraudes por amostra	97
APÊNDICE D –Resultados da pesquisa de soro de queijo por amostra	100

1 ESTADO DA ARTE

1.1 PRODUÇÃO DE LEITE

A produção mundial de leite em 2010 foi cerca de 600 milhões de toneladas. No cenário mundial, o Brasil é o quinto maior produtor de leite, com aproximadamente 31,6 bilhões de toneladas (EMBRAPA, 2012a). O maior produtor mundial é os Estados Unidos, seguido pela Índia, China e Rússia (Quadro 1).

Quadro 1 – Classificação dos principais países produtores de leite em 2010

País	Produção de leite toneladas (%)
1. Estados Unidos	87.461.300 (14,59)
2. Índia	50.300.000 (8,39)
3. China	36.022.650 (6,01)
4. Rússia	31.895.100 (5,32)
5. Brasil	31.667.600 (5,28)
6. Alemanha	2.9628.900 (4,94)
7. França	23.301.200 (3,9)
8. Nova Zelândia	17.010.500 (2,84)
9. Reino Unido	13.960.000 (2,33)
10. Turquia	12.480.100 (2,08)
Outros	265.887.747 (44,34)
Total	599.615.097 (100,00)

Fonte: Adaptado de EMBRAPA (2012a)

Em 2011 o Brasil apresentou um crescimento de 4,5% na produção leite, com aproximadamente 32 bilhões de litros. A região Sudeste é a maior região produtora de leite contribuindo com 35,24% da produção nacional. Em segundo lugar vem a região Sul seguida pelo Centro Oeste (Quadro 2). Entre as regiões, apenas a Região norte apresentou uma diminuição em sua produção em relação a 2010, de 3,6%. Por outro lado, as regiões Centro-Oeste e Sul foram as que apresentaram maior crescimento na produção, de 7,4% e 6,4% respectivamente (EMBRAPA, 2012b). O agronegócio do leite caracteriza-se como um dos mais importantes, tanto sob o ponto de vista social, quanto econômico. Esta atividade está presente em todo território nacional, e desempenha papel importante no suprimento de alimentos, na geração de renda e emprego para a população.

Quadro 2 – Classificação das regiões segundo a produção de leite no Brasil em 2011

Região	Produção de leite litros (%)
1. Sudeste	11.308.133 (35,24)
2. Sul	10.229.801 (31,88)
3. Centro Oeste	4.777.064 (14,89)
4. Nordeste	4.100.729 (12,78)
5. Norte	1.675.283 (5,22)
Total	32.091.010 (100,00)

Fonte: Adaptado de EMBRAPA (2012b)

O Quadro 3 apresenta os Estados Brasileiros maiores produtores de leite em 2011. Minas Gerais se destacou como o maior produtor nacional, com 27,29% do total produzido. Rio Grande do Sul é o segundo maior produtor, com 12,09% do total produzido, seguido pelo Paraná responsável pela produção de 11,90% do total (EMBRAPA, 2012b).

Quadro 3 – Classificação dos principais Estados produtores de leite no Brasil em 2011

Estado	Produção de leite litros (%)
1. Minas Gerais	8.756.114 (27,29)
2. Rio Grande do Sul	3.879.455 (12,09)
3. Paraná	3.819.187 (11,90)
4. Goiás	3.482.041 (10,85)
5. Santa Catarina	2.531.159 (7,89)
6. São Paulo	1.601.220 (4,99)
7. Bahia	1.181.339 (3,68)
8. Pernambuco	953.230 (2,97)
9. Mato Grosso	743.191 (2,32)
10. Rondônia	706.647 (2,20)
Outros	4.437.427 (13,83)
Total	32.091.010 (100,00)

Fonte: Adaptado de EMBRAPA (2012b)

De acordo com o Quadro 4, em 2011 a produtividade do rebanho leiteiro do Brasil chegou a 1.382 litros por vaca ao ano, apresentando crescimento de 3,1% em relação a 2010. Dentre as regiões, o Sul do Brasil é a região que apresenta a melhor produtividade, cerca de 2.471 litros/vaca em 2011 (EMBRAPA 2012b).

Quadro 4 – Classificação da produtividade de leite por vaca nas diversas regiões do Brasil em 2011

Região	Produtividade (litro/vaca/ano)
1. Sul	2.471
2. Sudeste	1.428
3. Centro Oeste	1.257
4. Nordeste	833
5. Norte	686
Brasil	1.382

Fonte: Adaptado de EMBRAPA (2012b)

A pesar de ser o maior produtor, Minas Gerais é apenas o quarto em produtividade. Neste aspecto, o Rio Grande do Sul apresenta o melhor desempenho (Quadro 5).

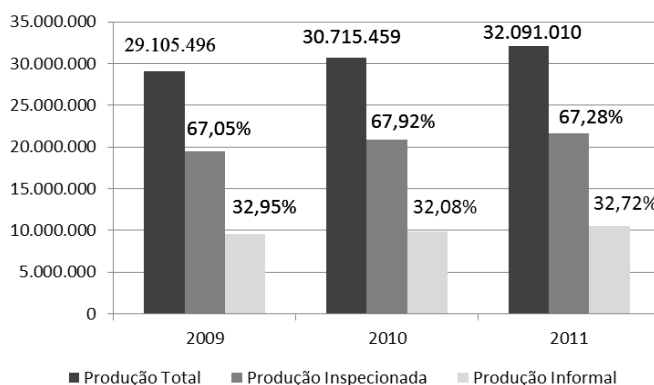
Quadro 5 – Classificação da produtividade de leite por vaca nos Estados do Brasil em 2011

Estado	Produtividade (litro/vaca/ano)
1. Rio Grande do Sul	2.536
2. Santa Catarina	2.478
3. Paraná	2.404
4. Minas Gerais	1.555
5. Distrito Federal	1.539
6. Alagoas	1.538
7. Pernambuco	1.537
8. Sergipe	1.392
9. Goiás	1.331
10. Mato Grosso	1.173
Brasil	1.382

Fonte: Adaptado de EMBRAPA (2012b)

Em 2011, 32,72% da produção leiteira não passou por nenhum tipo de inspeção oficial (Gráfico 1), e o mercado informal foi seu provável destino, mesmo sendo proibido por lei desde 1952 (BRASIL, 2010). O consumo de leite cru pode representar uma importante fonte de transmissão das Enfermidades de Origem Alimentar. Além de ser consumido diretamente, esse leite é frequentemente empregado na fabricação de diversos tipos de derivados, principalmente queijos, o que transforma esses produtos também em alimentos de alto risco (ORRISS, 1997).

Gráfico1 – Produção total de leite (mil litros), produção inspecionada (%) e produção informal (%) no Brasil entre os anos de 2009 a 2011.



Fonte: Adaptado de EMPRAPA (2012b; 2012c)

A região sudeste apresentou a maior porcentagem de leite inspecionado: 76,5% da sua produção. Esta quantidade equivale a 40,09% do total de leite inspecionado produzido no Brasil. Seguido pela região Sul e pelo Centro Oeste (Quadro 6).

Quadro 6 – Classificação da produção leite inspecionado nas diversas regiões no Brasil em 2011

Região	Produção de leite mil litros (%)
1. Sudeste	8.656.273 (40,09)
2. Sul	7.346.840 (34,03)
3. Centro Oeste	3.021.582 (13,99)
4. Nordeste	1.346.594 (6,24)
5. Norte	1.221.037 (5,65)
Brasil	21.592.326 (100,00)

Fonte: Adaptado de EMBRAPA (2012c)

1.2 LEITE UHT

Segundo dados da Associação Brasileira de Indústrias de Leite Longa Vida (ABLV) a produção nacional de leite UHT em 2011 foi de 5,81 bilhões de litros, representando 78% do total do leite fluido consumido no Brasil (GUERRA, 2012). A expectativa é que a produção ultrapasse a marca de 6,0 bilhões de litros em 2012 (MILKPOINT,2012a). Apesar da alta produção de leite UHT no Brasil, no ano de 2010 houve a importação de 5.452 toneladas deste produto (MILKPOINT,2012b). A longa vida do produto e a possibilidade de armazenamento em temperatura ambiente tem contribuído para o aumento da competitividade e aceitabilidade do leite UHT no mercado.

O Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Leite UHT (BRASIL, 1997) define leite UHT como leite homogeneizado submetido durante 2 a 4 segundos a temperatura entre 130°C e 150°C, em processo de fluxo contínuo, e imediatamente resfriado à temperatura inferior a 32°C, envasado sob condições assépticas em embalagens estéreis e hermeticamente fechadas.

Segundo esta mesma legislação o leite UHT deve atender as seguintes características sensoriais: aspecto líquido, cor branca, odor e sabor característicos, sem sabores nem odores estranhos e características físico-químicas constantes no quadro 7.

Quadro 7 – Requisitos físico-químicas para o leite UHT determinados pela legislação.

Requisitos	Integral	Semidesnatado	Desnatado
Matéria Gorda (%)	Mín. 3,0	0,6 a 2,9	Máx de 0,5
Extrato seco desengordurado (%)	Mín 8,2	Mín 8,3	Mín 8,4
Acidez (°D)	14 a 18	14 a 18	14 a 18
Estabilidade ao etano 68%	Estável	Estável	Estável

Fonte: BRASIL (1997)

Uma particularidade do leite UHT é a permissão da adição de sais estabilizantes (citrato de sódio, monofosfato de sódio, difosfato de sódio, trifosfato de sódio), separados ou em combinação, em quantidade não superior a 0.1g/100ml (BRASIL, 1997). A função desses sais é melhorar a estabilidade das proteínas que, frente ao agressivo tratamento térmico, podem precipitar trazendo transtornos à indústria e problemas de aceitação pelo consumidor (ORDÓÑEZ et al., 2005).

Os sais estabilizantes possuem ainda outro efeito não previsto pela legislação que é o de promover um aprofundamento na crioscopia do leite (BELOTI et al., 2010). Considerando que a injeção de vapor utilizada no tratamento térmico UHT, promove a inserção de água no produto e que é controlada na indústria utilizando o parâmetro da crioscopia para o leite pasteurizado, pode-se obter um produto final com porcentagem de água acima do normal, sem que sua crioscopia seja superior à -0,530°H. Essa falta de adequação da na legislação pode ainda favorecer a prática de adulterações pela indústria.

Em relação aos requisitos microbiológicos o leite UHT não deve ter micro-organismos capazes de proliferar em condições normais de armazenamento e distribuição. Após incubação da embalagem fechada a 35-37°C, durante 7 dias, exige-se que o leite UHT: tenha no máximo 100 UFC de aeróbios mesófilos/mL, não sofra modificações que alteram a embalagem, seja estável ao etanol 68%, não apresente elevação da acidez maior que 2°D em

relação a acidez determinada em outra amostra original fechada e sem incubação prévia e as características sensoriais não difiram sensivelmente das de um leite UHT sem incubar (BRASIL, 1997).

Outro parâmetro utilizado para avaliar a qualidade do leite UHT é o da RDC nº12 (BRASIL, 2001), determina que após a incubação na embalagem fechada a 35-37°C durante 7 dias, o leite UHT não deve apresentar micro-organismos patogênicos e causadores de alterações físicas, químicas e organolépticas do produto, em condições normais de armazenamento.

1.3 PROCESSAMENTO DO LEITE UHT

O processo de ultra alta temperatura (UHT) é uma técnica para a preservação de alimentos líquidos através da sua exposição ao calor intenso por um curto período de tempo. Este tratamento destrói os micro-organismos na forma vegetativa, presentes no produto. Para evitar a recontaminação do produto, o mesmo é embalado em condições assépticas imediatamente após o tratamento térmico (TETRA PAK, 1996).

O processo tem como objetivo a obtenção de um produto que conserve as características nutritivas e organolépticas do produto fresco por longo tempo e que seja seguro para os consumidores (SANTOS et al., 1999, TRONCO, 2008). Além do tratamento térmico diferenciado, o produto deve ser envasado em embalagens que não permitam a entrada de luz e oxigênio, garantindo sua conservação (TETRA PAK, 1996).

O tratamento térmico UHT possui algumas particularidades que influenciam diretamente as características físico-químicas do produto. Após a pasteurização HTST, o leite é pré-aquecido a 80°C por 2 a 3 minutos e então submetido a temperaturas que variam entre 140 e 150°C por 2 a 4 segundos que é o tratamento UHT propriamente dito. Para aquecer o leite pode-se utilizar o sistema indireto, com trocadores de calor, ou direto, no qual o leite sofre injeção direta de vapor aquecido. Nesse último caso, a porcentagem de água adicionada ao leite deverá ser posteriormente removida por uma câmara à vácuo (ORDÓÑEZ et al., 2005).

O sistema de injeção direta de vapor é o que causa menores alterações no leite e por isso é também o mais adotado pelas indústrias. Por atingir a temperatura desejada de forma quase instantânea, sistema direto expõe a aquecimento por um tempo menor do que no sistema UHT indireto (ORDÓÑEZ et al., 2005).

O sistema “UltraFresh” é uma opção de tecnologia de ultra-pasteurização. Neste caso, o leite pré-aquecido é submetido a ultra-centrifugação, para a redução de bactérias e células somáticas, e ao tratamento térmico, de injeção direta de vapor, onde o leite é tratado termicamente a 138°C por alguns segundos, para eliminação dos micro-organismos remanescentes. Em seguida, o leite é resfriado à temperatura ambiente e depois envasado em embalagens assépticas (TETRA PAK, 2012).

A assepsia da embalagem é feita por um banho de água oxigenada. Depois disso, a embalagem é submetida a um jato de ar quente a 270°C. Esse processo, além de secar ao peróxido de hidrogênio, faz a esterilização final da caixinha. Com essa temperatura, o peróxido de hidrogênio é totalmente evaporado e nenhum resíduo fica na embalagem (TETRA PAK, 1996).

A embalagem é composta por seis camadas de materiais diferentes, sendo as duas mais internas de polietileno, um plástico inerte que evita o contato do produto com as demais camadas. A outra é de alumínio para evitar a passagem de luz, que acelera a reação de oxidação de gordura e vitaminas, e de micro-organismos. Logo em seguida, vem mais uma camada de polietileno, que promove a adesão da camada de alumínio com a quinta camada, que é de papel cartonado. Esta última é que confere a resistência à embalagem, e recebe as informações e designe. Para finalizar, há nova camada de polietileno (TETRA PAK, 1996).

1.4 REFERÊNCIAS

BELOTI, V.; MANTOVANI, F. D.; SILVA, M. R.; TAMANINI, R.; GARCIA, D. T.; SILVA, F. A. Alterações do ponto de congelamento do leite por adição do estabilizante citrato de sódio. **Anais do IV Congresso Brasileiro de Qualidade do Leite**, Florianópolis, Santa Catarina, 2010.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria 370 de 04 de setembro de 1997. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite UAT. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 1997.

BRASIL. Ministério da Saúde. RDC n. 12 de 02 de janeiro de 2001. Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 2001.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Decreto n. 30.691, de 29 de março de 1952, alterado pelos Decretos n.ºs. 1255, de 25 de junho de 1962, n. 1236, de 2 de setembro de 1994, n.º 1812, de 8 de fevereiro de 1996, n.º 2.244, de 4 de junho de 1997, n.º 6.385, de 27 de fevereiro de 2008, n.º 7.216, de 17 de junho 2010. Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária dos Produtos de Origem Animal-RIISPOA. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 2010.

COELHO, P. S.; SILVA, N.; BRESCIA, M. V.; SIQUEIRA, A. P. Avaliação da qualidade microbiológica do leite UAT integral comercializado em Belo Horizonte. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecia**, Belo Horizonte, v.53, n.2, p.1-7, abr. 2001.

EMBRAPA. **Principais países produtores de leite no mundo – 2010**. Disponível em: <<http://www.cnpqgl.embrapa.br/nova/informacoes/estatisticas/producao/tabela0212.php>>. Acesso em: 28 out. 2012a.

EMPRAPA. **Conjuntura do mercado lácteo**. Juiz de Fora, v.5, n.44, p.1-11, out. 2012. Disponível em: <http://www.cileite.com.br/sites/default/files/2012_10_Produ%C3%A7%C3%A3o_Leite.pdf>. Acesso em: 28 out. 2012b.

EMPRAPA. **Conjuntura do mercado lácteo**. Juiz de Fora, v.5, n.41, p.1-9, abril. 2012. Disponível em: <http://www.cileite.com.br/sites/default/files/2012_04_indicadores_leite.pdf>. Acesso em: 28 out. 2012c.

GUERRA, J. **O boom do leite UHT no Brasil**. Disponível em: <<http://www.scotconsultoria.com.br/noticias/artigos/24736/o-%3Ci%3Eboom%3Ci%3E-do-leite-uh- no-brasil.htm>>. Acesso em 27 set. 2012.

MILKPOINT. **Crescem as vendas de leite longa vida e produção poderá ultrapassar 6 bilhões de litros em 2012**. Disponível em: <<http://www.milkpoint.com.br/cadeia-do-leite/giro-lacteo/crescem-as-vendas-de-leite-longa-vida-e-producao-podera-ultrapassar-6-bilhoes-de-litros-em-2012-79420n.aspx>>. Acesso em: 28 out. 2012a.

MILKPOINT. **Importações Brasileiras de Lácteos**. Disponível em: <http://www.milkpoint.com.br/estatisticas/importacoes_brasileiras.htm>. Acesso em: 28 out. 2012b.

ORDÓÑEZ, J.A. et al. **Tecnologia de Alimentos**: Alimentos de origem animal. Porto Alegre: Artmed, 2005. v.2.

ORRISS, G. D. Animal diseases of public health importance. **Emerging Infectious Diseases**, tlanda, v.3, n.4, p.497-502, out./ nov. 1997.

SANTOS, et al. **Leite longa vida no Brasil: alterações da rede logística e expansão do mercado**. Disponível em: <<http://www.anpad.org.br/enanpad/1999/dwn/enanpad1999-ols-15.pdf>>. Acesso em: 20 ago. 2011.

TETRA PAK. **Dairy processing handbook**. Lund, Sweden, 1996.

TETRA PAK. **UltraFresh**. Disponível em: <http://www.tetrapak.com.br/negocios/equipamentos_proc/equipamentos_prod_lacteos03.asp?etipo=1&estipo=8>. Acesso em: 20 nov. 2012.

TRONCO, V.M. **Manual para inspeção da qualidade do leite**. 3ed. Santa Maria: UFSM, 2008. 206p.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL:

Avaliar a eficiência do controle de qualidade estabelecido oficialmente para o leite UHT produzido no Brasil.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

Pesquisar a presença de micro-organismos deteriorantes em leites UHT: aeróbios mesófilos, psicrotróficos, termodúricos mesófilos, termodúricos psicrotróficos, proteolíticos, lipolíticos, coliformes totais e *Escherichia coli*.

Verificar os parâmetros oficiais físico-químicos: gordura, sólidos não gordurosos (SNG), acidez titulável e estabilidade ao álcool 68%.

Realizar provas complementares para avaliar a qualidade do leite UHT: estabilidade ao álcool 72%, 76% e 80%, densidade a 15°C, crioscopia, pH, contagem de células somáticas (CCS), proteína, lactose, avaliação da geleificação e sedimentação.

Avaliar as adulterações em leites UHT através da pesquisa de neutralizantes da acidez, conservantes (água oxigenada, formaldeído, cloro e hipoclorito), antibióticos, reconstituintes da densidade (álcool etílico, amido, cloretos e sacarose) e soro.

3 ARTIGO 1

MICRO-ORGANISMOS DETERIORANTES EM LEITES UHT PRODUZIDOS NA REGIÃO SUL DO BRASIL.

3.1 RESUMO: Um dos maiores desafios na produção de leite ultra alta temperatura (UHT) é manter sua qualidade durante o extenso prazo de validade. As alterações ocorridas neste período são decorrentes principalmente da contaminação por micro-organismos deteriorantes e da presença de enzimas proteolíticas e lipolíticas. O presente trabalho teve como objetivo verificar a presença de micro-organismos deteriorantes em leites UHT produzidos na região sul do Brasil. Das 60 amostras estudadas, 23 (38,3%) amostras apresentaram resultados acima do padrão de 100 UFC/mL estabelecido para micro-organismos aeróbios mesófilos pelo Ministério da Agricultura. Foram encontrados micro-organismos psicrotróficos, termodúricos mesófilos e termodúricos psicrotróficos em 50 (83,3%) amostras. Não foram detectados coliformes totais, *Escherichia coli* e enterococos. Micro-organismos proteolíticos e lipolíticos foram detectados em 43 (71,7%) amostras estando em não conformidade com a legislação da Agência Nacional da Vigilância Sanitária. Quanto aos resultados observados na coloração de Gram, foram isoladas 462 colônias de aeróbios mesófilos, com predominância de cocos Gram-positivos (27,9%), 18,8% de *B. sporothermodurans*, 17,7% de bolores, 9,1% de cocos Gram negativos. Os resultados demonstram parte do leite UHT produzido no Sul do Brasil apresenta aeróbios mesófilos em excesso e frequente contaminação por micro-organismos deteriorantes, sobretudo por proteolíticos.

3.2 INTRODUÇÃO

Entende-se por leite ultra alta temperatura (UHT), o leite homogeneizado que foi submetido, durante 2 a 4 segundos, a temperatura entre 130°C a 150°C, em fluxo contínuo, imediatamente resfriado a uma temperatura inferior a 32°C e envasado sob condições assépticas em embalagens estéreis e hermeticamente fechadas (BRASIL, 1997).

O tratamento UHT tem o objetivo eliminar totalmente as formas vegetativas de micro-organismos presentes no leite, mas formas esporuladas, altamente resistentes ao calor, poderão estar presentes no produto e enzimas microbianas previamente produzidas podem permanecer ativas. Por estas razões a qualidade do leite cru tem efeito direto na qualidade e prazo de validade do leite UHT (ROSENTHAL, 1991; TRONCO, 2008).

Apesar da definição de tratamento UHT, as legislações brasileiras que tratam do tema permitem pequenas quantidades de micro-organismos. A legislação do Ministério da Saúde é conflitante com a do Ministério da Agricultura. A portaria 370 do Ministério da Agricultura (BRASIL, 1997) determina que o leite UHT, na indústria, não deve conter micro-organismos capazes de proliferar em condições normais de armazenamento e

distribuição, pelo que após uma incubação na embalagem fechada a 35-37°C durante 7 dias, deva apresentar no máximo 100 UFC de aeróbios mesófilos/mL. Outro parâmetro utilizado para avaliar a qualidade do leite UHT é o estabelecido pela RDC n°12 do Ministério da Saúde (BRASIL, 2001), que estabelece que o leite UHT não deve apresentar micro-organismos patogênicos e causadores de alterações físicas, químicas e organolépticas do produto, em condições normais de armazenamento. Assim, o leite pode sair da Indústria com 100 UFC/mL de aeróbios mesófilos, sem determinar qualquer característica especial, mas quando chega no comércio micro-organismos não sejam patogênicos nem deteriorantes.

Ainda a Instrução Normativa 62 (BRASIL, 2003) determina uma técnica específica para contagem de aeróbios mesófilos em produtos UHT, denominada contagem de micro-organismos mesófilos aeróbios viáveis capazes de causar alteração em produtos lácteos líquidos UHT. Esta técnica determina que sejam contados e excluídos da contagem final os *Bacillus sporothermodurans*. Estes micro-organismos são excluídos por serem considerados não patogênicos e não deteriorantes (BARROS; PANETTA, 2006), deixando claro que os 100 UFC/mL de aeróbios mesófilos permitidos são no mínimo deteriorantes e como para este produto não há determinação de patógenos específicos, nem de outros grupos indicadores da possível presença de patógenos, como coliformes 45°C, pode-se inferir que os patogênicos poderia estar entre os 100 UFC/ml permitidos pela portaria 370 (BRASIL, 1997). Essa metodologia expande infinitamente a contagem real do produto quando incluído o *B. sporothermodurans*.

A legislação da União Europeia determina que após incubação a 30°C durante 15 dias, o leite UHT pode conter no máximo 100 micro-organismos por mL, mas não determina o tipo de micro-organismos presentes nem qualquer exclusão (CCE, 1992).

Várias pesquisas relatam o excesso de micro-organismos em leite UHT (COELHO et al., 2001; VIDAL-MARTINS et al., 2005; BERSOT et al., 2010; DOMARESKI et al., 2010; TAMANINI et al., 2011) e atribuem sua presença a falhas no sistema de envase e a má higienização dos equipamentos utilizados no tratamento térmico (WESTHOFF, 1981; WESTHOFF; DOUGHERTY, 1981).

O presente trabalho teve como objetivo avaliar a presença de micro-organismos deteriorantes em leites UHT produzidos na região sul do Brasil.

3.3 MATERIAL E MÉTODOS

Foram avaliadas 60 amostras de leite UHT, sendo 30 de leite integral e 30 de leite desnatado, comercializadas em supermercados da cidade de Londrina/PR. As amostras pertenciam a 15 diferentes marcas, sendo 6 produzidas no Paraná, 6 no Rio Grande do Sul e 3 em Santa Catarina. As amostras foram colhidas entre novembro de 2011 e julho de 2012, com média de 36 dias após a fabricação.

As amostras foram encaminhadas ao Laboratório de Inspeção de Produtos de Origem Animal, da Universidade Estadual de Londrina, onde foram incubadas a 36°C, em sua embalagem original fechada, durante 7 dias para verificação da ocorrência de alterações como estufamento, coagulação, floculação, dessoração, odor não característico (BRASIL 1997; BRASIL 2003).

A contagem total de micro-organismos aeróbios mesófilos foi realizada segundo a Instrução Normativa 62 (BRASIL, 2003) utilizando agar BHI e na duplicata agar nutriente isento de extrato de levedura, semeados em superfície e incubados a 30° por 72 horas.

A contagem de micro-organismos psicotróficos foi realizada por plaqueamento em superfície, no meio de cultura ágar padrão para contagem, seguido de incubação em temperatura de 7°C durante 10 dias (FRANK et al., 1992).

Para a contagem micro-organismos termodúricos mesófilos e termodúricos psicotróficos, a amostra foi aquecida em tubo estéril em banho-maria a 62,8°C durante 30 minutos. A amostra foi, então, resfriada a 10°C e 0,1 ml foi semeado em ágar PCA, em superfície, incubando-se a 35°C por 48 horas para os termodúricos mesófilos e 7°C por 10 dias para os termodúricos psicotróficos (FRANK et al., 1992).

A contagem de enterococos foi realizada por plaqueamento em superfície, no ágar KFS, seguido de incubação em temperatura de 36°C durante 48 horas (SILVA et al., 2010). A contagem de coliformes totais e *Escherichia coli* foi realizada utilizando o sistema Petrifilm EC[®] de acordo com as instruções do fabricante (FRANK et al., 1992).

A enumeração de micro-organismos proteolíticos foi realizada utilizando ágar leite suplementado, semeando-se por superfície e incubando a 32°C por 72 horas (FRANK et al., 1992). A enumeração de micro-organismos lipolíticos foi realizada utilizando ágar tributirina, semeado em superfície e incubadas a 32°C por 48 horas (FRANK et al., 1992).

As colônias de micro-organismos aeróbios mesófilos isoladas de cada amostra foram submetidas a provas tintoriais pelo método de Gram, para classificação dos micro-organismos pela observação das características morfológicas e coloração. Segundo a instrução normativa 62 (BRASIL, 2003) as colônias de *Bacillus sporothermodurans* isoladas do agar BHI não devem ser contabilizadas no cálculo de mesófilos aeróbios viáveis capazes de causar alteração leite UHT. A exclusão desse micro-organismo foi baseada nas características morfotintoriais descritas por Busatta et al. (2005).

As colônias suspeitas de serem bolores foram encaminhadas ao Laboratório de Micologia Veterinária da Universidade Estadual de Londrina para identificação. As colônias foram mantidas em ágar Sabouraud dextrose, em temperatura ambiente por um período de 7 a 14 dias. Para identificação foram realizadas análises macro e microscópicas. Para as análises microscópicas foram preparados microcultivos conforme a técnica de Riddel (1950), corados com azul de algodão lactofenol. A identificação foi realizada observando-se estruturas como micélio, conídios e esporos, comparadas com as descrições de Lacaz et al. (2002).

Os resultados das contagens foram expressos em unidades formadoras de colônias (UFC) por ml da amostra.

A análise dos dados estatísticos foi realizada com o programa Microsoft Excel® 2010. Para a realização do Teste “T” os valores foram convertidos para log.

3.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após a incubação a 36°C por 7 dias, nenhuma das amostras de leite UHT apresentou alterações visíveis como estufamento ou coagulação.

Com relação contagem total de micro-organismos aeróbios mesófilos (AM), foram encontradas 23 (38,3%) amostras acima de 100 UFC/mL, excluindo os *B. sporothermodurans*. Das 15 marcas analisadas, 11 (73,3%) marcas apresentaram resultados fora dos padrões para contagem de AM. Diversos autores estudando leite UHT em várias regiões do Brasil relatam contagens fora do padrão estabelecido pela Portaria 370 (BRASIL,1997) para contagem de aeróbios mesófilos. (COELHO et al. 2001; VIDAL-MARTINS et al. 2005; BERSOT et al. 2010; TAMANINI et al. 2011). No entanto Rezer (2010) e Rossi-Junior et al. (2006) não encontraram amostras fora do padrão para AM. A presença destes micro-organismos pode estar relacionada a problemas no tratamento térmico,

contaminação pós-processamento e ou mais provavelmente à problemas na integridade das embalagens utilizadas no armazenamento destes leites (BOOR; MURPHY, 2002).

Tabela 1 –Distribuição dos resultados da contagem micro-organismos aeróbios mesófilos e psicrotróficos em 60 amostras de leite UHT comercializadas em Londrina-PR entre novembro de 2011 e julho de 2012.

UFC/mL	Aeróbios Mesófilos			Psicrotróficos		
	Integral n (%)	desnatado n (%)	Total n (%)	integral n (%)	desnatado n (%)	total n (%)
<10	9 (30,0)	6 (20,0)	15 (25,0)	13 (43,3)	18 (60,0)	31 (51,7)
10 F- 101	9 (30,0)	13 (43,3)	22 (36,7)	17 (56,7)	8 (26,7)	25 (41,7)
101 F- 201	6 (20,0)	6 (20,0)	12 (20,0)	0 (0,0)	2 (6,7)	2 (3,3)
201 F- 301	4 (13,3)	1 (3,3)	5 (8,3)	0 (0,0)	1 (3,3)	1 (1,7)
≥ 301	2 (6,7)	4 (13,3)	6 (10,0)	0 (0,0)	1 (3,3)	1 (1,7)
Total	30 (100,0)	30 (100,0)	60 (100,0)	30 (100,0)	30 (100,0)	60 (100,0)

Fonte: Elaboração do autor

A contagem de micro-organismos psicrotróficos variou de não detectável (<10) a 950 UFC/mL. Foram encontrados psicrotróficos em 29 (48,3%) amostras, sendo a média encontrada de 18 UFC/mL para o leite integral e de 64 para o desnatado (Tabela 1). Rossi-Junior et al. (2006) verificaram resultados variando de $<10^1$ a 10^2 UFC/mL. Domareski et al. (2010) encontraram contagens de psicrotróficos para amostras do leite UHT do Brasil variando entre $1,0 \times 10^2$ e $2,0 \times 10^4$ UFC/ml. As amostras da Argentina, os valores oscilaram de $4,0 \times 10^2$ a $4,3 \times 10^3$. Em relação às marcas de leite do Paraguai os valores encontrados variaram entre $5,0 \times 10^2$ e $9,8 \times 10^5$ UFC/ml.

Os micro-organismos psicrotróficos também produzem enzimas lipolíticas e proteolíticas (ORDÓÑEZ et al., 2005). Os principais representantes deste grupo são Gram negativos, sendo o gênero *Pseudomonas* o mais frequente (SORHAUNG; STEPANIAK, 1997). A presença dos psicrotróficos em leite UHT está provavelmente relacionada falhas no tratamento térmico, contaminação pós-processamento e problemas nas embalagens (DATTA; DEETH, 2001), uma vez que a maior parte deste grupo são pouco resistentes á temperatura (CHEN et al, 2003).

A contagem de termodúricos mesófilos variou de não detectável (<10) a 1500 UFC/mL. A média encontrada foi de 235 UFC/mL para o leite integral e de 71 UFC/mL para o leite desnatado. Os termodúricos mesófilos foram detectados em 43 (71,7%) amostras. Já os termodúricos psicrotróficos foi encontrados em 27 (45,0%) amostras, e apresentaram

variação de não detectável (<10) a 470 UFC/mL. As médias encontradas foram de 32 UFC/mL para o leite integral de 56 UFC/mL para o leite desnatado.

Entre os micro-organismos termodúricos destacam-se os formadores de esporos, nesta forma são capazes de resistir ao tratamento UHT, e são representados principalmente pelos gêneros *Bacillus* e *Paenibacillus* (WALSTRA et al. 1999; BOOR; MURPHY, 2002).

A diferença estatística encontrada entre os tipos de leites para os termodúricos mesófilos se deve provavelmente a retirada de parte esporos no processo de desnate.

Tabela 2: Distribuição dos resultados da contagem micro-organismos termodúricos mesófilos e termodúricos psicrotróficos em 60 amostras de leite UHT comercializadas em Londrina-PR entre novembro de 2011 e julho de 2012.

UFC/mL	Termodúricos Mesófilos			Termodúricos Psicrotróficos		
	Integral n (%)	desnatado n (%)	Total n (%)	integral n (%)	desnatado n (%)	total n (%)
<10	8 (26,7)	9 (30,0)	17 (28,3)	16 (53,3)	17 (56,7)	33 (55,5)
10 F 101	11 (36,7)	16 (53,3)	27 (45,0)	12 (40,0)	8 (26,7)	20 (33,3)
101 F 201	1 (3,3)	1 (3,3)	2 (3,3)	0 (0,0)	3 (10,0)	3 (5,0)
201 F 301	1 (3,3)	2 (6,7)	3 (5,0)	1 (3,3)	0 (0,0)	1 (1,7)
≥ 301	9 (30,0)	2 (6,7)	11 (18,3)	1 (3,3)	2 (6,7)	3 (5,0)
Total	30 (100,0)	30 (100,0)	60 (100,0)	30 (100,0)	30 (100,0)	60 (100,0)

Fonte: Elaboração do autor

Coliformes totais, *E. coli* e enterococos não foram encontrados em nenhuma amostra pesquisada, indicando que o processamento térmico do leite UHT foi capaz de eliminá-los e não houve recontaminação por estes micro-organismos durante o processamento. Rezer (2010), Tamanini et al. (2011) também não encontram a presença de coliformes totais e *E. coli* em amostras de leite UHT.

A contagem de micro-organismos proteolíticos variou de não detectável (<10) a 8.650 UFC/mL. A média encontrada para o leite integral foi de 86 UFC/mL e de 532 UFC/mL para o leite desnatado (Tabela 3). Proteolíticos foram detectados em 31 (51,7%) amostras. As proteases produzidas por estes micro-organismos são capazes de hidrolisar a caseína disponível no leite em peptídeos solúveis. O efeito direto desta proteólise é o aparecimento de sabor amargo no leite e aumento da viscosidade (DATTA; DEETH, 2001).

A contagem de micro-organismos lipolíticos variou de não detectável (<10) a 240 UFC/mL. A média encontrada para o leite integral foi de 22 UFC/mL e de 13 UFC/mL

para o leite desnatado. Lipolíticos foram detectados em 27 (45,0%) amostras. As lipases atuam sobre os triglicerídeos o que confere um sabor de ranço ao leite (MOSTERT; JOOSTE, 2002).

Os micro-organismos proteolíticos e lipolíticos podem reduzir a vida de prateleira e a qualidade do leite devido ao potencial deteriorante. A presença destes micro-organismos deteriorantes foi verificada em 43 (71,7%) amostras, sendo 21 (35,0%) amostras de leite integral e 22 (36,7%). A ocorrência de micro-organismos deteriorantes pode estar relacionada a problemas no tratamento térmico, contaminação pós-processamento e problemas na integridade das embalagens utilizadas no armazenamento destes leites (DATTA; DEETH, 2001).

De acordo com as normas da RDC Nº 12, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), o leite UHT, quando colhido no ponto de comercialização, e após incubação em embalagem fechada a 35-37°C durante sete dias, não deve conter microrganismos patogênicos e causadores de alterações físicas, químicas e organolépticas (BRASIL, 2001). Considerando este padrão 43 (71,7%) amostras estariam em desacordo, e todas as marcas analisadas apresentaram pelo menos uma amostra contendo micro-organismos causadores de alterações físicas, químicas e organolépticas.

Tabela 3 – Distribuição dos resultados da contagem micro-organismos proteolíticos e lipolíticos em 60 amostras de leite UHT comercializadas em Londrina-PR entre novembro de 2011 e julho de 2012.

UFC/mL	Proteolíticos			Lipolíticos		
	Integral n (%)	desnatado n (%)	Total n (%)	integral n (%)	desnatado n (%)	total n (%)
<10	13 (43,3)	16 (53,3)	29 (48,3)	19 (63,3)	14 (46,7)	33 (55,0)
10 F 101	11 (36,7)	7 (23,3)	18 (30,0)	10 (33,3)	16 (53,3)	26 (43,3)
101 F 201	2 (6,7)	3 (10,0)	5 (8,3)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
201 F 301	1 (3,3)	0 (0,0)	1 (1,7)	1 (3,3)	0 (0,0)	1 (1,7)
≥ 301	3 (10,0)	4 (13,3)	7 (11,7)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
Total	30 (100,0)	30 (100,0)	60 (100,0)	30 (100,0)	30 (100,0)	60 (100,0)

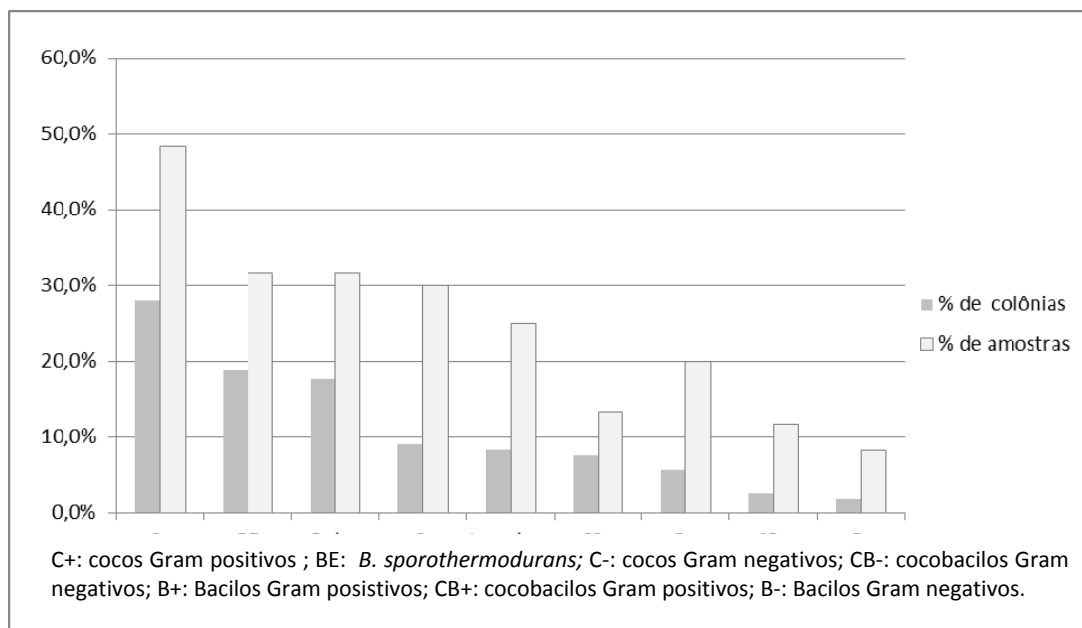
Fonte: Elaboração do autor

Quanto aos resultados observados na coloração de Gram, foram isoladas 462 colônias de aeróbios mesófilos, com predominância de cocos Gram-positivos (27,9%), 18,8% de *B. sporothermodurans*, 17,7% de bolores, 9,1% de cocos Gram negativos, 8,4% de leveduras e 7,6% de cocobacilos Gram negativos (Gráfico 1). Bersot et al. (2010) estudando

150 amostras de leites UHT integrais de 3 diferentes marcas encontram a predominância de cocos Gram positivos Coelho et al. (2001) selecionaram 174 colônias para identificação morfológica e todas foram identificadas como Gram-positivas, sendo 98,3% de bastonetes e 1,7% cocos.

A presença de *B. sporothermodurans* foi verificada em 14 (23,3%) amostras provenientes de 9 (60%) das marcas analisadas. Busatta et al. (2005) pesquisando em 88 amostras de 11 marcas de leite UHT, verificaram que 6 marcas (54,5%) apresentavam-se contaminadas por *B. sporothermodurans*. Rezer (2010) não detectou a presença deste micro-organismo em nenhuma amostra. Em condições normais de produção, o *B. sporothermodurans* é o único micro-organismo mesófilo capaz de sobreviver ao tratamento térmico convencional do leite UHT. De acordo com a literatura, não é patogênico e não causa alteração físico-química ou sensorial no leite (BARROS; PANETTA, 2006).

Gráfico 1 – Distribuição dos resultados da coloração de Gram por porcentagem de colônias e porcentagem de amostras em 462 colônias isoladas leite UHT comercializadas em Londrina-PR entre novembro de 2011 e julho de 2012.



Fonte: Elaboração do autor

Os bolores foram encontrados em 19 (31,7%) das amostras avaliadas de 13 (86,7%) marcas diferentes, sendo as espécies descritas na tabela 2. Leveduras foram encontradas em 19 (31,7%) amostras. Segundo a literatura o gênero *Candida* é o mais comum presente em leite e não provoca alterações significativas no produto (TRONCO, 2008). A presença de bolores e leveduras é um indicativo de práticas sanitárias insatisfatórias e pode

estar relacionada a falhas no tratamento térmico, contaminação pós-processamento ou problemas na contaminação da embalagem no armazenamento destes leites (BOOR; MURPHY, 2002). Também há relatos de resistência de leveduras e mofos a tratamentos térmicos. Ruz-Peres et al. (2010) estudando 275 estirpes de leveduras isoladas de amostras de leite cru bovino e encontraram 76,0% resistente à pasteurização rápida, 1,09% à pasteurização lenta 17,45% foram resistentes à fervura. Neste contexto, há grande possibilidade de que as leveduras sejam também resistentes ao processo UHT.

Tabela 4 –Distribuição das espécies de bolores encontrados em 19 das 60 amostras de leite UHT comercializadas em Londrina-PR entre novembro de 2011 e julho de 2012.

Fungo	%
<i>Ulocladium sp.</i>	21,95
<i>Acremonium sp.</i>	14,63
<i>Stysanus sp.</i>	9,76
<i>Oospora spp.</i>	9,76
<i>Mucor spp.</i>	8,54
<i>Moniliella sp</i>	8,54
<i>Fusarium spp.</i>	8,54
<i>Aspergillus Spp</i>	4,88
<i>Mycelia sterilia</i>	3,66
<i>Monilia Sitophila</i>	3,66
<i>Cladosporium spp.</i>	3,66
<i>Alternaria spp.</i>	2,44
Total	100,00

Fonte: Elaboração do autor

Os valores mínimos, máximos, média e desvio padrão dos resultados das análises realizadas estão descritos na tabela 5 e demonstraram a predominância de proteolíticos sobre lipolíticos e de termodúricos mesófilos sobre os outros grupos estudados.

Tabela 5 – Médias, valores mínimos e máximos dos resultados das análises microbiológicas realizadas em 60 amostras de leite UHT comercializadas em Londrina-PR entre novembro de 2011 e julho de 2012.

Análises (UFC/mL)	médias			mínimo		máximo	
	I	D	T	I	D	I	D
Proteolíticos	86 ^a	532 ^a	309	<10	<10	700	8650
Lipolíticos	22 ^a	13 ^a	18	<10	<10	240	60
TM	235 ^a	71 ^b	275	<10	<10	1500	425
TP	32 ^a	56 ^a	44	<10	<10	350	470
Psicrotróficos	18 ^a	64 ^a	41	<10	<10	100	950
Aeróbios Mesófilos	102 ^a	139 ^a	120	<10	<10	375	850

I: integral; D: desnatado; T: total

TM: termodúricos mesófilos; TP: termodúricos psicrotróficos

Médias seguidas pela mesma letra na linha, para cada um dos parâmetros analisados não diferem entre si pelo teste T ao nível de 5% de probabilidade.

Fonte: Elaboração do autor

3.5 CONCLUSÕES

Parte do leite UHT produzido no Sul do Brasil apresenta micro-organismos aeróbios mesófilos em excesso.

Também apresenta contaminação por microrganismos deteriorantes, sobretudo proteolíticos.

3.6 REFERÊNCIAS

BARROS, V.R.M., PANETTA, J.C. Esporulados mesófilos e a qualidade do leite UHT. In: MESQUITA, A.J., DÜRR, J.W., COELHO, K.O. (Org.). **Perspectivas e Avanços da Qualidade do Leite no Brasil**. Goiânia: Talento, 2006, v. 1, p. 261-272.

BERSOT, L. S.; GALVÃO, J. A.; RAYMUNDO, N. K. L.; BARCELLOS, V. C.; PINTO, J. P. A. N.; MAZIERO, M. T. Avaliação microbiológica e físico-química dos leite UHT produzidos no Estado do Paraná, Brasil. **Sêmina: Ciências Agrárias**, Londrina, v.31, n.3, p.645-652, , julho/set. 2010.

BOOR, K. J.; MURPHY, S. C. Microbiology of market milks. In: ROBINSON; R. K.. **Dairy microbiology handbook**. New York: John Wiley, 2012, p. 91-122. 3 ed.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria 370 de 04/09/1997. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite UAT. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 1997.

BRASIL. Ministério da Saúde. RDC nº 12, de 02/01/2001. Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 2001.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 62 de 26/08/2003. Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 2003.

BUSATTA, C.; VALDRUGA, E.; CASIAN, R. L. Ocorrência de *Bacillus sporothermodurans* em leite UHT integral e desnatado. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 25, p.408-411, jul./set. 2005.

CCE - CONSELHO DA COMUNIDADE EUROPEIA. DIRECTIVA 92/46 DE 16/07/92. **Normas sanitárias relativas à produção de leite cru, de leite tratado termicamente e de produtos à base de leite e à sua colocação no mercado**. 1992.

CHEN, L.; DANIEL, R.M.; COOLBEARB, T. Detection and impact of protease and lipase activities in milk and milk powders. **International Dairy Journal**, Barking, v.13, n.4, p.255-275, abr. 2003.

COELHO, P. S.; SILVA, N.; BRESCIA, M. V.; SIQUEIRA, A. P. Avaliação da qualidade microbiológica do leite UAT integral comercializado em Belo Horizonte. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecia**, Belo Horizonte, v.53, n.2, p.1-7, abr. 2001.

DATTA, N.; DEETH, H. C. Age gelation of UAT milk – a review. *Institution Chemical of Engineers*, v. 79, n.4, p. 197-210, dez. 2001.

DATTA, N.; DEETH, H.C. Diagnosing the cause of proteolysis in UHT milk. **Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie**, v. 36, n. 2, p. 73-182, mar. 2003.

DOMARESKI, J. L.; BANDIERA, N. S.; SATO, R. T.; ARAGON-ALEGRO, L. C.; SANTANA, E. H. W. Avaliação físico-química e microbiológica do leite UHT comercializado em três países do Mercosul (Brasil, Argentina e Paraguai). **Archivos Latinoamericanos de Nutricion**, Caracas, v.60, n.3, p.261-269, julho/set. 2010.

FRANK, J. F.; CHRISTEN, G. L.; BULLERMAN, L. B. Tests for groups of microorganisms. IN: WEHR, M. **Standard Methods for the Examination of Dairy Products**. 16 ed. Washington: Amer Public Health Assn, 1992. p.271-285.

LACAZ, C. S.; PORTO, E.; MARTINS, J. E. C.; HEINS-VACCAU, E. M.; MELO, N. T. **Tratado de micologia médica**. 9 ed. São Paulo: Sarvier, 2002. 1120 p.

MOSTERT, J. F.; JOOSTE, P. J. Quality control in the dairy industry. In: ROBINSON; R. K.. **Dairy microbiology handbook**. New York: John Wiley, 2012, p. 91-122. 3 ed.

ORDÓÑEZ, J.A. et al. **Tecnologia de Alimentos**: Alimentos de origem animal. Porto Alegre: Artmed, 2005. v.2.

REZER, A. P. S. **Avaliação da qualidade microbiológica e Físico-química do leite UHT integral comercializado no Rio Grande do Sul**. 2010. 72 f. Dissertação (Mestrado Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2010.

RIDDEL, R.W. Permanent stained mycological preparations obtained by slide culture. **Mycologia**, v.42, n. 2, p.265-270, 1950.

ROSENTHAL, I. **Milk and dairy products; properties and processing**. New York: VCH, 1991. 98p.

ROSSI JÚNIOR, O. D.; VIDAL-MARTINS, A. M. C.; SALOTTI, B. M.; BÜRGER, K. P.; CARDOZO, M. V.; CORTEZ, A. L. L. Estudo das características microbiológicas do leite UAT ao longo de seu processamento. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.73, n.1, p.27-32, jan./mar., 2006.

RUZ-PEREZ, M; BENITES, N. R.; YOKOYA, E.; MELVILLE, P. A. Resistência de fungos filamentosos e leveduras isolados de Leite cru bovino à pasteurização e fervura. **Veterinária e Zootecnia**, Botucatu, v.17, n.1, p.62- 70, mar. 2010.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A.; TANIWAKI, M. H.; SANTOS, R. F. S.; GOMES, R. A. R. **Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos e Água**. 4 ed. São Paulo: Varela. 2010.

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

TAMANINI, R; BELOTI, V.; RIBEIRO JUNIOR, J. C.; SILVA, L. C. C.; YAMADA, A. K.; SILVA, F. A. Contribuição ao estudo da qualidade microbiológica e físico-química do leite UHT. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v.66, n.382, p.27-33, set/out. 2011.

TRONCO, V.M. **Manual para inspeção da qualidade do leite**. 3ed. Santa Maria: UFSM, 2008. 206p.

VIDAL-MARTINS, A.M.C.; ROSSI JUNIOR, O.D.; REZENDE-LAGO, N.C.M. Microrganismos heterotróficos mesófilos e bactérias do grupo do *Bacillus cereus* em leite integral submetido a ultra alta temperatura. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.57, n.3, p.396-400, jun. 2005.

WALSTRA, P. **Dairy technology: principles of milk properties and processes**. New York: Marcel Dekker, 1999. 727p.

WESTHOFF, D.C. Microbiology of ultra high temperature milk. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.64, n.1, p. 167-173, jan. 1981.

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

4. ARTIGO 2

SUFICIÊNCIA DAS PROVAS FÍSICO-QUÍMICAS OBRIGATÓRIAS PARA GARANTIA DA QUALIDADE DO LEITE UHT.

4.1 RESUMO: A legislação para o controle de qualidade do leite UHT no Brasil, determina apenas alguns parâmetros a serem avaliados. O presente trabalho teve como objetivo verificar se os parâmetros oficiais a serem pesquisados são suficientes para garantir a qualidade físico-química em leites UHT produzidos na região sul do Brasil. Amostras de leite UHT foram colhidas no comércio e foram avaliadas utilizando às análises obrigatórias pela Portaria 370 (BRASIL, 1997): gordura, sólidos não gordurosos (SNG), acidez titulável e estabilidade ao álcool 68%. Também foram submetidas a provas complementares de estabilidade ao álcool 72%, 76% e 80%, densidade a 15°C, crioscopia, pH, contagem de células somáticas (CCS), proteína, lactose avaliação da geleificação e sedimentação. Das 60 amostras analisadas, 50 (83,3%) se apresentaram dentro dos padrões estabelecidos pela legislação. Na análise de gordura 10,0% das amostras apresentaram resultados fora dos padrões, 6,7% das amostras estavam alteradas para sólidos não gordurosos e 3,4% para acidez titulável. Todas as amostras foram estáveis ao álcool 68%. Quanto às análises complementares apresentaram alterações no pH, o índice crioscópico da maioria das amostras não foi compatível com o leite adicionado de citrato de sódio e foi verificada a presença de sedimentação e geleificação. Se levarmos em consideração as análises da legislação e também as provas complementares, exceto sedimentação e CCS, apenas 1 (1,7%) amostra atenderia todos os requisitos. Os resultados demonstram que há problemas com a qualidade do leite UHT, inclusive nas análises que não constam na legislação, indicam que a legislação do leite UHT deve ser complementada, de modo a estabelecer parâmetros de controle de qualidade que possibilitem a avaliação de itens que constituem problemas frequentes neste produto, como a sedimentação, geleificação e manutenção da água residual decorrente do processo UHT.

Palavras chave: Leite UAT. Leite Uperizado. Qualidade.

4.2 INTRODUÇÃO

O mercado de leite no Brasil vem crescendo nos últimos anos e um dos produtos que mais cresceu em produção foi o leite ultra alta temperatura (UHT). Segundo dados da Associação Brasileira de Indústrias de Leite Longa Vida (ABLV) a produção nacional de leite UHT em 2011 foi de 5,81 bilhões de litros, representando 78% do total do leite fluido consumido no Brasil (GUERRA, 2012).

O Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Leite UHT define leite UHT como leite homogeneizado submetido durante 2 a 4 segundos a uma temperatura entre 130°C e 150°C, mediante processo térmico de fluxo contínuo, e imediatamente resfriado à temperatura inferior a 32°C, envasado sob condições assépticas em embalagens estéreis e hermeticamente fechadas (BRASIL, 1997).

Desta forma, o processo de ultra-alta temperatura (UHT) tem como objetivo aumentar a vida de prateleira dos produtos lácteos e fornecer aos consumidores um produto seguro. A longa vida do produto e a possibilidade de armazenamento em temperatura ambiente tem contribuído para o aumento da competitividade e aceitabilidade do leite UHT no mercado.

Segundo a Portaria 370 (BRASIL, 1997), o leite UHT deve atender as seguintes características sensoriais: aspecto líquido, cor branca, odor e sabor característicos, sem sabores nem odores estranhos e as seguintes características físico-químicas: acidez entre 14 e 18°D, estabilidade ao álcool 68% e, para o leite integral, no mínimo 3% de gordura e 8,2% de sólidos não gordurosos (SNG). Já o leite desnatado deve apresentar no máximo 0,5% de gordura e no mínimo 8,4% de SNG.

Diversos autores sugerem que apenas as análises previstas na legislação não são suficientes para o controle de qualidade do leite UHT (PRATA, 2001; SILVA, 2004; VIEGAS et al, 2006; BELOTI, et al. 2010, TAMANINI et al., 2011). Segundo Silva (2004) o leite UHT está sujeito a problemas que não são observados no leite pasteurizado como a sedimentação e a geleificação, apontadas como causas de diminuição do tempo de vida de prateleira desse produto. Outro problema verificado é que a adição dos estabilizantes de proteína, como o citrato de sódio, alteram a crioscopia e a densidade do leite (BELOTI et al.,2010), não havendo parâmetros legais para estas provas, nem provas alternativas para verificar fraudes por adição de água e/ou reconstituintes.

O presente trabalho teve como objetivo verificar se os parâmetros oficiais a serem pesquisados são suficientes para garantir a qualidade físico-química em leites UHT produzidos na região sul do Brasil utilizando às análises obrigatórias pela Portaria 370 (BRASIL, 1997): gordura, sólidos não gordurosos (SNG), acidez titulável e estabilidade ao álcool 68% e provas complementares de estabilidade ao álcool 72%, 76% e 80%, densidade a 15°C, crioscopia, pH, contagem de células somáticas (CCS), proteína, lactose, avaliação da geleificação e sedimentação.

4.3 MATERIAL E MÉTODOS

Foram avaliadas 60 amostras de leite UHT, sendo 30 de leite integral e 30 de leite desnatado, comercializadas em supermercados da cidade de Londrina/PR. As amostras pertenciam a 15 marcas, sendo 6 produzidas no Paraná, 6 no Rio Grande do Sul e 3

em Santa Catarina. As amostras foram colhidas entre novembro de 2011 e julho de 2012, com média de 36 dias após fabricação.

As amostras foram encaminhadas ao Laboratório de Inspeção de Produtos de Origem Animal, da Universidade Estadual de Londrina, homogeneizadas e submetidas às análises obrigatórias pela Portaria 370 (BRASIL, 19997) para o leite UHT: gordura, sólidos não gordurosos (SNG), acidez titulável e estabilidade ao álcool 68%. Também foram submetidas a provas complementares de estabilidade ao álcool 72%, 76% e 80%, densidade a 15°C, crioscopia, pH, contagem de células somáticas (CCS), proteína, lactose, avaliação da geleificação e sedimentação.

Foram realizadas segundo a Instrução Normativa nº 68 (BRASIL, 2006) as análises de estabilidade ao álcool 68%, 72%, 76% e 80%, acidez titulável - método B, densidade a 15°C, crioscopia (PZL 7000 – PZL) e pH (HI 8424 – Hanna).

A avaliação da geleificação foi realizada através do extravasamento gradual do produto da embalagem através de uma peneira e pesando-se o conteúdo geleificado.

Após o escoamento total da embalagem foi realizada a determinação da sedimentação segundo Silva (2004). A embalagem foi cortada na altura de 4 cm a partir da base. Inverteu-se a embalagem por 10 minutos, e cortou-a novamente, de forma que a mesma ficasse plana. A embalagem foi mantida por 48 horas com a face interna voltada para cima. Foi pesada, e então removeu-se completamente o sedimento seco, e pesou-se novamente a embalagem. A massa de sedimentos foi obtida pela diferença entre as duas pesagens.

As análises de contagem de células somáticas (CCS), proteína, gordura, sólidos não gordurosos e lactose foram realizadas no Laboratório do Programa de Análise do Leite da Associação Paranaense de Criadores de Bovinos da Raça Holandesa (APCBRH) em Curitiba/PR. No Laboratório da APCBRH a análise de CCS foi realizada por citometria de fluxo no equipamento Somacount – 500 (Bentley Instruments, Chaska,MN, EUA). As outras análises foram feitas no contador eletrônico infravermelho BENTLEY – 2000 (Bentley Instruments, Chaska,MN, EUA). Para realização destas análises foram colhidos 40 mL de leite em recipientes plásticos apropriados, com o conservante bronopol, fornecidos pelo Laboratório, e encaminhadas de acordo com as normas estabelecidas pelo Manual de Operações de Campo do Programa de Análise dos Rebanhos Leiteiros do Paraná.

A análise dos dados estatísticos foi realizada com o programa Microsoft Excel® 2010. Para a realização do Teste “T” os valores foram convertidos para log.

4.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dos leites integrais 3 (10,0%) amostras apresentaram porcentagens de gordura inferior ao estabelecido pela legislação, enquanto dos desnatados, 3 (10,0%) amostras estavam acima do padrão (Tabela 1). A média obtida foi de 3,12% para as amostras de leite integral e 0,30% para os desnatados (Tabela 6). No total, 6 (40,0%) marcas apresentaram resultados fora dos padrões para gordura. Diversos autores relatam amostras de leite UHT fora do padrão para análise do teor de gordura (ARRUDA et al., 2007; BERSOT et al. 2010; TAMANINI et al., 2011). No entanto Robim (2011), Bernardi et al. (2006), Martins et al. (2008), Souza et al. (2004) e Souza et al. (2010) encontraram todas as amostras de leite UHT pesquisadas dentro dos padrões estabelecidos pela legislação para a porcentagem de gordura.

Dos sólidos do leite a gordura é o componente mais facilmente alterado. A porcentagem inferior ao estabelecido pela legislação no leite UHT integral pode ser explicada por falhas na alimentação dos animais. Há condições de dietas que podem predispor a diminuição da gordura do leite como tamanho de partícula reduzido, alto teor de concentrados na dieta, baixa teor de volumosos (ORDÓÑEZ et al., 2005; SANTOS; FONSECA 2007; CANESIN et al, 2009). No entanto, como o leite UHT é decorrente da mistura de leites de vários produtores e animais, o fator alimentação passa ter menor impacto. Outra causa poder ser o desnate excessivo que constitui uma irregularidade. Com relação aos leites desnatados, a quantidade superior ao estabelecido pela legislação se deve provavelmente a problemas de funcionamento da desnatadeira.

Tabela 1 – Distribuição dos os resultados de porcentagens de gordura e sólidos não gordurosos em 60 amostras de leite UHT comercializadas em Londrina-PR entre novembro de 2011 e julho de 2012.

Tipo de leite	Gordura (%)	n (%)	Sólidos não gordurosos (%)	
			<8,2	≥8,2
Integral	<3,0	3 (10,0)	<8,2	2 (6,7)
	≥3,0	27 (90,0)	≥8,2	28 (93,3)
Desnatado	≤05	27 (90,0)	<8,4	2 (6,7)
	> 0,5	3 (10,0)	≥8,4	28 (93,3)

Fonte: Elaboração do autor

Com relação aos sólidos não gordurosos (SNG), foram encontradas 2 (6,7%) amostras para leite integral e 2 (6,7%) amostras para o leite desnatado fora dos padrões (Tabela 1). No total, 4 (26,7%) marcas apresentaram resultados fora dos padrões para esta análise. Tamanini et al. (2011), Domareski et al. (2010), Martins et al. (2008) e Bersot et al. (2010) também verificaram resultados de SNG em desacordo com a legislação. Por outro lado, diversos autores ao analisarem amostras de leite UHT em diferentes estados brasileiros, encontraram todas as amostras analisadas dentro dos padrões estabelecidos para os sólidos não gordurosos (ARRUDA et al., 2007; BERNARDI et al., 2006; ROBIM, 2011; SOUZA et al., 2010).

Os SNG correspondem a somatória dos componentes do leite, excluindo-se a água e a gordura. Sua diminuição indica possível redução no teor dos sólidos do leite principalmente proteínas e lactose (WALSTRA et al. 1999; TRONCO, 2008).

A legislação vigente (BRASIL, 1997) exige que o leite UHT seja estável à prova do álcool 68%. Todas as amostras atenderam à esta exigência. As amostras também apresentaram estabilidade nas concentrações de 72%, 76% e 80% de álcool. Os resultados coincidem com os encontrados por Bersot et al. (2010), Martins et al. (2008) que descreveram 100% das amostras estáveis ao álcool 68%. Souza et al. (2010) encontram 20% em desacordo com a legislação e Domareski et al. (2010) verificaram a instabilidade ao álcool 68% em 1 (25%) marca produzida no Brasil e em nenhuma das marcas Argentinas e Paraguias analisadas. Também foi relatado pelos mesmos autores a instabilidade ao álcool 80% em 100% das marcas produzidas no Brasil, e em 25% das marcas da Argentina e 50 % das marcas produzidas no Paraguai.

A estabilidade encontrada nas amostras estudadas se deve possivelmente a adição de estabilizantes de proteína (citrato de sódio, monofosfato de sódio, difosfato de sódio, trifosfato de sódio) permitidos pela lei (ORDÓÑEZ, 2005).

Em relação à acidez Dornic 58 (96,7%) amostras apresentaram-se dentro do intervalo normal. Apenas 1 (1,7%) amostra apresentou resultado superior ao valor máximo e 1 (1,7%) apresentou resultado abaixo de 14°D. No total, 2 (13,3%) marcas apresentaram resultados fora dos padrões para esta análise. Outros autores encontraram amostras de leite UHT fora dos padrões estabelecidos para a acidez Dornic (ARRUDA et al., 2007; BERSOT et al., 2010; SOUZA et al., 2010; TAMANINI et al., 2011). Domareski et al. (2010), Martins et al. (2008) e Robim (2011) encontraram 100% das amostras de leite analisadas com acidez de acordo com o que determina a legislação.

A acidez superior a 18°D se deve a acidificação do leite pela quebra da lactose por micro-organismos presentes e a acidez inferior a 14°D se deve provavelmente a adição de neutralizantes da acidez ou presença de água residual remanescente do processo UHT (BHEMER, 1999; WALSTRA et al. 1999; TRONCO, 2008).

A média dos resultados para o pH para o leite integral foi de 6,76 e do leite desnatado foi de 6,74, valor dentro da normalidade do leite, que varia de 6,6 a 6,8 (SANTOS; FONSECA, 1997). Se considerarmos estes valores 15 (25,0%) amostras de 12 (73,3%) marcas estariam fora deste intervalo (Tabela 2). Domareski et al. (2010) descreveram valores de pH dos leites analisados variando entre 6,47 e 7,11.

O pH elevado de algumas amostras se deve à adição de fosfatos e citrato em quantidades elevadas, pois estes reagem com o cálcio, diminuindo as concentrações de cálcio iônico e de fosfato de cálcio na fase aquosa provocando o aumento do pH (ORDÓÑEZ et al., 2005).

Tabela 2 – Distribuição do pH em 60 amostras de leite UHT comercializadas em Londrina-PR entre novembro de 2011 e julho de 2012.

pH	Integral n (%)	Desnatado n (%)	Total n (%)
< 6,60	0 (0,0)	2 (6,7)	2 (3,3)
6,60 F 6,81	22 (73,3)	23 (76,7)	45 (75,0)
≥ 6,81	8 (26,7)	5 (16,7)	13 (21,7)
Total	30 (100,0)	30 (100,0)	60 (100,0)

Fonte: Elaboração do autor

A média de células somáticas encontradas no leite integral foi de 21.967 células/mL e de 13.733 células/mL para o leite desnatado. A diferença encontrada entre os tipos de leites se deve provavelmente ao processo de desnate que retira parte das células somáticas junto com a gordura. Bernardi et al. (2006) e Souza et al. (2004) também encontraram baixas contagem de CCS no leite UHT. Segundo Souza et al. (2004), esta baixa contagem se deve, provavelmente, ao processo tecnológico de produção do leite UHT que destrói parte das células.

Os resultados encontrados para a proteína estão demonstrados na tabela 3. Nenhuma amostra apresentou resultado inferior a 3%, parâmetro adotado para o do leite cru refrigerado (BRASIL, 2011). A média encontrada foi de 3,33%. Rezer (2010) encontrou 11

(60%) marcas abaixo de 3%. Já Bernardi et al. (2006), Souza et al. (2004) e Tamanini et al. (2011) não encontraram alterações nesta análise.

Tabela 3 – Distribuição dos resultados de proteína em 60 amostras de leite UHT comercializadas em Londrina-PR entre novembro de 2011 e julho de 2012.

Proteína (%)	Integral n (%)	Desnatado n (%)	Total n (%)
<3,0	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
3,0 F 3,5	30 (100,0)	22 (73,3)	52 (86,7)
≥ 3,5	0 (0,0)	8 (26,7)	8 (13,3)
Total	30 (100,0)	30 (100,0)	60 (100,0)

Fonte: Elaboração do autor

Os resultados para análise de lactose estão na tabela 4. A média de lactose encontrada foi de 4,44%. O Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos e Origem Animal (BRASIL, 2010), no artigo 476 estabelece que o leite normal deve ter no mínimo 4,3% de lactose. Se utilizarmos o mesmo parâmetro para o leite UHT, 14 (23,3%) amostras não atenderiam este requisito (Tabela 4). Segundo dados fornecidos pela APCBRH a média de lactose das amostras de leite cru refrigerado produzidos no Estado do Paraná no ano de 2011 foi de 4,43%. Se considerarmos esta média, 29 (48,33%) amostras estavam abaixo deste valor (Tabela 7; Tabela 8). Resultado semelhante foi encontrado por Tamanini et al. (2011) estudando 33 amostras de leite UHT encontram média de 4,35% de lactose. A lactose é o componente mais estável do leite, variando pouco entre as raças (BRITO et al. 2006). A pouca lactose, bem como quantidades superiores a 4,7% indicam amostras anormais, diluídas ou reconstituídas com sacarose, já que a metodologia de detecção por infravermelho não diferencia lactose e sacarose, nem exclui a lactulose produzida no leite UHT. Isto porque estes equipamentos não aferem a lactoses diretamente, apenas estimam sua quantidade a partir da aferição de gordura, proteína e a quantidade de sólidos totais.

Tabela 4 –Distribuição dos resultados de lactose em 60 amostras de leite UHT comercializadas em Londrina-PR entre novembro de 2011 e julho de 2012.

Lactose (%)	Integral n (%)	Desnatado n (%)	Total n (%)
< 4,0	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
4,0 F 4,3	10 (33,3)	4 (13,3)	14 (23,3)
4,3 F 4,4	6 (20,0)	4 (13,3)	10 (16,7)
4,4 F 4,5	9 (30,0)	11 (36,7)	20 (33,3)
4,5 F 4,6	5 (16,7)	8 (26,7)	13 (21,7)
4,6 F 4,7	0 (0,0)	2 (6,7)	2 (3,3)
4,7 F 5,0	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
≥ 5,0	0 (0,0)	1 (3,3)	1 (1,7)
Total	30 (100,0)	30 (100,0)	60 (100,0)

Fonte: Elaboração do autor

Os sais se encontram em pequenas quantidades no leite em torno de 0,8% (SANTOS; FONSECA, 1997). Se considerarmos os sólidos não gordurosos, e retirarmos a lactose e a proteína, teríamos a quantidade de sais do leite. O leite UHT pode se adicionado de 0,1% de estabilizantes da proteína (citrato de sódio, monofosfato de sódio, difosfato de sódio, trifosfato de sódio), o que elevaria os sais a uma quantidade 0,9% no leite UHT. Se nos basearmos neste valor, 26 (43,3%) amostras estariam acima de 0,9% o que indica a adição de estabilizantes em excesso (Tabela 7; Tabela 8). A média de sais encontrada foi de 0,9% com valor máximo encontrado de 1,89%. Teores mais altos de sais permitem a diluição ou a manutenção de água resultante do processamento no produto. Altas quantidades de sais e pouca lactose são evidências de quantidade excessivas de estabilizantes e água como as encontradas nas amostras 8 e 27 na tabela 7.

Quanto à crioscopia os resultados estão demonstrados na Tabela 5. A média encontrada para essa análise foi de $-0,545^{\circ}\text{H}$. Não há padrão estabelecido na legislação de leite UHT para a crioscopia e nem para a densidade, pois a adição de sais estabilizantes altera estes parâmetros (BELOTI et al. 2010). Entretanto pode-se obter um parâmetro considerando a crioscopia inicial do leite e a crioscopia após o acréscimo dos estabilizantes da proteína que ocorre antes do processamento térmico. De acordo com o regulamento do leite UHT (BRASIL, 1997) é permitido a adição de até 0,1% de estabilizantes no processamento, que tem como objetivo promover um aumento na estabilidade térmica do leite. Beloti et al. (2010) observaram que a adição de 0,1% de citrato de sódio provoca aprofundamento no ponto de congelamento do leite, alterando a crioscopia em $-0,020^{\circ}\text{H}$. Portanto a crioscopia do leite

citratado deveria estar entre $-0,550^{\circ}\text{H}$ a $-0,570^{\circ}\text{H}$. Se esse intervalo fosse utilizado como padrão, 48 (80,0%) amostras estariam fora do padrão, com índices mais próximos de zero. Todas as marcas apresentaram pelo menos uma amostra fora deste padrão. As amostras com crioscopia maior que $-0,550^{\circ}\text{H}$ provavelmente apresentam água como resíduo do processamento térmico ou adulteração por adição de água. Tamanini et al. (2011) considerando o mesmo padrão encontram 28 (84,9%) amostras com índice crioscópico acima de $-0,550^{\circ}\text{H}$. Souza et al. (2010) detectaram todas as amostras com valores superiores a $-0,550^{\circ}\text{H}$.

Tabela 5 –Distribuição da crioscopia em 60 amostras de leite UHT comercializadas em Londrina-PR entre novembro de 2011 e julho de 2012.

Crioscopia (H°)	Integral n (%)	Desnatado n (%)	Total n (%)
$<-0,651$	0 (0,0)	2 (6,7)	2 (3,3)
$561 \text{ F} -0,551$	6 (20,0)	4 (13,3)	10 (16,7)
$0,551 \text{ F} -0,541$	16 (53,3)	14 (46,7)	30 (50,0)
$0,541 \text{ F} -0,531$	8 (26,7)	9 (30,0)	17 (28,3)
$\geq-0,531$	0 (0,0)	1 (3,3)	1 (1,7)
Total	30 (100,0)	30 (100,0)	60 (100,0)

Fonte: Elaboração do autor

Os resultados da densidade apresentaram média de $1030,19\text{g}/\text{cm}^3$ para as amostras de leite integral e $1034,4\text{ g}/\text{cm}^3$ para os desnatados. Se utilizarmos o mesmo parâmetro de densidade do leite cru refrigerado de 1.028 até $1.034\text{ g}/\text{cm}^3$ (BRASIL, 2011), 2 (6,7%) amostras de leite integral apresentaram valor abaixo do mínimo e 21 (70%) amostras de leite desnatado tiveram valor superior ao limite máximo esperado, totalizando 23 (38,3) amostras fora deste intervalo. Outros autores também consideraram o valor mínimo de $1.028\text{ g}/\text{cm}^3$ para densidade do leite UHT. Bersot et al. (2010) classificaram 4 (2,7%) de suas amostras como irregulares. Tamanini et al. encontraram 1 (6,7%) amostra e Domareski et al. encontraram valores médios de densidade abaixo de $1.028\text{ g}/\text{cm}^3$ para 1 marca (25%) da Argentina, para 3 (75%) marcas do Paraguai e nenhuma para marca do Brasil. Arruda et al. (2007), Robin (2011) e Souza et al. (2010) não encontraram nenhuma amostra abaixo de $1.028\text{ g}/\text{cm}^3$.

A densidade encontrada abaixo de 1028,0 g/cm³ indica adição de água, e a densidade maior encontrada nos leites desnatados é devido ao desnate, pois a gordura é o único constituinte com densidade menor que a água (BEHMER, 1999; TRONCO, 2008).

Quanto a sedimentação a média encontrada foi de 0,046 g/L, com os resultados variando de não detectável a 0,633g/L. Silva (2004) encontrou médias de sedimentação com valores muito superiores aos encontrados no presente trabalho, sendo as amostras colhidas em São Paulo apresentaram média de 1,0275 g/L, 1,0925 g/L foi a média do Rio de Janeiro e em Goiás a média foi de 0,7744 g/L. Este mesmo autor define a sedimentação como a perda da estabilidade proteica do leite submetido a tratamento térmico, que promove maior desnaturação de proteínas e precipitação dos sais minerais. A sedimentação é considerada um dos maiores problemas apontados pelas indústrias, pois gera necessidade de interrupções com maior frequência para limpeza dos equipamentos e tubulações, além de reduzir o tempo de prateleira e ocasionar rejeição pelo consumidor.

Com relação à geleificação, apenas 2 (6,7%) amostras continham conteúdo geleificado. Estas amostras apresentaram 0,621g e 1,018g de conteúdo geleificado. A geleificação ocorre principalmente devido à ação proteolítica de enzimas termoresistentes, produzidas por micro-organismos contaminantes do leite cru antes do processamento térmico, e que permanecem ativas mesmo após a embalagem, fazendo com que este se torne impróprio para consumo antes do prazo final de validade (SILVA, 2004).

As médias, os valores mínimos e máximos dos resultados das análises realizadas estão descritos na tabela 6. Considerando-se apenas as análises previstas na legislação 50 (83,3%) se apresentaram dentro dos padrões, pertencentes a 8 (53,3%) marcas diferentes. Se levarmos em consideração as análises da legislação e também as provas complementares, exceto sedimentação e CCS, apenas 1 (1,7%) amostra atenderia todos os requisitos, mostrando a fragilidade do controle de qualidade vigente do leite UHT.

Tabela 6 – Médias, valores mínimos e máximos dos resultados das análises realizadas em 60 amostras de leite UHT integral e desnatados comercializadas em Londrina-PR entre novembro de 2011 e julho de 2012.

Análises	médias			mínimo		máximo	
	I	D	T	I	D	I	D
Gordura (%)	3,12	0,30	1,71	2,90	0,09	3,66	0,61
SNG (%)	8,52 ^a	8,79 ^a	8,65	8,15	8,20	8,81	9,80
Densidade (g/cm ³)	1030,19 ^a	1034,40 ^a	1032,30	1021,00	1030,00	1033,00	1036,20
Acidez (°D)	16,2 ^a	16,7 ^a	16,5	13	14	18	19
pH	6,76 ^a	6,74 ^b	6,75	6,63	6,45	6,97	6,88
Crioscopia (°H)	-0,544 ^a	-0,545 ^a	-0,545	-0,558	-0,535	-0,565	-0,528
Proteína (%)	3,24 ^a	3,42 ^a	3,33	3,03	3,14	3,37	3,61
Lactose (%)	4,38 ^a	4,50 ^a	4,44	4,16	4,26	4,56	5,52
Sais (%)	0,91 ^a	0,88 ^a	0,89	0,83	0,00	0,99	1,89
CCS	21.967 ^a	13.733 ^b	17.850	1.000	1.000	130.000	86.000
Sedimentação (g/L)	0,080 ^a	0,013 ^a	0,046	0,002	0,000	0,633	0,065

I: integral; D: desnatado; T: total

Médias seguidas pela mesma letra na linha, para cada um dos parâmetros analisados não diferem entre si pelo teste T ao nível de 5% de probabilidade.

Fonte: Elaboração do autor

Tabela 7 – Resultados das análises físico-químicas de 30 amostras de leite UHT desnatado comercializadas em Londrina-PR entre novembro de 2011 e julho de 2012.

	Acidez (D°)	pH	Crioscopia (°H)	Dens. (g/cm ³)	Gordura (%)	Proteína (%)	Lactose (%)	SNG (%)	Sais (%)
1	17	6,80	-0,544	1031,40	3,22	3,37	4,50	8,81	0,94
2	17	6,73	-0,548	1031,20	2,98	3,22	4,37	8,49	0,90
3	16	6,76	-0,537	1030,40	3,05	3,16	4,35	8,39	0,88
4	17	6,70	-0,536	1030,40	3,66	3,16	4,56	8,65	0,93
5	17	6,63	-0,537	1030,80	3,07	3,25	4,47	8,64	0,92
6	17	6,77	-0,546	1031,00	3,13	3,29	4,49	8,71	0,93
7	16	6,68	-0,545	1021,00	3,07	3,27	4,40	8,59	0,92
8	16	6,64	-0,544	1033,00	3,22	3,21	4,26	8,39	0,92
9	15	6,86	-0,541	1029,20	3,17	3,09	4,27	8,19	0,83
10	16	6,66	-0,546	1030,20	3,17	3,13	4,28	8,31	0,90
11	18	6,80	-0,545	1030,80	3,11	3,24	4,48	8,66	0,94
12	17	6,85	-0,544	1031,00	2,90	3,24	4,53	8,68	0,91
13	16	6,69	-0,542	1030,60	3,08	3,30	4,50	8,74	0,94
14	13	6,78	-0,535	1029,40	3,15	3,06	4,29	8,20	0,85
15	17	6,78	-0,549	1030,80	3,00	3,32	4,47	8,72	0,93
16	15	6,71	-0,542	1031,00	3,05	3,16	4,46	8,53	0,91
17	14	6,82	-0,541	1030,00	3,04	3,19	4,26	8,35	0,90
18	17	6,72	-0,554	1031,00	3,03	3,34	4,32	8,61	0,95
19	16	6,64	-0,535	1030,20	3,49	3,03	4,54	8,45	0,88
20	16	6,77	-0,543	1031,20	2,99	3,30	4,42	8,66	0,94
21	16	6,71	-0,550	1031,40	3,07	3,32	4,42	8,70	0,96
22	14	6,89	-0,542	1030,20	3,09	3,26	4,25	8,43	0,92
23	17	6,67	-0,558	1029,80	3,22	3,25	4,24	8,40	0,91
24	14	6,83	-0,543	1030,20	3,05	3,04	4,30	8,21	0,87
25	16	6,70	-0,550	1031,20	3,17	3,36	4,35	8,65	0,94
26	18	6,73	-0,553	1030,80	3,07	3,30	4,28	8,45	0,87
27	18	6,69	-0,550	1029,80	3,00	3,31	4,24	8,54	0,99
28	17	6,88	-0,547	1029,80	3,04	3,37	4,42	8,68	0,89
29	16	6,97	-0,536	1027,80	3,27	3,15	4,16	8,15	0,84
30	17	6,82	-0,546	1030,00	3,00	3,37	4,39	8,66	0,90

Dens: densidade; SNG: sólidos não gordurosos

Fonte: Elaboração do autor

Tabela 8 – Resultados das análises físico-químicas em 30 amostras de leite UHT integral comercializadas em Londrina-PR entre novembro de 2011 e julho de 2012.

	Acidez (D°)	pH	Crioscopia (°H)	Dens. (g/cm ³)	Gordura (%)	Proteína (%)	Lactose (%)	SNG (%)	Sais (%)
1	17	6,76	-0,536	1035,40	0,28	3,43	4,49	8,83	0,91
2	15	6,78	-0,549	1035,70	0,21	3,14	4,27	8,20	0,79
3	19	6,68	-0,557	1035,00	0,61	3,42	4,50	8,87	0,95
4	18	6,79	-0,538	1035,00	0,43	3,41	4,68	9,02	0,93
5	16	6,79	-0,546	1036,00	0,19	3,38	4,58	8,82	0,86
6	17	6,82	-0,544	1035,00	0,49	3,40	4,59	8,85	0,86
7	15	6,7	-0,545	1035,00	0,19	3,44	4,47	9,80	1,89
8	18	6,59	-0,562	1030,00	0,53	3,25	4,26	8,37	0,86
9	17	6,88	-0,535	1033,40	0,18	3,33	4,31	8,49	0,85
10	18	6,8	-0,549	1034,00	0,58	3,28	4,38	8,51	0,85
11	18	6,86	-0,545	1035,00	0,16	3,41	4,52	8,83	0,90
12	18	6,66	-0,541	1035,00	0,09	3,38	4,57	8,86	0,91
13	17	6,7	-0,546	1034,70	0,36	3,49	4,57	8,93	0,87
14	17	6,75	-0,537	1034,40	0,36	3,46	4,44	8,77	0,87
15	15	6,77	-0,544	1035,30	0,19	3,44	4,54	8,88	0,90
16	17	6,45	-0,550	1035,00	0,28	3,43	4,49	8,83	0,91
17	14	6,82	-0,547	1035,20	0,30	3,36	4,46	8,69	0,87
18	18	6,64	-0,537	1034,20	0,15	3,23	4,44	8,52	0,85
19	15	6,71	-0,539	1035,20	0,42	3,23	4,69	8,78	0,86
20	16	6,73	-0,543	1035,20	0,18	3,40	4,58	8,87	0,89
21	15	6,79	-0,528	1034,60	0,50	3,30	4,41	8,58	0,87
22	17	6,78	-0,542	1033,00	0,12	3,60	4,35	8,78	0,83
23	18	6,71	-0,565	1036,20	0,38	3,60	4,46	8,98	0,92
24	17	6,74	-0,545	1034,20	0,17	3,35	4,27	8,48	0,86
25	17	6,71	-0,557	1035,80	0,36	3,50	4,46	8,88	0,92
26	16	6,79	-0,554	1033,80	0,19	3,59	4,47	8,93	0,87
27	18	6,8	-0,543	1034,00	0,25	3,59	5,52	8,98	0,00
28	17	6,74	-0,543	1034,00	0,34	3,61	4,47	8,93	0,85
29	16	6,86	-0,540	1032,20	0,38	3,51	4,26	8,61	0,84
30	16	6,66	-0,535	1033,00	0,19	3,50	4,35	8,68	0,83

Dens: densidade; SNG: sólidos não gordurosos

Fonte: Elaboração do autor

4.5 CONCLUSÕES

As análises demonstraram que a maioria das amostras de leite UHT estudadas estavam dentro dos parâmetros oficiais. Sendo os principais problemas observados relativos à qualidade, imprecisões e fraudes como o desnate.

As provas determinadas pela legislação não são suficientes para garantir a qualidade do leite UHT que está frequentemente sujeito a apresentar excesso de água, excesso de citrato, sedimentação e geleificação.

Apenas uma amostra atenderia todos os requisitos estudados. As amostras complementares evidenciaram problemas como água residual, a presença de sedimentação e geleificação, mostrando a fragilidade do controle de qualidade vigente do leite UHT.

A legislação do leite UHT deve ser complementada, de modo a estabelecer parâmetros confiáveis controle de qualidade que possibilitem a avaliação dos principais problemas encontrados neste produto.

4.6 REFERÊNCIAS

ARRUDA, P. M.; CRUZ, A. G.; ZOELLNER, S. S.; SILVA, R.; SOARES, M. M.; FERNADES, V. S.; GALVÃO, A. P. G. L. K. Características físico-químicas do leite pasteurizado tipo C e leite Ultra Alta Temperatura comercializados na cidade do Rio de Janeiro. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v.66, n.2, p.125-129, nov. 2007.

BELOTI, V.; MANTOVANI, F. D.; SILVA, M. R.; TAMANINI, R.; GARCIA, D. T.; SILVA, F. A. Alterações do ponto de congelamento do leite por adição do estabilizante citrato de sódio. **Anais do IV Congresso Brasileiro de Qualidade do Leite**, Florianópolis, Santa Catarina, 2010.

BERNARDI, C. M. M; GUERRA, C. R. S. B.; DOS SANTOS, F. D.; TORRES, A. P. C.; GARCIA, J. L.; CRUZ, J. C. A.; TEIXEIRA, M. V. S.; PEREIRA, R. S. Teste comparativo da qualidade do leite integral comercializado no município de Andradina. **Revista Ciências Agrárias e da Saúde**, Andradina, v.6, p.45-48, jan./dez. 2006.

BERSOT, L. S.; GALVÃO, J. A.; RAYMUNDO, N. K. L.; BARCELLOS, V. C.; PINTO, J. P. A. N.; MAZIERO, M. T. Avaliação microbiológica e físico-química dos leite UHT produzidos no Estado do Paraná, Brasil. **Sêmina: Ciências Agrárias**, Londrina, v.31, n.3, p.645-652, , julho/set. 2010.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria 370 de 04/09/1997. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite UAT. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 1997.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 68, de 12/12/2006. Estabelece métodos analíticos físico-químicos oficiais para leite e produtos lácteos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 2006.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Decreto n. 30.691, de 29 de março de 1952, alterado pelos Decretos nºs.1255, de 25 de junho de 1962, n. 1236, de 2 de setembro de 1994, n.1812, de 8 de fevereiro de 1996, n.2.244, de 4 de junho de 1997, nº 6.385, de 27 de Fevereiro de 2008, nº 7.216, de 17 de Junho 2010. Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária dos Produtos de Origem Animal-RIISPOA. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 2010.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 62, de 29/12/2011. Aprovar o Regulamento Técnico de Produção, Identidade e Qualidade do Leite Tipo A, o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite Cru Refrigerado, o

Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite Pasteurizado e o Regulamento Técnico da Coleta de Leite Cru Refrigerado e seu Transporte a Granel, **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 2011.

BRITO, M. A.; GONZÁLVEZ, F. D.; RIBEIRO, L. A. et al. Composição do sangue e do leite em ovinos leiteiros do sul do Brasil: variações na gestação e na lactação. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.36, n.3, p.942-948, jun. 2006.

CANESIN, R. C.; CANAES, T. S.; SOUZA, C. C. Gordura do leite e ácidos graxos linólicos conjugados -CLA. In: OLIVEIRA; M. D. D.; SOUZA, C. C. **Bovinocultura leiteira: fisiologia, nutrição e alimentação de vacas leiteiras**. Jaboticabal: Funep, 2009, p. 15-53.

DOMARESKI, J. L.; BANDIERA, N. S.; SATO, R. T.; ARAGON-ALEGRO, L. C.; SANTANA, E. H. W. Avaliação físico-química e microbiológica do leite UHT comercializado em três países do Mercosul (Brasil, Argentina e Paraguai). **Archivos Latinoamericanos de Nutricion**, Caracas, v.60, n.3, p.261-269, julho/set. 2010.

GUERRA, J. **O boom do leite UHT no Brasil**. Disponível em: <<http://www.scotconsultoria.com.br/noticias/artigos/24736/o-%3Ci%3Eboom%3Ci%3E-do-leite-uht-no-brasil.htm>> Acesso em 27 set. 2012.

MARTINS, A. M. C. V.; ROSSI JUNIOR, O. D.; SALOTTI, B. M.; BÜRGER, K. P.; CORTEZ, A. L. L.; CARDOZO, M. V. Efeito do processamento UAT (Ultra Alta Temperatura) sobre as características físico-químicas do leite. **Ciência Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.28, n.2, p.295-298, abr.-jun. 2008.

ORDÓÑEZ, J.A. et al. **Tecnologia de Alimentos: Alimentos de origem animal**. Porto Alegre: Artmed, 2005. v.2.

PRATA, L. F. **Fundamentos de ciência do leite**. São Paulo: FUNEP, UNESP, 2001. 287p.

REZER, A. P. S. **Avaliação da qualidade microbiológica e Físico-química do leite UHT integral comercializado no Rio Grande do Sul**. 2010. 72 f. Dissertação (Mestrado Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2010.

ROBIM, M. S. **Avaliação de diferentes marcas de leite UAT comercializadas no Estado do Rio de Janeiro e o efeito da fraude por aguagem na fabricação, composição e análise sensorial de iogurte**. 2011. 98 f. Dissertação (Mestrado em Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal) - Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2011.

SANTOS, M. V.; FONSECA, L. F. L. **Estratégias de controle de mastite e melhoria da qualidade do leite**. Barueri, SP: Manole; Pirassununga, SP, 2007.314p.

SILVA, P. H. F. **Leite UHT: fatores determinantes para sedimentação e gelificação**. Do autor: Juiz de Fora, 2004.128p.

SOUZA, L. G.; DOS SANTOS, G. T.; SAKAGUTI, E. S.; DAMASCENO, J. C.; MATSUSHITA, M.; HORST, J. A.; VILLALBA, R. G. Avaliação da composição do leite UHT proveniente de dois laticínios das regiões Norte e Noroeste do Estado do Paraná. **Acta Scientiarum: Animal Sciences**, Maringá, v.26, n.2, p.259-264, abril/jul. 2004.

SOUZA, A. H. P.; KATSUDA, M. K.; DIAS, L. F. Avaliação físico-química do leite UHT e pasteurizado comercializado na cidade de Londrina – PR. **Revista Brasileira de Pesquisa em Alimentos**, Campo Mourão, v.1, n.1, p.39-42, jan./jun., 2010.

TAMANINI, R; BELOTI, V.; RIBEIRO JUNIOR, J. C.; SILVA, L. C. C.; YAMADA, A. K.; SILVA, F. A. Contribuição ao estudo da qualidade microbiológica e físico-química do leite UHT. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v.66, n.382, p.27-33, set/out. 2011.

TRONCO, V.M. **Manual para inspeção da qualidade do leite**. 3ed. Santa Maria: UFSM, 2008. 206p.

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

WALSTRA, P. **Dairy technology**: principles of milk properties and processes. New York: Marcel Dekker, 1999. 727p.

5 ARTIGO 3

NEUTRALIZANTES DA ACIDEZ, CONSERVANTES, ANTIBIÓTICOS E RECONSTITUINTES DA DENSIDADE EM LEITES UHT PRODUZIDOS NO SUL DO BRASIL.

5.1 RESUMO: O regulamento de identidade e qualidade do leite UHT (BRASIL, 1997) determina poucos parâmetros para o controle de qualidade para o controle de qualidade do produto acabado. Varias análises são determinadas para a matéria prima (BRASIL, 2011). O presente trabalho teve como objetivo a pesquisa de neutralizantes da acidez, conservantes (água oxigenada, formaldeído, cloro e hipoclorito), antibióticos e reconstituintes da densidade (álcool etílico, amido, cloretos e sacarose) em leites tratados por ultra alta temperatura (UHT) produzidos na região sul do Brasil. Das 60 amostras analisadas, 12 (20,0%) apresentaram pelo menos uma das substâncias pesquisadas. A presença de neutralizantes da acidez foi encontrada em 1 (1,7%) amostra. Em nenhuma amostra foi encontrada a presença dos conservantes ou resíduos de antibióticos. Reconstituintes da densidade foram encontrados em 12 (20,0%) amostras, sendo 3 (5,0%) amostras positivas para álcool etílico, 2 (3,3%) para cloretos, 7 (11,7%) para sacarose e nenhuma para amido. As alterações encontradas indicam a ocorrência de adulterações importantes no leite UHT, e não detectáveis pelas provas determinadas pela legislação havendo a necessidade um monitoramento constante pelos Órgãos fiscalizadores visando oferecer aos consumidores um produto seguro.

Palavras chave: Fraude. Leite UAT. Leite Uperizado, Inibidores Crescimento. Qualidade. Adulterações.

5.2 INTRODUÇÃO

A qualidade dos alimentos tem se tornado uma preocupação mundial, aumentando assim a importância da identificação de produtos que sofreram fraude na sua origem e ou ao longo de seu processamento. Estas operações procuram ocultar ou mascarar as más condições estruturais e sanitárias das matérias primas e ou produtos finais e atribuir-lhes requisitos que não possuem. Segundo Egito et al. (2006), com o leite não é diferente, pois o mesmo apresenta vários componentes que podem ser alterados no caso de fraude, Tronco (2008), aponta como principais objetivos de fraudes no leite, aumentar o volume e controlar as alterações provocadas pelos micro-organismos

De acordo com o capítulo IV do Código de Defesa do Consumidor, artigo 18, são impróprios ao uso e consumo produtos deteriorados, alterados, adulterados, avariados, falsificados, corrompidos, fraudados, nocivos à vida ou à saúde, perigosos ou, ainda, aqueles em desacordo com as normas regulamentares de fabricação, distribuição ou apresentação. O

RIISPOA (2010), também é incisivo no tocante a fraude, considerando impróprio para consumo humano o leite beneficiado fraudado.

Dados da Associação Brasileira de Indústrias de Longa Vida (ABLV) informam que a produção nacional de leite UHT foi de 5,81 bilhões de litros em 2011, representando 78% do total do leite fluido consumido no Brasil (GUERRA, 2012). Sua alta demanda e a necessidade da indústria em reduzir suas perdas com matéria-prima de baixa qualidade, tem aumentado a exigência para que o leite já na sua origem tenha elevado padrão de qualidade. Para tanto, se faz necessário utilizar todos os meios disponíveis para detectar a possível presença de substâncias indesejáveis nos alimentos, em todas as suas fases de processamento, tanto por razões econômicas como por razões de saúde pública.

O presente trabalho teve com objetivo avaliar possíveis adulterações através da pesquisa de substâncias neutralizantes da acidez, conservantes, antibióticos e reconstituintes da densidade em leites UHT produzidos na região sul do Brasil.

5.3 MATERIAL E MÉTODOS

Foram avaliadas 60 amostras de leite UHT pertencentes a 15 marcas, comercializadas em supermercados da cidade de Londrina/PR. Destas 6 foram produzidas no Paraná, 6 no Rio Grande do Sul e 3 em Santa Catarina. Em novembro de 2011, foram colhidas 30 amostras (15 integrais e 15 desnatados), e entre maio e julho de 2012, foram colhidas as outras 30 amostras (15 integrais e 15 desnatados).

As amostras foram encaminhadas ao Laboratório de Inspeção de Produtos de Origem Animal, da Universidade Estadual de Londrina, homogeneizadas e submetidas à pesquisa de neutralizantes – método B: fenolftaleína, conservantes (água oxigenada, formaldeído, cloro e hipoclorito), antibióticos e reconstituintes (álcool etílico, amido, cloretos e sacarose).

As análises foram realizadas segundo a Instrução Normativa nº 68 (BRASIL, 2006), que Oficializa os Métodos Analíticos Oficiais Físico-Químicos, para Controle de Leite e Produtos Lácteos, exceto a pesquisa de sacarose que foi realizada de acordo com o LANARA (BRASIL, 1981). A pesquisa de antibióticos foi realizada utilizando-se o kit analítico Charm CowSide II Test VialsTM, seguindo as instruções do fabricante (Charm Sciences Inc., USA.).

5.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Das 60 amostras de leite UHT analisadas, 12 (20,0%) apresentaram pelo menos uma das substâncias pesquisadas adicionadas. Os resultados das análises realizadas estão descritos na tabela 1.

Tabela 1 –Frequência da presença de neutralizantes da acidez, conservantes, antibióticos e reconstituintes da densidade em 60 amostras de leite UHT comercializadas em Londrina-PR em novembro de 2011 e julho de 2012.

	1° coleta Novembro 2011	2° coleta Maio a julho 2012	Total
Neutralizantes	0 (0,0%)	1 (3,3%)	1 (1,7%)
Água oxigenada	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)
Formaldeído	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)
Cloro	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)
Hipoclorito	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)
Antibióticos	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)
Álcool	3 (10,0%)	0 (0,0%)	3 (5,0)
Amido	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)
Cloretos	2 (6,7%)	0 (0,0%)	2 (3,3%)
Sacarose	1 (3,3%)	6 (20,0%)	7 (11,7%)

Fonte: Elaboração do autor

A presença de neutralizantes da acidez foi encontrada em 1 (1,7%) amostra. Santos; Santos (2010) encontraram 1 (6,3%) amostra com presença de neutralizantes entre 16 amostras da cidade de Cuiabá – MT. Robim (2011) pesquisando 58 amostras de leite UHT colhidas no estado do Rio de Janeiro não detectaram leites com esta adulteração. O uso de neutralizantes no leite não é permitido (BRASIL, 2011), sendo adicionados com a finalidade de mascarar a acidez promovida pelos micro-organismos. Substâncias alcalinas como o bicarbonato de sódio, hidróxido de sódio e o carbonato de cálcio, são as mais frequentemente utilizadas neste processo (TRONCO, 2008).

Em nenhuma amostra foi encontrada a presença dos conservantes água oxigenada, formaldeído, cloro e hipoclorito. Santos; Santos (2010) também não encontraram a presença destas substâncias. Robim (2011) não detectaram a presença de cloro e hipoclorito nas amostras analisadas. Já Souza et al. (2011) pesquisando a presença de conservantes em 100 amostras de leites UHT produzidos em 6 estados brasileiros (Paraná, Rio grande do sul, São Paulo, Minas Gerais, Rio de Janeiro e Goiás) detectaram a presença de formaldeído em 44 (44,0%) amostras, seguido de peróxido de hidrogênio em 30 (30,0%) e cloro em 12 (12,0%) amostras. A adição de conservantes é proibida (BRASIL, 2011), e é realizada com a

finalidade de mascarar a qualidade higiênico sanitária do leite, eliminando micro-organismos, e aumentando a vida útil do produto (FAGUNDES, 1997, TRONCO, 2008).

Resíduos de antibióticos não foram detectados em nenhuma das amostras. Robim (2011) e Becker et al (2010) ao analisarem a presença de antibióticos em leite UHT encontram 100% das amostras negativas. Fonseca et al (2009) encontram em 4 (4,0%) das 100 amostras a presença de antibióticos. Costa; Lobato (2009), pesquisando 175 amostras de leite UHT, detectaram 2 (1,1%) amostras com resíduos de antibióticos. Ferreira et al. (2011) verificaram a presença de antibióticos em 12 (5,4%) de um total de 224 amostras de leite UHT produzidas no estado de Goiás. A utilização indevida de antibióticos, sem respeitar as indicações do receituário, período de carência e o manejo correto dos animais em tratamento, pode ocasionar a presença de resíduos no leite (COSTA, 2002; SANTOS; FONSECA, 2007). Sua presença, mesmo sendo em níveis baixos, pode causar problemas de saúde aos consumidores. Entre os riscos que podem trazer a saúde humana estão seleção de cepas bacterianas resistentes, desequilíbrio da microbiota intestinal, efeitos teratogênicos, reações de hipersensibilidade (FAGUNDES, 1997; SANTOS; FONSECA, 2007; STOLKER; BRINKMAN, 2005).

Em relação a pesquisa de reconstituintes da densidade 12 (20%) amostras apresentaram resultados positivos, sendo 3 (5,0%) amostras apresentaram álcool etílico, 2 (3,3%) foram positivas para cloretos, e para 7 (11,7%) sacarose. Nenhuma amostra foi detectada a presença de amido. Robim (2011) não detectou amostras contendo amido e cloretos. Souza et al. (2011) também não verificaram a presença de amido e Tamanini et al. (2011) não encontraram a presença de álcool etílico nas 30 amostras de leites UHT analisadas. Santos; Santos (2010) encontraram em todas as amostras a presença de substâncias reconstituintes de densidade, das quais 4 (25%) delas continham sacarose e outras 12 (75%) continham cloretos. Os reconstituintes são utilizados com a finalidade de recompor a densidade do leite cujo volume foi aumentado fraudulentamente pela adição de água.

5.5 CONCLUSÕES

O leite UHT pesquisado apresentou adição de substâncias fraudulentas em 20% das amostras. As alterações encontradas indicam a ocorrência de adulterações importantes no leite UHT, e não detectáveis pelas provas determinadas pela legislação havendo a necessidade um monitoramento constante pelos Órgãos fiscalizadores visando oferecer aos consumidores um produto seguro.

5.6 REFERÊNCIAS

- BECKER, T. A.; NEGRELO, I. F.; RACOULTE, F. DRUNKLER, D. A. Avaliação da qualidade sanitária de leite integral informal, pasteurizado, UHT e em pó comercializados na cidade de Medianeira e Serranópolis do Iguaçu – Paraná. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v.31, n.3, p.707-716, jul./set. 2010.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **LANARA: Métodos analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes: II – Métodos físicos e químicos**. Brasília: Ministério da Agricultura, 1981.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria 370 de 04/09/1997. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite UAT. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 1997.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 68, de 12/12/2006. Estabelece métodos analíticos físico-químicos oficiais para leite e produtos lácteos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 2006.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Decreto n. 30.691, de 29 de março de 1952, alterado pelos Decretos nºs.1255, de 25 de junho de 1962, n. 1236, de 2 de setembro de 1994, n.1812, de 8 de fevereiro de 1996, n.2.244, de 4 de junho de 1997, nº 6.385, de 27 de Fevereiro de 2008, nº 7.216, de 17 de Junho 2010. Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária dos Produtos de Origem Animal-RIISPOA. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 2010.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 62, de 29/12/2011. Aprovar o Regulamento Técnico de Produção, Identidade e Qualidade do Leite Tipo A, o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite Cru Refrigerado, o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite Pasteurizado e o Regulamento Técnico da Coleta de Leite Cru Refrigerado e seu Transporte a Granel, **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 2011.
- COSTA, E. O. Uso de antimicrobianos na mastite. In: SPINOSA, H. S.; GÓRNIK, S. L.; BERNARDI, M. M. **Farmacologia aplicada à medicina veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002, p. 442-455.
- COSTA, A. da S.; LOBATO, V. Avaliação da presença de resíduos de antimicrobianos em leite e bebida láctea UHT por teste de inibição microbiana comercial. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v.64, n.367/368, p.72-76, mar./jun. 2009.
- EGITO, A. S.; ROSINHA, G. M. S.; LAGUNA, L. E.; MICLO, L.; GIRARDET, J. M.; GAILLARD, J. L. Método eletroforético rápido para detecção da adulteração do leite caprino com leite bovino. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v. 58, n.5, p. 932-939, 2006.
- FAGUNDES, C. M. **Inibidores e controle da qualidade do leite**. Pelotas: Editora Universitária/UFPEL, 1997. 126p.
- FERREIRA, P.; NICOLAU, E.S.; SANTOS, T.; SOARES, R. S. Qualidade do Leite Produzido no Estado de Goiás: Ocorrência de Resíduos de Antimicrobianos. In Reunião anual da SBPC, 63º, 2011, Goiânia. **Anais eletrônico...** Disponível em

<<http://www.sbpcnet.org.br/livro/63ra/conpeex/pibic/trabalhos/Priscylla%20Paulina%20Ferreira-PIBIC.pdf>> Acesso em 20 de set. 2012.

FONSECA, G. P.; CRUZ, A. G.; FARIA, J. A. F.; SILVA I, R.; MOURA, M. R. L.; CARVALHO, L. M. J. Antibiotic residues in Brazilian UHT milk: a screening study. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.29, n.2, p.451-453, abr./jun. 2009.

GUERRA, J. **O boom do leite UHT no Brasil**. Disponível em:

<<http://www.scotconsultoria.com.br/noticias/artigos/24736/o-%3Ci%3Eboom%3Ci%3E-do-leite-uht-no-brasil.htm>> Acesso em 27 set. 2012.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Decreto n. 30.691, de 29 de março de 1952, alterado pelos Decretos n.ºs.1255, de 25 de junho de 1962, n. 1236, de 2 de setembro de 1994, n.1812, de 8 de fevereiro de 1996, n.2.244, de 4 de junho de 1997, n.º 6.385, de 27 de Fevereiro de 2008, n.º 7.216, de 17 de Junho 2010. Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária dos Produtos de Origem Animal-RIISPOA. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 2010.

ROBIM, M. S. **Avaliação de diferentes marcas de leite UAT comercializadas no Estado do Rio de Janeiro e o efeito da fraude por aguagem na fabricação, composição e análise sensorial de iogurte**. 2011. 98 f. Dissertação (Mestrado em Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal) - Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2011.

SANTOS, M. V.; FONSECA, L. F. L. **Estratégias de controle de mastite e melhoria da qualidade do leite**. Barueri, SP: Manole; Pirassununga, SP, 2007.314p.

SANTOS, P. F.; SANTOS, C. B. G. dos. Detecção de conservantes, neutralizantes e reconstituintes de densidade em leites UHT comercializados em Cuiabá-MT. In Reunião anual da SBPC, 62º, 2010, Goiânia. **Anais eletrônico...** Disponível em <<http://www.sbpcnet.org.br/livro/62ra/resumos/resumos/3637.htm>> Acesso em 20 de set. 2012.

SOUZA, S. S.; CRUZ, A. G.; WALTER, E. H. M.; FARIA, J. A. F.; CELEGHINI, R. M. S.; FERREIRA, M. M. C.; GRANATO, D.; DE S. SANT'ANA, A. Monitoring the authenticity of Brazilian UHT milk: A chemometric approach. **Food Chemistry**, London, v.124, n.2, p.692-695, jan. 2011.

STOLKER, A.A.M.; BRINKMAN, U.A.Th. Analytical strategies for residue analysis of veterinary drugs and growthpromoting agents in food-producing animals—a review. **Journal Chromatography A**, Amsterdam, v.1067, n.1-2, p.15–53, março 2005.

TAMANINI, R.; BELOTI, V.; RIBEIRO JUNIOR, J. C.; SILVA, L. C. C.; YAMADA, A. K.; SILVA, F. A. Contribuição ao estudo da qualidade microbiológica e físico-química do leite UHT. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v.66, n.382, p.27-33, set/out. 2011.

TRONCO, V.M. **Manual para inspeção da qualidade do leite**. 3ed. Santa Maria: UFSM, 2008. 206p.

6 ARTIGO 4

UTILIZAÇÃO DE ESPECTROFOTOMETRIA DE MASSA (LC-MS/MS) PARA PESQUISA DA ADIÇÃO DE SORO DE QUEIJO EM LEITES UHT PRODUZIDOS NA REGIÃO SUL DO BRASIL

6.1 RESUMO: A adulteração de leite pela adição de soro, remanescente da produção de queijo, tem como finalidade aumentar o volume final e é uma fraude de difícil detecção, uma vez que o soro têm praticamente os mesmos componentes. A detecção do fragmento, por HPLC e confirmação por espectrometria de massas (LC-MS/MS) é considerada a prova definitiva para determinação da fraude por adição de soro. A necessidade desta extrema precisão é devida a necessidade de diferenciar este fragmento e outro desenvolvido por proteólise microbiana. O presente trabalho teve como objetivo estudar a fraude por adição de soro de queijo em leites tratados por ultra alta temperatura (UHT) produzidos na região sul do Brasil. Foram avaliadas 30 amostras de leites UHT comercializadas em supermercados da cidade de Londrina/PR. A determinação do caseinomacropéptido (CMP) foi realizada por HPLC e confirmação por espectrometria de massas (LC-MS/MS). Na quantificação de CMP por HPLC apenas 2 (6,7%) amostras foram consideradas negativas pois apresentaram concentrações menores que 25 mg/mL^{-1} . Os resultados do LC-MS/MS não confirmaram a presença de CMP. Desta forma todas amostras foram consideradas negativas para fraude por adição de soro de queijo, mas demonstraram que houve extensa proteólise no leite, de origem microbiana, indicada pela presença do fragmento de pseudo-CMP. A detecção do CMP por esta técnica é difícil e cara, e poderia ser simplificada, eliminando-se a fase confirmatória por espectrometria de massas, se houvesse padrão para a quantidade de micro-organismos de proteolíticos e sua pesquisa fosse realizada na matéria prima.

Palavras chave: Leite UAT. Leite uperizado. CMP. Soro

6.2 INTRODUÇÃO

O caseinomacropéptido (CMP) é um péptido específico do soro de queijo, sendo o fragmento terminal da k-caseína. Este péptido é liberado quando o leite é tratado com quimosina durante o processo de produção dos queijos. A k-caseína é hidrolisada em dois péptidos. O menor deles, o CMP, tem peso molecular aproximado de 7-8 Kd. Sendo um componente específico do soro de queijo, a determinação de CMP em leite pode ser utilizada como um marcador para a adulteração deste produto por adição de soro (BRASIL,2010).

No entanto, proteases termoestáveis de origem bacteriana, principalmente as produzidas por micro-organismos psicrotóxicos, agem sobre a caseína de forma semelhante à quimosina, liberando o CMP (RECIO et al. 2000; DATTA; DEETH, 2001). Estes fragmentos são denominados genericamente de pseudo-CMP (BRASIL, 2010). Tem sido relatado que o pseudo-CMP pode interferir na detecção da fraude, levando a resultados falso-positivos para a

fraude por adição de soro de queijo ao leite (MARTÍNEZ-PENAGOS et al. 1993; FUKUDA, 2003; AMORIM, 2007; OLIVEIRA et al. 2009; FRIEDRICH et al, 2010) .

A partir desta evidência a técnica de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) com separação em coluna de filtração em gel e detecção em ultravioleta, que era preconizada anteriormente pelo Ministério da Agricultura (BRASIL, 2006), passou a ser considerada ineficiente para determinação da fraude por soro, por não diferenciar o CMP proveniente do soro de queijo do pseudo-CMP. Atualmente a metodologia oficial (BRASIL, 2010) determina a triagem por HPLC e a confirmação por espectrometria de massas (LC-MS/MS) que permite a diferenciação destes fragmentos.

O presente trabalho teve como objetivo pesquisar a adição de soro de queijo em leites UHT produzidos na região sul do Brasil.

6.3 MATERIAL E MÉTODOS

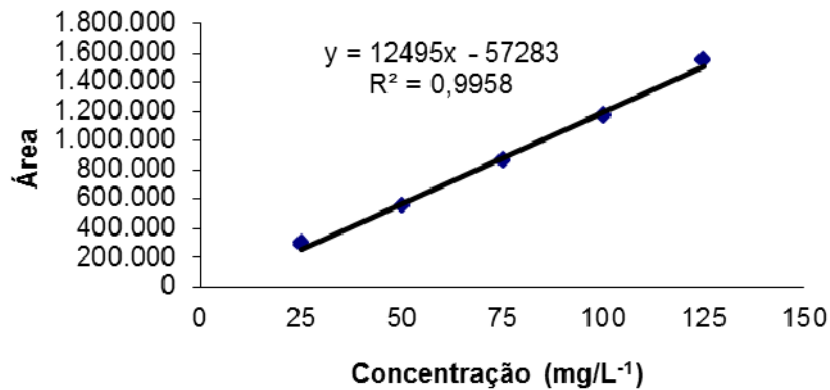
Foram avaliadas 30 amostras de leites UHT pertencentes a 15 marcas, comercializadas em supermercados da cidade de Londrina/PR. Destas marcas 6 foram produzidas no Paraná, 6 produzidas no Rio Grande do Sul e 3 em Santa Catarina. Essas amostras foram colhidas em novembro de 2011, e apresentaram média de 33 dias após fabricação. Foram congeladas e encaminhadas ao Laboratório Nacional Agropecuário (LANAGRO) do Rio Grande do Sul para a determinação de CMP (caseinomacropéptido) por HPLC e confirmação por espectrometria de massas.

As amostras foram descongeladas em banho-maria por agitação a $30^{\circ}\pm 2$ e preparadas para análise em sistema de cromatografia líquida de alta performance conforme a Instrução Normativa 68 (BRASIL, 2006).

A análise por HPLC foi realizada em sistema Shimadzu equipado com bomba LC-20AT, amostrador automático SIL-HYC, com detector de arranjo de iodos SPD-M20A e software Shimadzu LC. A separação foi realizada em coluna de fluxo reverso com gel filtração hidrofílica Zorbax-GF-250 (250 mm x 9,4 mm, diâmetro de poro 150Å, 4 a 4,5 mm diâmetro da partícula) produzida pela Agilent (Palo Alto, CA, EUA). A fase móvel consistiu de tampão fosfato pH 6,0 em gradiente isocrático com taxa de fluxo de 1 mL/min. Foram injetada 50 µl da amostra preparada. Foi utilizado o comprimento de onda de 205 nm. A corrida cromatográfica transcorreu por 20 minutos e o tempo de retenção do CMP foi em torno de 10 minutos.

A quantificação do teor de CMP foi feita com curva de calibração externa, injetando-se padrão de CMP de 100 mg (DAVISCO FOODS INTERNATIONAL, EUA), diluído em leite sabidamente ausente de CMP ou pseudo-CMP nas concentrações de 0; 25; 50; 75 e 100 e 125 mg/L⁻¹ (Gráfico 1). A equação e o coeficiente de determinação, foram determinados por regressão linear.

Gráfico 1 – Curva matriz padrão para quantificação de CMP.



Fonte: Elaboração do autor

As amostras que no teste de triagem por HPLC apresentaram concentrações menores que 25 mg/L⁻¹ foram consideradas negativas e as que apresentaram concentrações maiores que 25 mg/L⁻¹ foram submetidas a confirmação do resultado por LC-MS/MS segundo a Instrução Normativa 7 (BRASIL, 2010).

A análise por LC-MS/MS foi realizada em um sistema Agilent 110 series, acoplado ao espectrômetro de massas API 5000 (Applied Biosystems), fonte de ionização Electrospray em modo positivo e software Analyst Applied Biosystems. A separação foi realizada em coluna PLRP-S (150 mm x 4,6 mm, diâmetro de poro 300Å). A fase móvel A consistiu de água deionizada com 0,02% ácido trifluoracético e 0,1% ácido acético. A fase móvel B constituída de acetonitrila com 0,02% ácido trifluoracético em gradiente linear com taxa de fluxo de 0,5 mL/min. Inicialmente foi utilizada a fase móvel contendo 90% da fase A (v/v) e 10% fase B (v/v) por 2 minutos. Após foi iniciado um gradiente de 10% a 50% de B, por 6 minutos. A seguir foi mantido 50% da fase B por 1 minuto. Após utilizou-se o gradiente de 50% a 10% da fase B por 14 minutos e finalmente foi realizado o reequilíbrio da coluna utilizando 90% da fase A e 10% fase B por 3 minutos. Foram injetados 15 µl da amostra preparada. A corrida cromatográfica transcorreu por 26 minutos.

A confirmação da identidade do peptídeo na amostra suspeita foi realizada pela identificação dos fragmentos terminais da k-caseína original, de modo que foi possível

determinar a massa molecular de cada fragmento. Existem duas variantes genéticas do CMP, A e B, e as estruturas primárias bem como a do pseudo-CMP estão descritas no quadro 1.

Quadro 1 – Estrutura primária de CMP A, CMP B e pseudo CMP

CMP A: MAIPPKKNQDKTEIPTINTIASGEPTSTPTTEAVESTVA- TLEDSPEVIESPPEINTVQVTSTAV
CMP B: MAIPPKKNQDKTEIPTINTIASGEPTSTPTIEAVESTVA- TLEASPEVIESPPEINTVQVTSTAV
Pseudo-CMP AIPPKKNQDKTEIPTINTIASGEPTSTPTTEAVESTVA- TLEDSPEVIESPPEINTVQVTSTAV

Fonte: Instrução Normativa 7 (BRASIL, 2010).

6.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

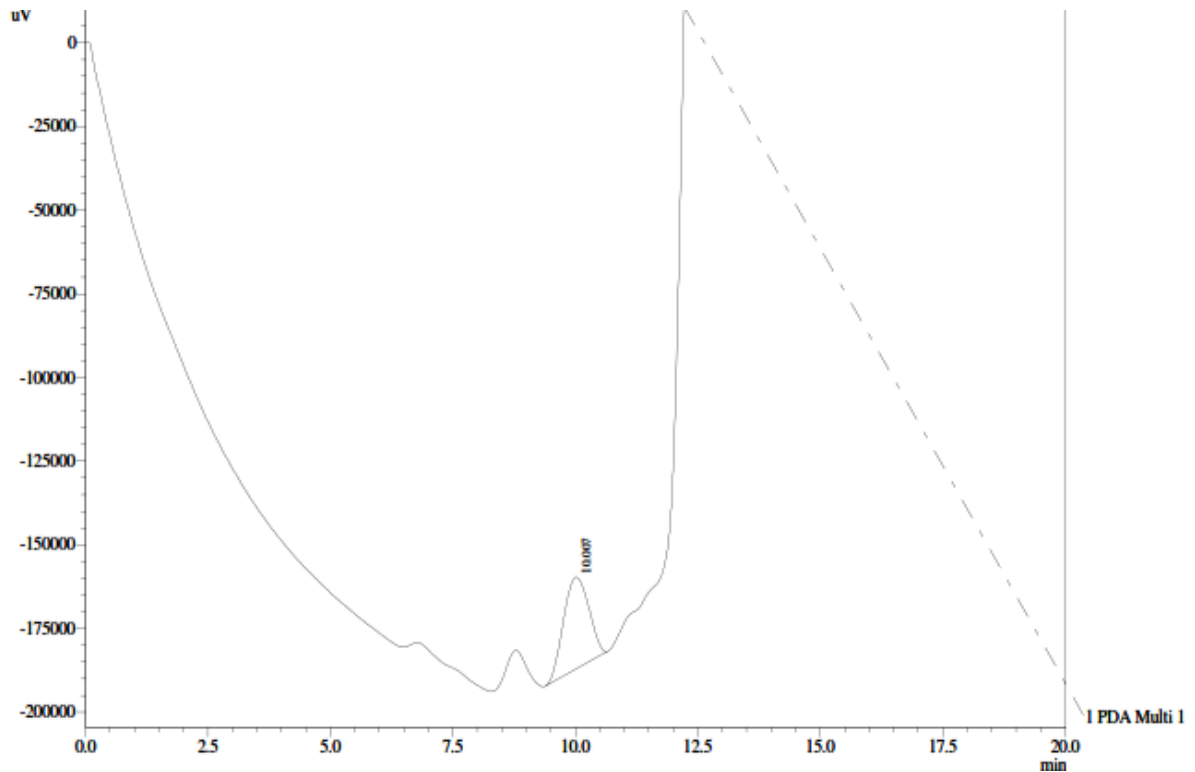
Os resultados da quantificação de CMP por HPLC variaram de 11,57 mg/L⁻¹ a 178,39 mg/L⁻¹ e as faixas de concentração estão demonstradas na tabela 1. A concentração média de CMP foi de 71,07 mg/L⁻¹. Apenas 2 (6,7%) amostras foram consideradas negativas pois apresentaram concentrações menores que 25 mg/L⁻¹ e 28 (93,3%) amostras foram submetidas à confirmação do resultado por LC-MS/MS. O perfil do pico de retenção do CMP está demonstrado na figura 1.

Tabela 1 – Resultados da concentração de CMP em 30 amostras de leite UHT comercializadas em Londrina-PR em novembro de 2011.

Faixa da concentração de CMP em mg/L ⁻¹	n	%
<25	2	6,7
25 F 50	5	16,6
50 F 75	12	40
75 F 100	6	20
100 F 125	2	6,7
125 F 150	1	3,3
≥150	2	6,7
Total	30	100

Fonte: Elaboração do autor

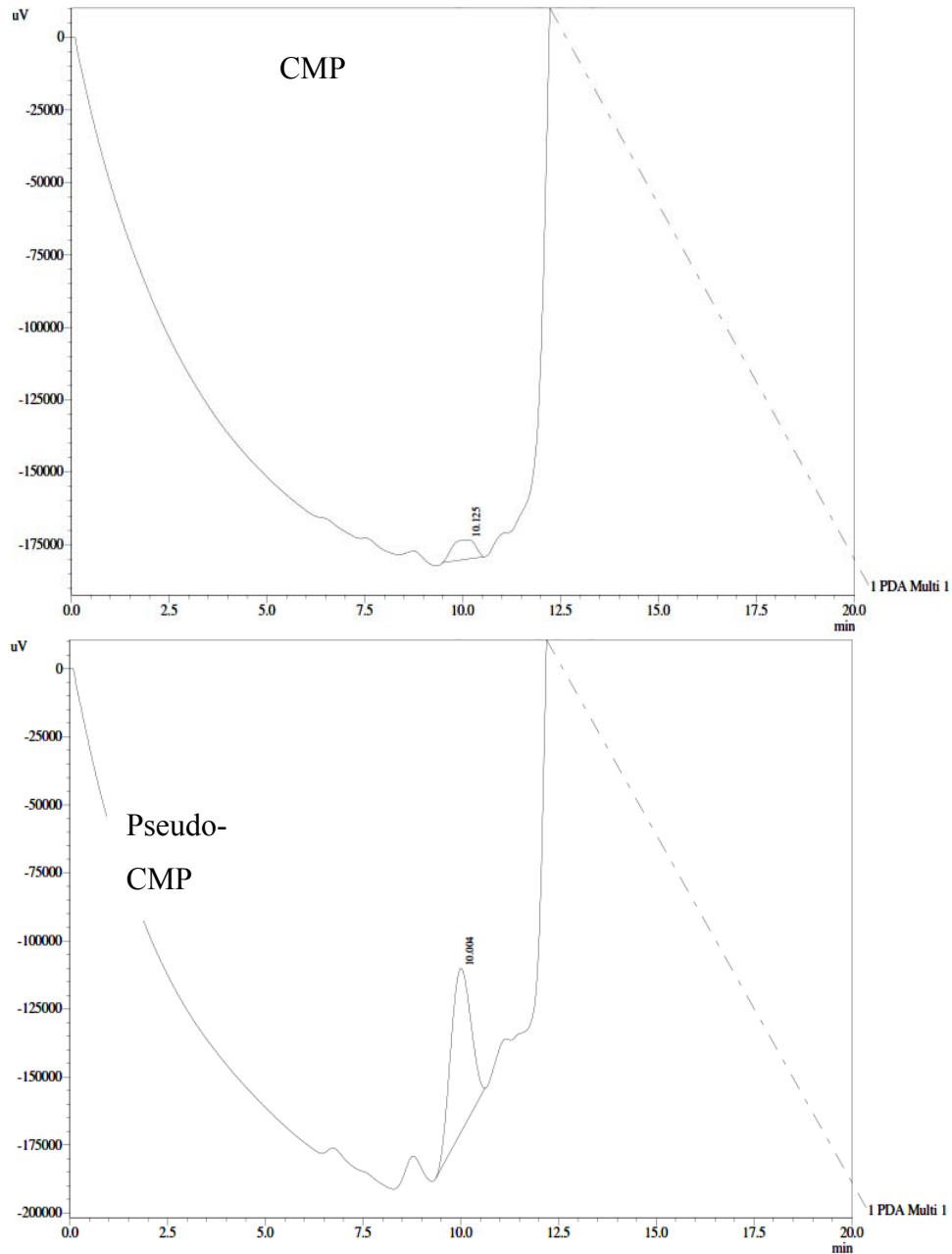
Figura 1 –Perfil cromatográfico por HPLC do CMP utilizando fase móvel tampão fosfato pH 6,0 com detecção a 205 nm.



Fonte: Elaboração do autor

A análise por LC-MS/MS não confirmou em nenhuma amostra a identificação dos fragmentos terminais da k-caseína compatível com a presença de CMP, desta forma todas foram consideradas negativas. O perfil do pico de retenção do CMP e do Pseudo-CMP estão demonstrados na figura 2.

Figura 2 –Perfil cromatográfico do CMP (padrão) e do Pseudo-CMP (amostra) análise por LC-MS/MS.



Fonte: Elaboração do autor

Muitos micro-organismos produzem proteases estáveis ao calor capazes de resistir aos tratamentos térmicos comerciais ainda que as bactérias produtoras dessas enzimas sejam destruídas. Mesmo em baixa concentração, as proteases são capazes de produzir e proteólise continuamente em leite e seus derivados. (FUKUDA, 2003). As proteases agindo sobre a caseína de forma semelhante à quimosina, e liberando o pseudo-CMP (RECIO et al. 2000; DATTA; DEETH, 2001).

A produção de proteases é mais frequente entre os micro-organismos considerados psicotróficos, que são os que têm capacidade de se desenvolver em temperatura de refrigeração (WALSTRA et al. 1999; BOOR; MURPHY, 2002). Por este motivo, os problemas relacionados à proteólise se intensificam a partir da obrigatoriedade do resfriamento do leite em 2005 (BRASIL, 2002)

Friedrich et al. (2010) mostraram aumento progressivo do CMP ao longo da vida útil do leite UHT. No dia em que foi processado, o leite apresentava um índice de CMP de $15,15 \text{ mg/L}^{-1}$, após o quarto dia, a concentração de CMP era de aproximadamente 45 mg/L^{-1} , já no dia 49 as concentrações chegaram a 182 mg/L^{-1} , demonstrando a intensificação de proteólise no leite durante o tempo de vida de prateleira.

Amorim (2007) observou uma correlação positiva entre o tempo de estocagem do leite e o teor de CMP, e atribuiu este aumento à ação de enzimas das produzidas por bactérias psicotróficas presentes no leite cru e à presença de proteases naturais do leite.

A alta quantidade de amostras suspeitas de adição de soro pela análise por HPLC e a não confirmação do resultado por LC-MS/MS, demonstraram a baixa qualidade da matéria prima utilizada para produção de leite UHT, evidenciando a ação de enzimas proteolíticas produtoras de pseudo-CMP durante o armazenamento.

A necessidade da diferenciação entre o CMP e o pseudo-CMP dificulta e encarece de sobremaneira a identificação de adulterações e, até 2012, no Brasil apenas o LANAGRO do Rio grande do Sul faz esta análise oficialmente. Alternativas poderiam ser consideradas para facilitar e intensificar a detecção de adulterações por adição de soro. Uma das medidas seria a introdução de um padrão para micro-organismos proteolíticos na legislação para leite cru refrigerado.

Outra necessidade legal é o estabelecimento de um limite máximo de bactérias para o leite antes do beneficiamento a exemplo de outros países com os Estados Unidos e a União Europeia. No Brasil há parâmetro microbiológico apenas para o leite ainda na propriedade leiteira, e como também não há limite de tempo entre a coleta e o beneficiamento, o leite pode demorar dias para ser beneficiado, permitindo a elevação exagerada do número de micro-organismos. Os Estados Unidos tem adotado como limite de aeróbios mesófilos para o leite antes do beneficiamento a qualidade de 300 mil UFC/mL.

6.5 CONCLUSÕES

As análises demonstraram que não houve adulteração por adição de soro de queijo nas amostras de leite UHT, mas indicou a baixa qualidade da matéria prima utilizada para a produção.

6.6 REFERÊNCIAS

AMORIM, H. E. **Influência do tempo de estocagem de leite cru Refrigerado sobre a presença de CMP (caseinomacropeptídeo)**. 2007.57 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Universidade Estadual de Goiás, Goiânia, 2007.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 68, de 12/12/2006. Estabelece métodos analíticos físico-químicos oficiais para leite e produtos lácteos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 2006.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 7, de 02/03/2010. Aprova o Método Oficial de Determinação de CMP (caseinomacropeptídeo) em leite, por HPLC, Eletroforese Capilar e Espectrometria de Massas em leite, em apresentações integrais, semidesnatadas e desnatadas, tratados por processos de UHT ou pasteurização. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 2010.

DATTA, N.; DEETH, H. C. Age gelation of UHT milk – A review. **Food and Bioproducts Processing**, v.79, n.4, p.197-210, dez. 2001.

FRIEDRICH, M. T.; FRANKEN, R. B. C.; AZEVEDO, M. S.; PRESTA, M. A.; AGNO, C. D. Avaliação da estabilidade do leite in natura e UHT quanto ao índice de CMP. **Revista de Ciências Exatas Aplicadas e Tecnológicas**, Passo Fundo, v.2, n.1, p.21-27, jul./dez. 2010.

FUKUDA, S. P. **Estudo da correlação entre o método da ninidrina ácida e a cromatografia líquida de alta eficiência para a dosagem de glicomacropeptídeo e caseinomacropeptídeo em leite**. 2003.149 f. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2003.

MARTÍNEZ-PENAGOS, A.; EZQUERRA PLASENCIA, R.; GARCIA ALVAREZ, J. A.; RODRIGUEZ LOPERENA, M. A. Influence of milk proteolysis on methods for detection of cheese whey. **Alimentaria**, v. 30, n. 243, p.47-50, jun. 1993.

OLIVEIRA, G. B.; GATTI, M. D. S.; VALADÃO, R. C.; MARTINS, J. F. P.; LUCHESE, R. L. Detecção da adição fraudulenta de soro de queijo Em leite: interferência da atividade de proteases bacterianas. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v.64, n.367/368, p.56-65, mar./jun. 2009.

RECIO, I.; GARCIA-RISCO, M. R.; RAMOS, M.; LOPEZ-FANDINO, R. Characterization of peptides produced by the action of psychrotrophic on κcasein. **Journal of Dairy Research**, v.67, n.4, p.625-630, nov. 2000.

7 CONCLUSÕES

Parte do leite UHT produzido no Sul do Brasil apresenta micro-organismos aeróbios mesófilos em excesso e frequente contaminação por micro-organismos deteriorantes, sobretudo proteolíticos.

A presença de micro-organismos deteriorantes encontrados se deve à provável recontaminação pós tratamento térmico.

A maioria das amostras de leite UHT estudadas estavam dentro dos parâmetros oficiais, mas apresentaram alterações às provas complementares realizadas. As provas oficiais detectaram como principais problemas o desnate e alterações no teor de sólidos. No entanto, as provas complementares mostraram vários outros problemas como água residual, presença de reconstituintes de densidade, excesso de estabilizante, a presença de sedimentação e geleificação, mostrando a fragilidade do controle de qualidade vigente para leite UHT.

As análises demonstraram que não houve adulteração por adição de soro de queijo nas amostras de leite UHT, mas indicou a baixa qualidade microbiológica da matéria prima utilizada para sua produção.

Portanto, os parâmetros e análises determinados pela legislação não são suficientes para garantir a segurança e a qualidade do leite UHT. Os resultados indicam a necessidade de se estabelecer novos parâmetros legais e introduzir a obrigatoriedade de análises complementares, de forma a auxiliar os órgãos fiscalizadores no controle de qualidade.

ANEXOS

ANEXO A

PROTOCOLO DE REALIZAÇÃO DAS ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS

PREPARO DAS AMOSTRAS

As amostras foram incubadas a 36°C, em sua embalagem original fechada, durante 7 dias para verificação da ocorrência de alterações das características do produto. Após a incubação, as amostras visualmente inalteradas foram agitadas por 25 vezes. Antes da abertura, as embalagens foram desinfetadas externamente com solução desinfetante (álcool iodado) e após com etanol 70%. Com auxílio de tesouras previamente esterilizados a embalagem foi aberta e a amostra foi diluída em solução salina peptonada 0,1% até diluição - 1.

ENUMERAÇÃO DE MICRO-ORGANISMOS MESÓFILOS AERÓBIOS VIÁVEIS CAPAZES DE CAUSAR ALTERAÇÃO EM PRODUTOS LÁCTEOS LÍQUIDOS UHT

A contagem total de micro-organismos aeróbios mesófilos foi realizada segundo a Instrução Normativa 62 (BRASIL, 2003), com plaqueamento em superfície com alça de drigalski no meio de cultura ágar cérebro-coração, e na duplicata, foi usado o ágar nutriente isento de extrato de levedura, seguido de incubação em temperatura de 30°C durante 72 horas.

Segundo esta instrução normativa as colônias de *B.sporothermodurans* não devem ser contabilizadas no cálculo de mesófilos aeróbios viáveis capazes de causar alteração leite UHT.

A exclusão desses micro-organismos foi baseada nas características morfotintoriais descritas por Busatta et al. (2005) para *B. sporothermodurans*. Microscopicamente, ao analisar uma colônia usando a técnica de coloração de Gram, as células de *B.sporothermodurans* apresentaram-se sob a forma de bacilos longos e filamentosos, produzindo coloração desigual.

Quando foram observados micro-organismos com morfologia e características diferentes de *B.sporothermodurans*, foi utilizado este número encontrado como a contagem total de microrganismos aeróbios mesófilos. O resultado foi expresso em unidades formadoras de colônias (UFC) por ml da amostra.

A identificação dos bolores isolados na contagem de aeróbios mesófilos foi realizada no Laboratório de Micologia Veterinária da Universidade Estadual de Londrina. As colônias foram mantidas em ágar Sabouraud dextrose, à temperatura ambiente por um período de 7 a 14 dias. Para identificação dos bolores foram realizadas análises macro e microscópicas. Observou-se a pigmentação, textura, consistência e forma do verso e reverso das colônias desenvolvidas *in vitro*. Para análise em microscópio óptico foram preparados microcultivos conforme a técnica de Riddel (1950), que foram coradas com azul de azul algodão lactofenol. A identificação foi realizada observando-se estruturas como micélio, conídios e esporos, confrontando-as com as descrições de Lacaz et al. (2002).

A portaria 370 (BRASIL,1997) determina que o leite UHT não deve ter micro-organismos capazes de proliferar em condições normais de armazenamento e distribuição, pelo que após uma incubação na embalagem fechada a 35-37°C, durante 7 dias, tenha no máximo 100 UFC de aeróbios mesófilos/mL. Este padrão foi utilizado no presente trabalho. Outro parâmetro utilizado para avaliar a qualidade do leite UHT foi o da RDC nº12 (BRASIL, 2001), que estabelece que o leite UHT não deve apresentar micro-organismos patogênicos e causadores de alterações físicas, químicas e organolépticas do produto, em condições normais de armazenamento.

ENUMERAÇÃO DE PSICROTRÓFICOS

A contagem total de micro-organismos psicotróficos foi realizada conforme Frank et al. (1992), com plaqueamento em superfície com alça de drigalski no meio de cultura PCA, seguido de incubação em temperatura de 7°C durante 10 dias. O resultado foi expresso em unidades formadoras de colônias (UFC) por ml da amostra.

ENUMERAÇÃO DE MICRO-ORGANISMOS TERMODÚRICOS MESÓFILOS E PSICROTRÓFICOS

A amostra foi preparada para a contagem de termodúricos, aquecendo-se leite em tubo estéril em banho-maria a 62,8°C durante 30 minutos. Após, a amostra foi resfriada a 10°C e semeada em ágar PCA em superfície, incubando-se as placas a 35°C por 48 horas para os mesófilos termodúricos e 7°C por 10 dias para os psicotróficos termodúricos. O resultado foi expresso em unidades formadoras de colônias (UFC) por ml da amostra (FRANK et al, 1992).

ENUMERAÇÃO DE MICRO-ORGANISMOS PROTEOLÍTICOS E LIPOLÍTICOS

A capacidades lipolítica e proteolítica que os micro-organismos possuem, foi verificada utilizando-se Ágar tributirina para a observação de lipólise e Ágar leite suplementado para observação de proteólise. Após inoculadas as placas foram incubadas a 32°C por 72 horas para proteolíticos e 48 horas para lipolíticos. A reação de proteólise ou lipólise foi observada quando houve formação de halo ao redor da colônia. O resultado foi expresso em unidades formadoras de colônias (UFC) por ml da amostra (FRANK, 1992).

ENUMERAÇÃO DE ENTEROCOCOS

A contagem de enterococos foi realizada com plaqueamento em superfície com alça de drigalski no meio de cultura KFS, seguido de incubação em temperatura de 36°C durante 48 horas. O resultado foi expresso em unidades formadoras de colônias (UFC) por ml da amostra (SILVA et al, 2010).

ENUMERAÇÃO DE COLIFORMES TOTAIS E ESCHERICHIA COLI

A contagem de coliformes totais e *E. coli* foi realizada com o sistema Petrifilm EC[®] (3M, Estados Unidos) que foram incubadas a 35°C por 24 horas para coliformes totais e 48 horas para *E. coli*. Após a incubação, as colônias azuis com gás na área semeada foram enumeradas como *E. coli* e as colônias vermelhas com gás, acrescidas das azuis com gás, foram enumeradas como coliformes totais. O resultado foi expresso em unidades formadoras de colônias (UFC) por ml da amostra.

REFERÊNCIAS

BOOR, K. J.; MURPHY, S. C. Microbiology of market milks. In: ROBINSON; R. K.. **Dairy microbiology handbook**. New York: John Wiley, 2012, p. 91-122. 3 ed.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria 370 de 04/09/1997. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite UAT. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 1997.

BRASIL. Ministério da Saúde. RDC nº 12, de 02/01/2001. Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 2001.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 62 de 26/08/2003. Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 2003.

BUSATTA, C.; VALDRUGA, E.; CASIAN, R. L. Ocorrência de *Bacillus sporothermodurans* em leite UHT integral e desnatado. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 25, p.408-411, jul./set. 2005.

FRANK, J. F.; CHRISTEN, G. L.; BULLERMAN, L. B. Tests for groups of microorganisms. IN: WEHR, M. **Standard Methods for the Examination of Dairy Products**. 16 ed. Washington: Amer Public Health Assn, 1992. p.271-285.

LACAZ, C. S.; PORTO, E.; MARTINS, J. E. C.; HEINS-VACCAU, E. M.; MELO, N. T. **Tratado de micologia médica**. 9 ed. São Paulo: Sarvier, 2002. 1120 p.

RIDDEL, R.W. Permanent stained mycological preparations obtained by slide culture. **Mycologia**, v.42, n. 2, p.265-270, 1950.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A.; TANIWAKI, M. H.; SANTOS, R. F. S.; GOMES, R. A. R. **Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos e Água**. 4 ed. São Paulo: Varela. 2010.

WALSTRA, P. **Dairy technology**: principles of milk properties and processes. New York: Marcel Dekker, 1999. 727p.

ANEXO B

PROTOCOLO DE REALIZAÇÃO DAS ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS E PESQUISA DE FRAUDES

PREPARO DAS AMOSTRAS

As amostras foram agitadas por 25 vezes. As duas amostras foram misturadas em balão volumétrica de 2 litros, escorrendo lentamente, para verificação da geleitinização e sedimentação.

ACIDEZ TITULÁVEL DE LEITE FLUÍDO - MÉTODO B (BRASIL, 2006)

Realizada nas amostras antes e após a incubação.

Material e Reagentes:

Béquer de 50 mL;

Acidímetro Dornic;

Solução Dornic (0,11 N ou N/9);

Solução alcoólica de fenolftaleína (C₂₀H₁₄O₄) a 1 % (m/v);

Preparação da solução padrão: dissolver 0,12 g de rosanilina (fucsina C.I. 42510) (C₂₀H₂₀ClN₃) p.a. em 50 mL de álcool etílico (C₂H₅OH) p.a. contendo 0,5 mL de ácido acético (CH₃COOH) p.a., completar o volume para 100 mL com álcool etílico p.a. (solução estoque). Diluir 1 mL dessa solução para 500 mL com uma mistura de álcool etílico p.a. e água em iguais proporções por volume (solução de trabalho). Ambas as soluções devem ser estocadas em local escuro, em garrafas âmbar tampadas com rolhas de borracha.

Procedimento:

Transferir 10 mL da amostra para dois béqueres em um adicionar 5 gotas da solução de fenolftaleína a 1 % e titular com a solução Dornic, até aparecimento de coloração rósea conforme solução padrão. No outro adicionar 1 mL da solução de trabalho, agitar bem e adotar a coloração obtida como referência para o término da titulação.

Cálculos:

Acidez (°Dornic) = $V \times f \times 10$

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

f = fator de correção da solução de hidróxido de sódio 0,11 N ou N/9.

10 = transformação de ácido láctico para grau Dornic.

Normalidade: 14 a 18°D

Após incubação a acidez não deve ir além 2°D em relação a acidez determinada em outra amostra original fechada, sem incubação prévia.

PH (BRASIL, 2006)

Material e Reagentes:

pHmetro digital HI 8424 calibrado com as soluções tampões pH 4 e 7.

Procedimento

Colocar cerca de 50 mL de amostra em um béquer de 100 mL;

Colocar as duas sondas na amostra;

Aperte ON para ligar;

Espere a ampulheta no canto esquerdo desaparecer;

Anotar o resultado;

Desligar o aparelho;

Lave as sondas com água destilada e seque com papel toalha;

Fazer a próxima amostra.

ESTABILIDADE AO ÁLCOOL 68%, 72%, 76% E 80% (BRASIL, 2006)

Realizada nas amostras antes e após a incubação.

Material e Reagentes:

Tubo de ensaio.

Álcool etílico (C₂H₅OH) neutralizado de concentração variável entre 68 a 80 %.

Neutralização do álcool etílico (C₂H₅OH): transferir o volume de álcool etílico desejado para um béquer. Adicionar 5 gotas de solução alcoólica de fenolftaleína (C₂₀H₁₄O₄) (m/v) a 1 %. Agitar lentamente com um bastão de vidro. Não ocorrendo

alteração de cor, gotear solução de hidróxido de sódio 1 N ou 0,1 N até leve coloração rosada. Agitar lentamente com o bastão. Desaparecendo a cor, continuar com a adição de solução de hidróxido de sódio 0,1 N até leve coloração rósea persistente.

Procedimento:

Misturar dois ml de álcool com 2 e de leite em um tubo de ensaio, agitar e observar o aspecto (formação de grumos, flocos ou coágulos grandes).

Resultado:

Leite estável: aspecto das paredes do tubo de ensaio sem grumos ou com uma ligeira precipitação, com poucos grumos muito finos.

Leite instável: presença de grumos, coagulação forte.

Normalidade: estável

CRIOSCOPIA (BRASIL, 2006)

Material e Reagentes:

Crioscópio eletrônico digital micro processado pZL 7000 – PZL

Procedimento

Calibrar o crioscópio com as soluções $-0,422$ e $-0,621^{\circ}\text{H}$.

Para determinação da crioscopia, pipetar 2,5 ml em 3 tubos específicos para crioscópios. Anotar os 3 resultados e fazer a média.

DENSIDADE A 15°C (BRASIL, 2006)

Material e Reagentes:

Proveta de 250 mL;

Papel toalha absorvente;

Termolactodensímetro calibrado

Realização da calibração do termolactodensímetro: dessecar cloreto de sódio (NaCl) p.a. em forno mufla a 300°C por 2 horas ou em estufa a 105°C por 24 horas. Pesar rápida e exatamente 44 g de cloreto de sódio. Dissolver e transferir para balão

volumétrico de 1000 mL, completando o volume com água destilada. Esta solução deverá apresentar a densidade de 1,030 g/mL a 20 °C. Introduzir o termolactodensímetro na solução a 20 °C e calcular a correção.

$$C = D - L$$

C = fator de correção;

D = densidade da solução preparada (1,030) L = leitura no termolactodensímetro.

O fator de correção deverá ser adicionado ao valor da leitura da densidade da amostra de leite previamente a correção da densidade para 15 °C.

Procedimento

Transferir cerca de 250 mL de leite para uma proveta de capacidade correspondente, evitando incorporação de ar e formação de espuma. Levar a geladeira até chegar à temperatura aproximada de 15°C. Introduzir o termolactodensímetro perfeitamente limpo e seco na amostra, deixar flutuar sem que encoste na parede da proveta. Deixar em repouso por 2 minutos e fazer a leitura da densidade na cúspide do menisco. Observar a temperatura. De qualquer forma não deverão ser feitas leituras de densidade em amostras com temperatura inferior a 10°C ou superior a 20°C. Fazer a correção utilizando a tabela.

QUANTIFICAÇÃO DO TEOR DE MATÉRIA GORDA, PROTEÍNA, LACTOSE E DOS SÓLIDOS TOTAIS E SÓLIDOS NÃO GORDUROSOS E CONTAGEM DE CÉLULAS SOMÁTICAS.

As análises de CCS, proteína, gordura, sólidos não gordurosos e lactose foram realizadas no Laboratório do Programa de Análise do Leite da Associação Paranaense de Criadores de Bovinos da Raça Holandesa (APCBRH) em Curitiba/PR. No Laboratório da APCBRH a análise de CCS foi realizada por citometria de fluxo no equipamento Somacount – 500 (Bentley Instruments, Chaska,MN, EUA). As outras análises foram feitas no contador eletrônico infravermelho BENTLEY – 2000 (Bentley Instruments, Chaska,MN, EUA). Para realização destas análises foram colhidos 40 mL de leite em recipientes plásticos apropriados, com o conservante bronopol, fornecidos pelo Laboratório, e encaminhadas de acordo com as normas estabelecidas pelo Manual de Operações de Campo do Programa de Análise dos Rebanhos Leiteiros do Paraná.

Material e Reagentes:

Solução de cromato de potássio (K_2CrO_4) a 5 % (m/v);

Solução de nitrato de prata ($AgNO_3$) 0,1 N.

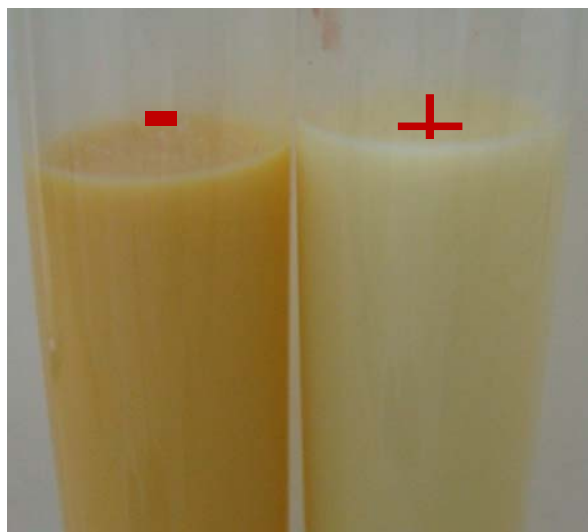
Procedimento

Em tubo de ensaio colocar 10 mL de leite, adicionar 0,5 mL de solução de cromato de potássio a 5 % e 4,5 mL de solução de nitrato de prata 0,1 N e agitar. Fazer um controle positivo com 0,1% sal. Na presença de cloretos aparecerá uma coloração amarela.

Negativo: laranja (amarelo ovo)

Observação: O resultado positivo de coloração amarela indica a presença de cloretos em quantidades superiores à faixa normal (0,08 a 0,1 %).

Figura 1 – Resultado negativo e positivo na análise de cloretos em leite UHT.



Fonte: Elaboração do autor

SACAROSE (BRASIL, 1991)**Material e Reagentes:**

Banho-maria

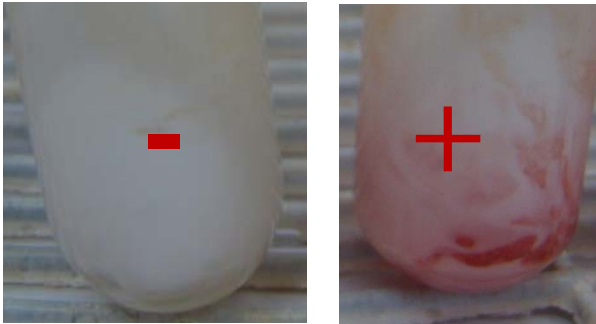
Ácido clorídrico concentrado

Resorcina

Procedimento:

Transferir 10 ml de leite para tubo de ensaio. Adicionar 1 ml de ácido clorídrico conc. e 0,1 g de resorcina. Agitar e aquecer em banho-maria em ebulição por 5 minutos. Fazer um controle positivo com 0,1% açúcar. Na presença de sacarose aparecerá uma coloração rósea imediata. Não levar em consideração se a coloração aparecer depois de um certo tempo, pois será devido a hidrólise da lactose.

Figura 2 – Resultado negativo e positivo na análise de sacarose em leite UHT.



Fonte: Elaboração do autor

AMIDO (BRASIL, 2006)

Material e Reagentes:

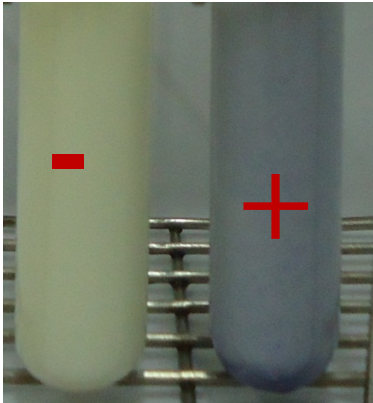
Banho-maria

Solução de Lugol.

Procedimento

Transferir 10 mL de leite para tubo de ensaio, aquecer até ebulição em banho-maria e deixar por 5 minutos. Esfriar em água corrente. Adicionar 2 gotas de solução de Lugol e observar a coloração produzida. Fazer um controle positivo com 0,1% amido. Na presença de amido aparecerá uma coloração azul.

Figura 3 – Resultado negativo e positivo na análise de amido em leite UHT.



Fonte: Elaboração do autor

PESQUISA DE FORMALDEÍDO (BRASIL, 2006)

Material e Reagentes:

Banho-maria

Ácido fosfórico P.A.

Solução de ácido cromotrópico sal dissódico dihidratado ($C_{10}H_6Na_2O_8S_2 \cdot 2 H_2O$) a 0,5 % (m/v) em solução de ácido sulfúrico (H_2SO_4) a 72 % (v/v)

1. Diluir 72 mL de ácido sulfúrico em 28 mL de água destilada
2. Pesar 0,5g de ácido cromotrópico sal dissódico dihidratado e adicionar à solução de ácido sulfúrico.

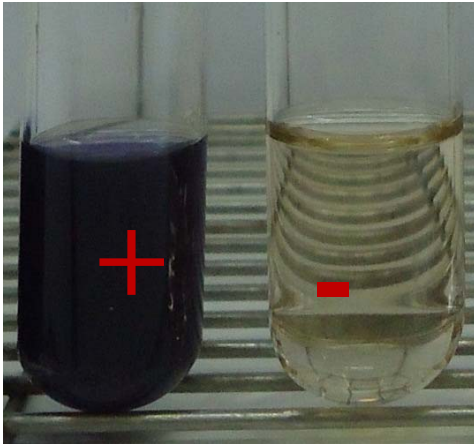
Solução de referência de formalina:

1. Diluir 3,7 mL de formol P.A. em 6,3 mL de água destilada
2. Diluir 1mL da solução “mãe” em 100mL de água destilada

Procedimento

Medir 100 mL de leite em balão de destilação e adicionar 150 de água. Adicionar 2 mL de ácido fosfórico p.a. e destilar lentamente recolhendo cerca de 50 mL de destilado. Em tubo de ensaio colocar 5 mL de solução de ácido cromotrópico a 0,5 % e 1 mL de destilado, colocar em banho-maria em ebulição durante 15 minutos. Fazer um controle positivo com 0,1% de formalina. Na presença de formol aparecerá coloração violácea. Resultado Negativo: sem alteração de cor.

Figura 4 – Resultado negativo e positivo na análise de formaldeído em leite UHT.



Fonte: Elaboração do autor

PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO (Método B: Guaiacol) (BRASIL, 2006)

Material e Reagentes:

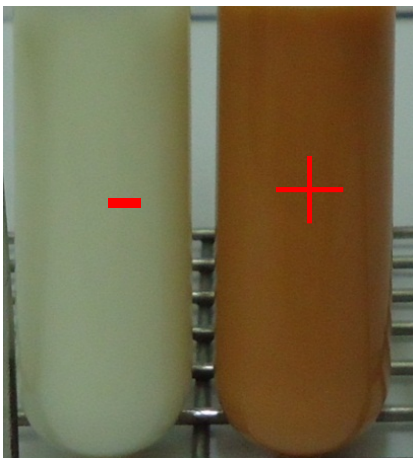
Banho-maria

Solução hidroalcoólica de guaiacol (C₇H₈O₂) a 1 % (v/v):

Procedimento

Transferir 10 mL da amostra para tubo de ensaio e aquecer em banho-maria até 35 °C, adicionar 2 mL da solução hidroalcoólica de guaiacol a 1 % e 2 mL de leite cru. Agitar. Fazer um controle positivo com 0,5% de água oxigenada. Na presença de água oxigenada aparecerá coloração salmão.

Figura 5 – Resultado negativo e positivo na análise de peróxido em leite UHT.



Fonte: Elaboração do autor

PESQUISA DE ANTIBIÓTICOS (COW SIDE II TEST)

Material e Reagentes:

Banho-maria

Procedimento

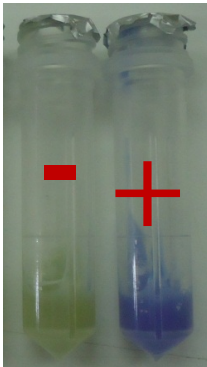
Medir 100 µl de leite e adicionar ao teste, colocar em banho-maria a 64°C durante 3:10 horas. Fazer o controle positivo (4ppb penicilina G e 100 ppb oxitetraciclina – 1 pastilha em 5 ml leite, refrigere por 5 minutos).

Resultado

Positivo: azul

Negativo: amarelo

Figura 6 – Resultado negativo e positivo na análise de antibióticos em leite UHT.



Fonte: Elaboração do autor

PROVA DO CLORO E HIPOCLORITO (BRASIL, 2006)

Material e Reagentes:

Banho-maria.

solução de ácido clorídrico (HCl) (1+2) ;

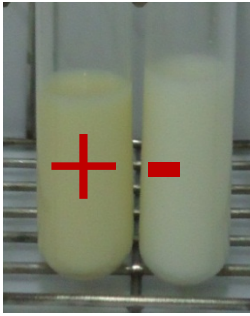
Solução de amido (C₆H₁₀O₅)_n a 1 % (m/v);

Solução de iodeto de potássio (KI) a 7,5 % (m/v).

Procedimento

Em tubo de ensaio, colocar 5 mL de leite. Adicionar 0,5 mL de solução de iodeto de potássio a 7,5 %, agitar. Na presença de cloro livre aparecerá coloração amarela

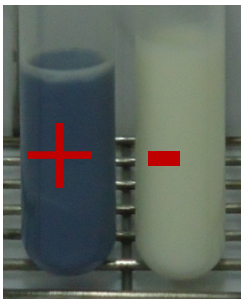
Figura 7 –Resultado negativo e positivo na análise de cloro em leite UHT.



Fonte: Elaboração do autor

Confirmatório: Adição de 1 mL de solução de amido a 1 %, que desenvolverá coloração azul violeta

Figura 8 –Resultado negativo e positivo na análise de cloro em leite UHT.

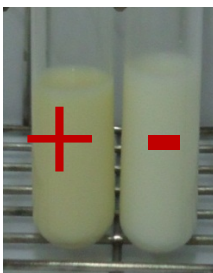


Fonte: Elaboração do autor

Presença de hipocloritos

Adicionando ao mesmo tubo 4 mL de ácido clorídrico (1+2). Colocar em banho-maria a 80 °C por 10 minutos (não ultrapassar 80 °C). Esfriar em água corrente. Fazer um controle positivo com 0,1% de formalina. O aparecimento de coloração amarela indica a presença de hipocloritos

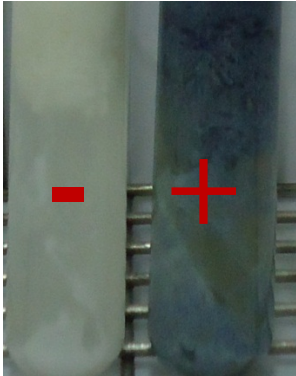
Figura 9 –Resultado negativo e positivo na análise de hipoclorito em leite UHT.



Fonte: Elaboração do autor

Confirmatório: adição de gotas de solução de amido a 1 %, que desenvolverá coloração azul ou violeta.

Figura 10 – Resultado negativo e positivo na análise de hipoclorito em leite UHT.



Fonte: Elaboração do autor

ÁLCOOL ETÍLICO (BRASIL, 2006)

Material e Reagentes:

Antiespumante (solução a 3 %);

Solução sulfocrômica

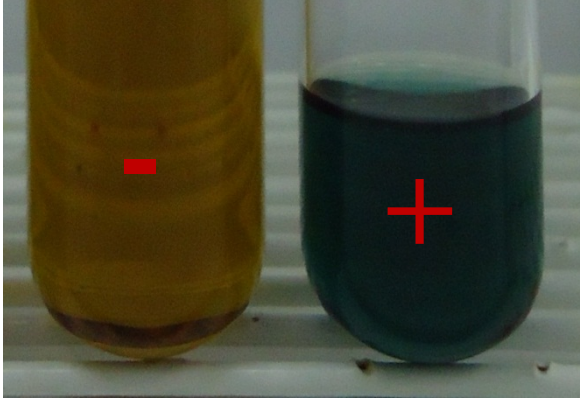
Procedimento

Medir 100 mL da amostra e transferir para o kitazato. Adicionar 10 mL de antiespumante e misturar bem. Transferir para um tubo de ensaio 2 mL da solução sulfocrômica e mergulhar nessa solução a extremidade da pipeta de Pasteur acoplado ao kitazato por um tubo de silicone ou látex, de modo a formar um sistema fechado. Aquecer a amostra contida no kitazato mantendo em fervura por 5 minutos. Fazer um controle positivo com 0,1% de álcool etílico.

Resultado: Negativo: coloração da solução sulfocrômica inalterada ou levemente amarelo-acinzentada.

Positivo: coloração da solução sulfocrômica verde.

Figura 11 – Resultado negativo e positivo na análise de álcool em leite UHT.



Fonte: Elaboração do autor

NEUTRALIZANTES DA ACIDEZ MÉTODO B: FENOLFTALEÍNA (BRASIL, 2006)

Material e Reagentes:

Banho-maria;

Solução alcoólica de fenolftaleína ($C_{20}H_{14}O_4$) a 1 % (m/v);

Solução de ácido sulfúrico (H_2SO_4) 0,025 N;

Solução de hidróxido de sódio (NaOH) 0,1 N.

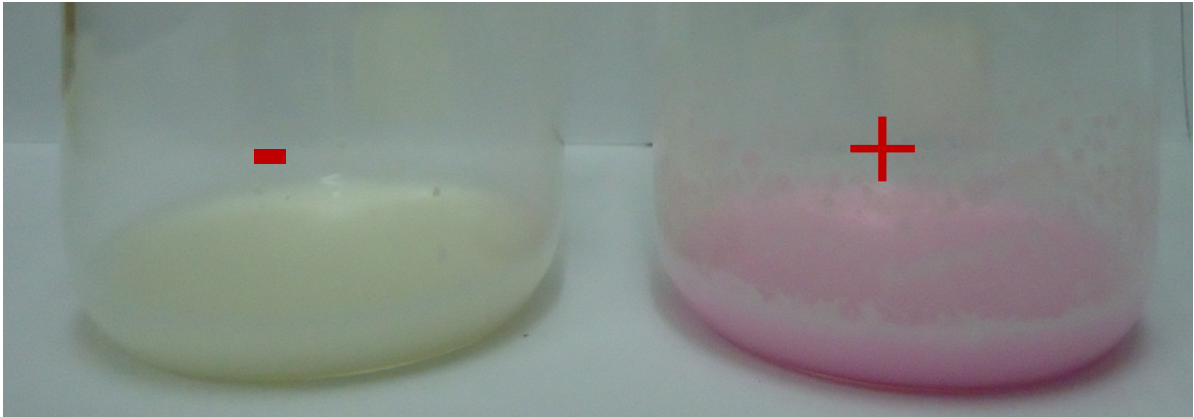
Procedimento

Transferir 11 mL da amostra para béquer de 150 mL, adicionar 5 gotas de solução alcoólica de fenolftaleína a 1 % e titular com solução de hidróxido de sódio 0,1 N até coloração rósea persistente. Reacidificar com 1 mL de solução de ácido sulfúrico 0,025 N, aquecer até ebulição, esfriar rapidamente em banho de gelo e adicionar 2 mL de solução alcoólica de fenolftaleína a 1 %. Fazer um controle positivo com 5% de bicarbonato.

Resultado

Positivo: coloração rósea, neutralização com carbonato de sódio (Na_2CO_3) ou com bicarbonato de sódio ($NaHCO_3$).

Figura 12 – Resultado negativo e positivo na análise de neutralizantes em leite UHT



Fonte: Elaboração do autor

DETERMINAÇÃO DA SEDIMENTAÇÃO (SILVA, 2004)

Abrir a embalagem de leite UHT completamente pela parte superior, e escoar todo o leite cuidadosamente. Após a embalagem vai ser cortada de modo que a altura a partir da base seja aproximadamente 4 cm. Inverter a embalagem por 10 minutos, e cortar novamente, de forma que a mesma fique plana. Manter a embalagem por 48 horas com a face interna voltada para cima. Após pesar, anotado o valor e removido completamente o sedimento seco, e pesar novamente a embalagem. A massa de sedimentos é obtida pela diferença entre as duas pesagens.

Figura 13 – Presença de sedimento em leite UHT.



Fonte: Elaboração do autor

DETERMINAÇÃO DA GELEIFICAÇÃO

A avaliação da geleificação foi realizada através do extravasamento gradual do produto da embalagem através de uma peneira e pesando-se o conteúdo geleificado.

Figura 14 – Presença de geleificação em leite UHT.



Fonte: Elaboração do autor

REFERÊNCIAS

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **LANARA**: Métodos analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes: II – Métodos físicos e químicos. Brasília: Ministério da Agricultura, 1981.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 68, de 12/12/2006. Estabelece métodos analíticos físico-químicos oficiais para leite e produtos lácteos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 2006.

SILVA, P. H. F. **Leite UHT**: fatores determinantes para sedimentação e gelificação. Do autor: Juiz de Fora, 2004.128p.

APÊNDICES

APÊNDICE A

RESULTADOS DAS ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS POR AMOSTRA

Tabela 1 – Resultados das análises microbiológicas por amostra, em 60 amostras de leite UHT comercializadas em Londrina-PR entre novembro de 2011 e julho de 2012

Amostra	Aeróbios Mesófilos	Psicrotróficos	Termodúricos		Proteolítico	Lipolítico	Coliformes Totais	<i>E. coli</i>	Enterococcus
			Mesófilos	Psicrotróficos					
1	15	25	215	250	300	<10	<1	<1	<10
2	50	150	10	150	<10	<10	<1	<1	<10
3	135	100	10	350	20	<10	<1	<1	<10
4	200	15	10	10	10	<10	<1	<1	<10
5	265	55	150	100	10	<10	<1	<1	<10
6	510	350	425	200	10	<10	<1	<1	<10
7	<10	<10	15	<10	<10	<10	<1	<1	<10
8	10	10	60	10	<10	10	<1	<1	<10
9	<10	10	1500	<10	<10	<10	<1	<1	<10
10	250	10	10	<10	<10	<10	<1	<1	<10
11	<10	20	600	10	10	100	<1	<1	<10
12	10	10	50	10	<10	<10	<1	<1	<10
13	45	10	650	10	<10	<10	<1	<1	<10
14	<10	50	50	200	10	<10	<1	<1	<10
15	375	10	100	10	<10	10	<1	<1	<10
16	150	<10	100	470	80	<10	<1	<1	<10
17	15	10	750	10	15	<10	<1	<1	<10
18	<10	10	100	400	150	25	<1	<1	<10
19	335	15	385	10	700	10	<1	<1	<10
20	350	950	390	10	5300	10	<1	<1	<10
21	120	30	15	10	50	<10	<1	<1	<10
22	10	<10	15	15	650	<10	<1	<1	<10
23	10	<10	10	10	150	240	<1	<1	<10
24	750	<10	15	<10	50	<10	<1	<1	<10

Amostra	Aeróbios Mesófilos	Psicrotróficos	Termodúricos		Proteolítico	Lipolítico	Coliformes Totais	<i>E. coli</i>	Enterococcus
			Mesófilos	Psicrotróficos					
25	10	10	15	<10	10	10	<1	<1	<10
26	<10	10	10	<10	150	60	<1	<1	<10
27	105	10	<10	<10	100	<10	<1	<1	<10
28	<10	10	200	<10	<10	<10	<1	<1	<10
29	<10	10	900	10	<10	<10	<1	<1	<10
30	10	<10	<10	<10	8650	10	<1	<1	<10
31	170	20	35	10	400	10	<1	<1	<10
32	850	<10	10	<10	<10	10	<1	<1	<10
33	200	<10	380	<10	400	<10	<1	<1	<10
34	200	<10	10	<10	500	10	<1	<1	<10
35	300	25	575	<10	200	10	<1	<1	<10
36	40	<10	15	10	100	10	<1	<1	<10
37	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<1	<1	<10
38	15	<10	<10	<10	<10	10	<1	<1	<10
39	45	<10	40	<10	<10	<10	<1	<1	<10
40	55	150	250	<10	<10	10	<1	<1	<10
41	<10	20	<10	<10	<10	10	<1	<1	<10
42	<10	<10	<10	<10	<10	25	<1	<1	<10
43	295	20	<10	<10	15	<10	<1	<1	<10
44	10	<10	<10	<10	20	10	<1	<1	<10
45	250	<10	575	<10	<10	10	<1	<1	<10
46	150	<10	250	<10	<10	10	<1	<1	<10
47	50	<10	<10	10	<10	<10	<1	<1	<10
48	150	<10	<10	10	<10	10	<1	<1	<10
49	<10	<10	<10	10	<10	60	<1	<1	<10
50	10	<10	<10	10	<10	10	<1	<1	<10
51	50	<10	10	<10	10	<10	<1	<1	<10
52	10	<10	<10	<10	<10	<10	<1	<1	<10
53	<10	<10	10	<10	25	10	<1	<1	<10
54	200	<10	<10	<10	<10	<10	<1	<1	<10
55	15	<10	<10	<10	20	<10	<1	<1	<10
56	100	<10	25	<10	<10	<10	<1	<1	<10
57	150	<10	15	<10	<10	<10	<1	<1	<10
58	<10	<10	<10	<10	110	25	<1	<1	<10
59	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<1	<1	<10
60	10	<10	35	<10	<10	<10	<1	<1	<10

Tabela 2 –Distribuição de acordo com os resultados da contagem de aeróbios mesófilos e análise estatística em 60 amostras de leite UHT comercializadas em Londrina-PR entre novembro de 2011 e julho de 2012

Acidez (D°)	1° Coleta novembro 2011 n (%)			2° Coleta maio a julho 2012 n (%)			Total n (%)		
	Integral	Desnatado	Total	Integral	Desnatado	Total	Integral	Desnatado	Total
<10	4 (26,7)	4 (26,7)	8 (26,7)	5 (33,3)	2 (13,3)	7 (23,3)	9 (30,0)	6 (20,0)	15 (25,0)
10 F- 100	5 (33,3)	5 (33,3)	10 (33,3)	4 (26,7)	7 (46,7)	11 (36,7)	9 (30,0)	12 (40,0)	21 (35,0)
100 F- 200	3 (20,0)	1 (6,7)	4 (13,3)	2 (13,3)	3 (20,0)	5 (16,7)	5 (16,7)	4 (13,3)	9 (15,0)
200 F- 300	1 (6,7)	2 (13,3)	3 (10,0)	3 (20,0)	2 (13,3)	5 (16,7)	4 (13,3)	4 (13,3)	8 (13,3)
≥ 300	2 (13,3)	3 (20,0)	5 (16,7)	1 (6,7)	1 (6,7)	2 (6,7)	3 (10,0)	4 (13,3)	7 (11,7)
média	98	156	127	105	121	113	102	139	120
desvio	127	225	182	111	214	168	117	217	174
mínimo	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10
máximo	375	750	750	300	850	850	375	850	850

Fonte: Elaboração do autor

Tabela 3 –Distribuição de acordo com os resultados da contagem de psicrotróficos e análise estatística em 60 amostras de leite UHT comercializadas em Londrina-PR entre novembro de 2011 e julho de 2012.

UFC/mL	1° Coleta novembro 2011 n (%)			2° Coleta maio a julho 2012 n (%)			Total n (%)		
	Integral	Desnatado	Total	Integral	Desnatado	Total	Integral	Desnatado	Total
<10	2 (13,3)	4 (26,7)	6 (20,0)	11 (73,3)	14 (93,3)	25 (83,3)	13 (43,3)	18 (60,0)	31 (51,7)
10 F- 100	12 (80,0)	8 (53,3)	20 (66,7)	4 (26,7)	0 (0,0)	4 (13,3)	16 (53,3)	8 (26,7)	24 (40,0)
100 F- 200	1 (6,7)	1 (6,7)	2 (6,7)	0 (0,0)	1 (6,7)	1 (3,3)	1 (3,3)	2 (6,7)	3 (5,0)
200 F- 300	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
≥ 300	0 (0,0)	2 (13,3)	2 (6,7)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	2 (6,7)	2 (3,3)
média	22	108	65	13	19	16	18	64	41
desvio	25	250	180	5	36	26	18	181	130
mínimo	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10
máximo	100	950	950	25	150	150	100	950	950

Fonte: Elaboração do autor

Tabela 4 –Distribuição de acordo com os resultados da contagem de termodúricos mesófilos e análise estatística em 60 amostras de leite UHT comercializadas em Londrina-PR entre novembro de 2011 e julho de 2012.

UFC/mL	1° Coleta novembro 2011 n (%)			2° Coleta maio a julho 2012 n (%)			Total n (%)		
	Integral	Desnatado	Total	Integral	Desnatado	Total	Integral	Desnatado	Total
<10	1 (6,7)	1 (6,7)	2 (6,7)	7 (46,7)	8 (53,3)	15 (50,0)	8 (26,7)	9 (30,0)	17 (28,3)
10 F- 100	5 (33,3)	9 (60,0)	14 (46,7)	5 (33,3)	5 (33,3)	10 (33,3)	10 (33,3)	14 (33,3)	24 (40,0)
100 F- 200	2 (13,3)	2 (13,3)	4 (13,3)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	2 (6,7)	2 (6,7)	4 (6,7)
200 F- 300	1 (6,7)	1 (6,7)	2 (6,7)	0 (0,0)	2 (13,3)	2 (6,7)	1 (1,1)	3 (10,0)	4 (6,7)
≥ 300	6 (40,0)	2 (13,3)	8 (26,7)	3 (20,0)	0 (0,0)	3 (10,0)	9 (30,0)	2 (6,7)	11 (18,3)
média	355	97	226	114	45	80	235	71	275
desvio	443	137	348	210	84	161	362	114	485
mínimo	<10	<10	<10	< 10	< 10	<10	< 10	<10	<10
máximo	1500	425	1500	575	250	575	1500	425	1500

Fonte: Elaboração do autor

Tabela 5 –Distribuição de acordo com os resultados da contagem de termodúricos psicrotróficos e análise estatística em 60 amostras de leite UHT comercializadas em Londrina-PR entre novembro de 2011 e julho de 2012.

UFC/mL	1° Coleta novembro 2011 n (%)			2° Coleta maio a julho 2012 n (%)			Total n (%)		
	Integral	Desnatado	Total	Integral	Desnatado	Total	Integral	Desnatado	Total
<10	4 (26,7)	5 (33,3)	9 (30,0)	12 (80,0)	12 (80,0)	24 (80,0)	16 (53,3)	17 (53,3)	33 (55,0)
10 F- 100	8 (53,3)	5 (33,3)	13 (43,3)	3 (20,0)	3 (20,0)	6 (20,0)	11 (36,7)	8 (26,7)	19 (31,7)
100 F- 200	1 (6,7)	1 (6,7)	2 (6,7)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	1 (3,3)	1 (3,3)	2 (3,3)
200 F- 300	1 (6,7)	2 (13,3)	3 (10,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	1 (3,3)	2 (6,7)	3 (5,0)
≥ 300	1 (6,7)	2 (13,3)	3 (10,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	1 (3,3)	2 (6,7)	3 (5,0)
média	55	102	78	10	10	10	32	56	44,1
desvio	104	153	131	0	0	0	76	116	98,0
mínimo	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10
máximo	350	470	470	10	10	10	350	470	470

Fonte: Elaboração do autor

Tabela 6 –Distribuição de acordo com os resultados da contagem de proteolíticos e análise estatística em 60 amostras de leite UHT comercializadas em Londrina-PR entre novembro de 2011 e julho de 2012.

UFC/mL	1° Coleta novembro 2011 n (%)			2° Coleta maio a julho 2012 n (%)			Total n (%)		
	Integral	Desnatado	Total	Integral	Desnatado	Total	Integral	Desnatado	Total
<10	5 (33,3)	5 (33,3)	10 (33,3)	8 (53,3)	11 (73,3)	19 (63,3)	13 (43,3)	16 (53,3)	29 (48,3)
10 F- 100	6 (40,0)	5 (33,3)	11 (36,7)	4 (26,7)	1 (6,7)	5 (16,7)	10 (33,3)	6 (20,0)	16 (26,7)
100 F- 200	1 (6,7)	2 (13,3)	4 (13,3)	0 (0,0)	2 (13,3)	2 (6,7)	2 (6,7)	4 (13,3)	6 (10,0)
200 F- 300	1 (6,7)	0 (0,0)	0 (0,0)	1 (6,7)	0 (0,0)	1 (3,3)	1 (3,3)	0 (0,0)	1 (1,3)
≥ 300	2 (13,3)	3 (20,0)	5 (16,7)	2 (13,3)	1 (6,7)	3 (10,0)	4 (13,3)	4 (13,3)	8 (13,3)
média	94	1007	551	77	56	66	86	532	309
desvio	186	2.510	1809	140	127	132	162	1.812	1295
mínimo	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10
máximo	700	8.650	8650	400	500	500	700	8.650	8.650

Fonte: Elaboração do autor

Tabela 7 –Distribuição de acordo com os resultados da contagem de lipolítico e análise estatística em 60 amostras de leite UHT comercializadas em Londrina-PR entre novembro de 2011 e julho de 2012.

UFC/mL	1° Coleta novembro 2011 n (%)			2° Coleta maio a julho 2012 n (%)			Total n (%)		
	Integral	Desnatado	Total	Integral	Desnatado	Total	Integral	Desnatado	Total
<10	10 (66,7)	10 (66,7)	20 (66,7)	9 (60,0)	4 (26,7)	13 (43,3)	19 (63,3)	14 (46,7)	33 (55,0)
10 F- 100	3 (20,0)	5 (33,3)	8 (26,7)	6 (40,0)	11 (73,3)	17 (56,7)	9 (30,0)	16 (53,3)	25 (41,7)
100 F- 200	1 (6,7)	0 (0,0)	1 (3,3)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	1 (3,3)	0 (0,0)	1 (1,7)
200 F- 300	1 (6,7)	0 (0,0)	1 (3,3)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	1 (3,3)	0 (0,0)	1 (1,7)
≥ 300	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
média	31	14	23	13	12	13	22	13	18
desvio	62	13	45	13	5	10	45	10	33
mínimo	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10
máximo	240	60	240	10	10	60	240	60	240

Fonte: Elaboração do autor

APÊNDICE B
RESULTADOS DAS ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS POR AMOSTRA

Tabela 1 – Resultados das análises físico-químicas por amostra, em 60 amostras de leite UHT comercializadas em Londrina-PR entre novembro de 2011 e julho de 2012

Amostra	Acidez	pH	Crioscopia	Densidade	Gordura	Proteína	Lactose	SNG	Sais	CCS
1	17	6,8	-0,544	1031,40	3,22	3,37	4,50	8,81	0,94	5.000
2	17	6,76	-0,536	1035,40	0,28	3,43	4,49	8,83	0,91	2.000
3	17	6,73	-0,548	1031,20	2,98	3,22	4,37	8,49	0,90	2.000
4	15	6,78	-0,549	1035,70	0,21	3,14	4,27	8,20	0,79	5.000
5	16	6,76	-0,537	1030,40	3,05	3,16	4,35	8,39	0,88	70.000
6	19	6,68	-0,557	1035,00	0,61	3,42	4,50	8,87	0,95	5.000
7	17	6,7	-0,536	1030,40	3,66	3,16	4,56	8,65	0,93	72.000
8	18	6,79	-0,538	1035,00	0,43	3,41	4,68	9,02	0,93	23.000
9	17	6,63	-0,537	1030,80	3,07	3,25	4,47	8,64	0,92	5.000
10	16	6,79	-0,546	1036,00	0,19	3,38	4,58	8,82	0,86	7.000
11	17	6,77	-0,546	1031,00	3,13	3,29	4,49	8,71	0,93	7.000
12	17	6,82	-0,544	1035,00	0,49	3,40	4,59	8,85	0,86	9.000
13	16	6,68	-0,545	1021,00	3,07	3,27	4,40	8,59	0,92	12.000
14	15	6,7	-0,545	1035,00	0,19	3,44	4,47	9,80	1,89	25.000
15	16	6,64	-0,544	1033,00	3,22	3,21	4,26	8,39	0,92	10.000
16	18	6,59	-0,562	1030,00	0,53	3,25	4,26	8,37	0,86	45.000
17	15	6,86	-0,541	1029,20	3,17	3,09	4,27	8,19	0,83	1.000
18	17	6,88	-0,535	1033,40	0,18	3,33	4,31	8,49	0,85	1.000
19	16	6,66	-0,546	1030,20	3,17	3,13	4,28	8,31	0,90	9.000
20	18	6,8	-0,549	1034,00	0,58	3,28	4,38	8,51	0,85	6.000
21	18	6,8	-0,545	1030,80	3,11	3,24	4,48	8,66	0,94	59.000
22	18	6,86	-0,545	1035,00	0,16	3,41	4,52	8,83	0,90	19.000
23	17	6,85	-0,544	1031,00	2,90	3,24	4,53	8,68	0,91	10.000
24	18	6,66	-0,541	1035,00	0,09	3,38	4,57	8,86	0,91	8.000

Amostra	Acidez	pH	Crioscopia	Densidade	Gordura	Proteína	Lactose	SNG	Sais	CCS
25	16	6,69	-0,542	1030,60	3,08	3,30	4,50	8,74	0,94	3.000
26	17	6,7	-0,546	1034,70	0,36	3,49	4,57	8,93	0,87	5.000
27	13	6,78	-0,535	1029,40	3,15	3,06	4,29	8,20	0,85	10.000
28	17	6,75	-0,537	1034,40	0,36	3,46	4,44	8,77	0,87	19.000
29	17	6,78	-0,549	1030,80	3,00	3,32	4,47	8,72	0,93	3.000
30	15	6,77	-0,544	1035,30	0,19	3,44	4,54	8,88	0,90	6.000
31	15	6,71	-0,542	1031,00	3,05	3,16	4,46	8,53	0,91	7000
32	17	6,45	-0,550	1035,00	0,28	3,43	4,49	8,83	0,91	2000
33	14	6,82	-0,541	1030,00	3,04	3,19	4,26	8,35	0,9	10000
34	14	6,82	-0,547	1035,20	0,30	3,36	4,46	8,69	0,87	2000
35	17	6,72	-0,554	1031,00	3,03	3,34	4,32	8,61	0,95	130000
36	18	6,64	-0,537	1034,20	0,15	3,23	4,44	8,52	0,85	3000
37	16	6,64	-0,535	1030,20	3,49	3,03	4,54	8,45	0,88	21000
38	15	6,71	-0,539	1035,20	0,42	3,23	4,69	8,78	0,86	27000
39	16	6,77	-0,543	1031,20	2,99	3,30	4,42	8,66	0,94	4000
40	16	6,73	-0,543	1035,20	0,18	3,40	4,58	8,87	0,89	2000
41	16	6,71	-0,550	1031,40	3,07	3,32	4,42	8,7	0,96	10000
42	15	6,79	-0,528	1034,60	0,50	3,30	4,41	8,58	0,87	4000
43	14	6,89	-0,542	1030,20	3,09	3,26	4,25	8,43	0,92	124000
44	17	6,78	-0,542	1033,00	0,12	3,60	4,35	8,78	0,83	86000
45	17	6,67	-0,558	1029,80	3,22	3,25	4,24	8,4	0,91	18000
46	18	6,71	-0,565	1036,20	0,38	3,60	4,46	8,98	0,92	31000
47	14	6,83	-0,543	1030,20	3,05	3,04	4,30	8,21	0,87	10000
48	17	6,74	-0,545	1034,20	0,17	3,35	4,27	8,48	0,86	10000
49	16	6,7	-0,550	1031,20	3,17	3,36	4,35	8,65	0,94	22000
50	17	6,71	-0,557	1035,80	0,36	3,50	4,46	8,88	0,92	10000
51	18	6,73	-0,553	1030,80	3,07	3,30	4,28	8,45	0,87	4000
52	16	6,79	-0,554	1033,80	0,19	3,59	4,47	8,93	0,87	10000
53	18	6,69	-0,550	1029,80	3,00	3,31	4,24	8,54	0,99	10000
54	18	6,8	-0,543	1034,00	0,25	3,59	5,52	8,98	0,00	2000
55	17	6,88	-0,547	1029,80	3,04	3,37	4,42	8,68	0,89	2000
56	17	6,74	-0,543	1034,00	0,34	3,61	4,47	8,93	0,85	20000
57	16	6,97	-0,536	1027,80	3,27	3,15	4,16	8,15	0,84	4000
58	16	6,86	-0,540	1032,20	0,38	3,51	4,26	8,61	0,84	10000
59	17	6,82	-0,546	1030,00	3,00	3,37	4,39	8,66	0,9	5000
60	16	6,66	-0,535	1033,00	0,19	3,50	4,35	8,68	0,83	8000

Tabela 2 –Distribuição de acordo com os resultados da gordura e análise estatística em 60 amostras de leite UHT comercializadas em Londrina - PR entre novembro de 2011 e julho de 2012.

Tipo de leite	Gordura (%)	1° coleta novembro 2011 n (%)	2° coleta maio a julho 2012 n (%)	Total n (%)
Integral	<3,0	2 (13,3)	1 (6,7)	3 (10,0)
	≥3,0	13 (86,7)	14 (93,3)	27 (90,0)
	média	3,13	3,11	3,12
	desvio padrão	0,17	0,13	0,15
	mínimo	2,90	2,99	2,90
	máximo	3,66	3,49	3,66
Desnatado	<0,5	12 (80,0)	15 (100,0)	27 (90,0)
	≥0,5	3 (20,0)	0 (0,0)	3 (10,0)
	média	0,32	0,28	0,30
	desvio padrão	0,17	0,11	0,14
	mínimo	0,09	0,12	0,09
	máximo	0,61	0,50	0,61

Fonte: Elaboração do autor

Tabela 3 –Distribuição de acordo com os resultados sólidos não gordurosos e análise estatística em 60 amostras de leite UHT comercializadas em Londrina-PR entre novembro de 2011 e julho de 2012.

Tipo de leite	Sólidos não gordurosos (%)	1° coleta novembro 2011 n (%)	2° coleta maio a julho 2012 n (%)	Total n (%)
Integral	<8,2	1 (6,7)	1 (6,7)	2 (6,7)
	≥8,2	14 (93,3)	14 (93,3)	28 (6,7)
	média	8,54	8,50	8,52
	desvio padrão	0,20	0,17	0,19
	mínimo	8,19	8,15	8,15
	máximo	8,81	8,70	8,81
Desnatado	<8,4	2 (13,3)	0 (0,0)	2 (6,7)
	≥8,4	13 (86,7)	15 (100,0)	28 (6,7)
	média	8,80	8,77	8,79
	desvio padrão	0,36	0,17	0,28
	mínimo	8,20	8,48	8,20
	máximo	9,80	8,98	9,80

Fonte: Elaboração do autor

Tabela 4 –Distribuição de acordo com os resultados da acidez e análise estatística em 60 amostras de leite UHT comercializadas em Londrina-PR entre novembro de 2011 e julho de 2012

Acidez (D°)	1° coleta novembro 2011 n (%)			2° coleta maio a julho 2012 n (%)			Total n (%)		
	Integral	Desnatado	Total	Integral	Desnatado	Total	Integral	Desnatado	Total
13	1 (6,7)	0 (0,0)	1 (3,3)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	1 (3,3)	0 (0,0)	1 (1,7)
14	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	3 (20,0)	1 (6,7)	4 (13,3)	3 (10,0)	1 (3,3)	4 (6,7)
15	1 (6,7)	3 (20,0)	4 (13,3)	1 (6,7)	2 (13,3)	3 (10,0)	2 (6,7)	5 (16,7)	7 (11,7)
16	5 (33,3)	1 (6,7)	6 (20,0)	5 (33,3)	4 (26,7)	9 (30,0)	10 (33,3)	5 (16,7)	15 (25,0)
17	7 (46,7)	5 (33,3)	12 (40,0)	4 (26,7)	5 (33,3)	9 (30,0)	11 (36,7)	10 (33,3)	21 (35,0)
18	1 (6,7)	5 (33,3)	6 (20,0)	2 (13,3)	3 (20,0)	5 (16,7)	3 (10,0)	8 (26,7)	11 (18,3)
19	0 (0,0)	1 (6,7)	1 (6,7)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	1 (3,3)	1 (1,7)
mínimo	13	15	13	14	14	14	13	14	13
máximo	18	19	19	18	18	18	18	19	19
média	16,3	17	16,7	16,1	16,5	16,3	16,2	16,7	16,5
desvio padrão	1,2	1,3	1,2	1,3	1,2	1,3	1,2	1,2	1,3

Fonte: Elaboração do autor

Tabela 5 –Distribuição de acordo com os resultados do pH análise estatística em 60 amostras de leite UHT comercializadas em Londrina-PR entre novembro de 2011 e julho de 2012.

pH	1° coleta novembro 2011 n (%)			2° coleta maio a julho 2012 n (%)			Total n (%)		
	Integral	Desnatado	Total	Integral	Desnatado	Total	Integral	Desnatado	Total
< 6,4	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
6,4 - 6,8	13 (86,7)	12 (80,0)	25 (83,3)	9 (60,0)	13 (86,7)	22 (73,3)	22 (73,3)	25 (83,3)	47 (78,3)
> 6,8	2 (13,3)	3 (20,0)	5 (16,7)	6 (40,0)	2 (13,3)	8 (26,7)	8 (26,7)	5 (16,7)	13 (21,7)
média	6,74	6,76	6,75	6,77	6,73	6,75	6,76	6,74	6,75
desvio padrão	0,07	0,08	0,07	0,09	0,10	0,10	0,08	0,09	0,09
mínimo	6,63	6,59	6,59	6,64	6,45	6,45	6,63	6,45	6,45
máximo	6,86	6,88	6,88	6,97	6,86	6,97	6,97	6,88	6,97

Fonte: Elaboração do autor

Tabela 6 –Distribuição de acordo com os resultados de contagem de células somáticas (CCS) e análise estatística em 60 amostras de leite UHT comercializadas em Londrina-PR entre novembro de 2011 e julho de 2012

Contagem de células somáticas (CCS)	1° coleta novembro 2011 n (%)			2° coleta maio a julho 2012 n (%)			Total n (%)		
	Integral	Desnatado	Total	Integral	Desnatado	Total	Integral	Desnatado	Total
< 10.000	8 (53,3)	10 (66,7)	18 (60,0)	6 (40,0)	7 (46,7)	13 (43,3)	14 (46,7)	17 (56,7)	31 (51,7)
10.000 F- 50.000	4 (26,7)	5 (33,3)	9 (30,0)	7 (46,7)	7 (46,7)	14 (46,7)	11 (36,7)	12 (40,0)	23 (38,3)
50.000 F- 100.000	3 (20,0)	0 (0,0)	3 (0,0)	0 (0,0)	1 (6,7)	1 (3,3)	3 (10,0)	1 (3,3)	4 (6,7)
≥100.000	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	2 (13,3)	0 (0,0)	2 (6,7)	2 (6,7)	0 (0,0)	2 (3,3)
média	18.533	12.333	15.433	25.400	15.133	20.267	21.967	21.967	17.850
desvio padrão	25.439	11.848	19.751	41.725	21.639	33.072	34.133	34.133	27.117
mínimo	1.000	1.000	1.000	2.000	2.000	2.000	1.000	1.000	1.000
máximo	72.000	45.000	72.000	130.000	86.000	130.000	130.000	130.000	130.000

Fonte: Elaboração do autor

Tabela 7 –Distribuição de acordo com os resultados de proteína e análise estatística em 60 amostras de leite UHT comercializadas em Londrina- PR entre novembro de 2011 e julho de 2012.

Proteína	1° coleta novembro 2011 n (%)			2° coleta maio a julho 2012 n (%)			Total n (%)		
	Integral	Desnatado	Total	Integral	Desnatado	Total	Integral	Desnatado	Total
<3,0	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
3,0 F- 3,5	15(100,0)	15(100,0)	30 (100,0)	15(100,0)	7 (46,70)	22 (73,3)	30 (100,0)	22 (73,3)	52 (86,7)
≥ 3,5	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	8 (53,3)	8(26,7)	0 (0,0)	8 (26,7)	8 (13,3)
média	3,22	3,38	3,30	3,25	3,45	3,35	3,24	3,42	3,33
desvio padrão	0,09	0,09	0,12	0,11	0,14	0,16	0,10	0,12	0,14
mínimo	3,06	3,14	3,06	3,03	3,23	3,03	3,03	3,14	3,03
máximo	3,37	3,49	3,49	3,37	3,61	3,61	3,37	3,61	3,61

Fonte: Elaboração do autor

Tabela 8 –Distribuição de acordo com os resultados de lactose e análise estatística em 60 amostras de leite UHT comercializadas em Londrina-PR entre novembro de 2011 e julho de 2012.

Lactose	1° coleta novembro 2011 n (%)			2° coleta maio a julho 2012 n (%)			Total n (%)		
	Integral	Desnatado	Total	Integral	Desnatado	Total	Integral	Desnatado	Total
< 4,0	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
4,0 F- 4,5	11 (73,3)	7 (46,7)	18 (60,0)	14 (93,3)	12 (80,0)	26 (86,7)	25 (83,3)	19 (63,3)	44 (73,3)
4,5 F- 5,0	4 (26,7)	8 (53,3)	12 (40,0)	1 (6,7)	2 (13,3)	3 (10,0)	5 (16,7)	10 (33,3)	15 (25,0)
≥ 5,0	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	1 (6,7)	1 (3,3)	0 (0,0)	1 (3,3)	1 (1,7)
média	4,41	4,48	4,45	4,34	4,51	4,42	4,38	4,50	4,44
desvio padrão	0,10	0,12	0,12	0,10	0,30	0,24	0,11	0,23	0,19
mínimo	4,26	4,26	4,26	4,16	4,26	4,16	4,16	4,26	4,16
máximo	4,56	4,68	4,68	4,54	5,52	5,52	4,56	5,52	5,52

Fonte: Elaboração do autor

Tabela 9 – Distribuição de acordo com os resultados de crioscopia e análise estatística em 60 amostras de leite UHT comercializadas em Londrina-PR entre novembro de 2011 e julho de 2012.

Crioscopia (°H)	1° coleta novembro 2011 n (%)			2° coleta maio a julho 2012 n (%)			Total n (%)		
	Integral	Desnatado	Total	Integral	Desnatado	Total	Integral	Desnatado	Total
<-0,650	0 (0,0)	1 (6,7)	1 (3,3)	0 (0,0)	1 (6,7)	1 (3,3)	0 (0,0)	2 (6,7)	2 (3,3)
-560 F -0,550	0 (0,0)	1 (6,7)	1 (3,3)	3 (20,0)	2 (13,3)	5 (16,7)	3 (10,0)	3 (10,0)	6 (10,0)
-0,550 F -05,40	11 (73,3)	9 (60,0)	20 (66,7)	10 (66,7)	7 (46,7)	17 (56,7)	21 (70,0)	16 (53,3)	37 (61,7)
-0,540 F -0,530	4 (26,7)	4 (26,7)	8 (26,7)	2 (13,3)	4 (26,7)	6 (20,0)	6 (20,0)	8 (26,7)	14 (23,3)
≥-0,530	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	1 (6,7)	1 (3,3)	0	1 (3,3)	1 (1,7)
média	-0,543	-0,545	-0,544	-0,546	-0,545	-0,548	-0,544	-0,545	-0,545
desvio padrão	0,004	0,007	0,006	0,007	0,009	0,008	0,006	0,008	0,007
mínimo	-0,549	-0,562	-0,562	-0,558	-0,565	-0,565	-0,558	-0,565	-0,565
máximo	-0,535	-0,535	-0,535	-0,535	-0,528	-0,528	-0,535	-0,528	-0,528

Fonte: Elaboração do autor

Tabela 10 – Distribuição de acordo com os resultados da densidade e análise estatística em 60 amostras de leite UHT comercializadas em Londrina-PR entre novembro de 2011 e julho de 2012.

Densidade (g/cm ³)	1° coleta novembro 2011 n (%)			2° coleta maio a julho 2012 n (%)			Total n (%)		
	Integral	Desnatado	Total	Integral	Desnatado	Total	Integral	Desnatado	Total
< 1029,00	1 (6,7)	0 (0,0)	1 (3,3)	1 (6,7)	0 (0,0)	1 (3,3)	2 (6,7)	0 (0,0)	2 (3,3)
1029,00 F 1030,00	2 (13,3)	0 (0,0)	2 (6,7)	3 (20,0)	0 (0,0)	3 (10,0)	5 (16,7)	0 (0,0)	5 (8,3)
1030,00 F 1031,00	7 (46,7)	1 (6,7)	8 (26,7)	6 (40,0)	0 (0,0)	6 (20,0)	13 (43,3)	1 (3,3)	14 (23,3)
1031,00 F 1032,00	4 (26,7)	0 (0,0)	4 (13,3)	5 (33,3)	0 (0,0)	5 (16,7)	9 (30,0)	0 (0,0)	9 (15,00)
1032,00 F 1033,00	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	1 (6,7)	1 (3,3)	0 (0,0)	1 (3,3)	1 (1,7)
1033,00 F 1034,00	1 (6,7)	1 (6,7)	2 (6,7)	0 (0,0)	3 (20,0)	3 (10,0)	1 (3,3)	4 (13,3)	5 (8,3)
1034,00 F 1035,00	0 (0,0)	3 (20,0)	3 (10,0)	0 (0,0)	5 (33,3)	5 (16,7)	0 (0,0)	8 (26,7)	8 (13,3)
1035,00 F 1036,00	0 (0,0)	9 (60,0)	9 (30,0)	0 (0,0)	5 (33,3)	5 (16,7)	0 (0,0)	14 (46,7)	14 (23,3)
> 1036,00	0 (0,0)	1 (6,7)	1 (3,3)	0 (0,0)	1 (6,7)	1 (3,3)	0 (0,0)	2 (6,7)	2 (3,3)
média	1030,08	1034,59	1032,30	1030,29	1034,37	1032,30	1030,19	1034,40	1032,30
desvio padrão	2,66	3,10	3,10	0,90	1,10	2,30	1,95	1,25	2,70
mínimo	1021,00	1030,00	1021,00	1027,80	1032,20	1027,80	1021,00	1030,00	1021,00
máximo	1033,00	1036,00	1036,00	1031,40	1036,20	1036,20	1031,40	1036,20	1036,20

Fonte: Elaboração do autor

Tabela 11 – Distribuição de acordo com os resultados de sedimentação e análise estatística em 60 amostras de leite UHT comercializadas em Londrina-PR entre novembro de 2011 e julho de 2012.

Sedimentação (g)	1° coleta novembro 2011 n (%)			2° coleta maio a julho 2012 n (%)			Total n (%)		
	Integral	Desnatado	Total	Integral	Desnatado	Total	Integral	Desnatado	Total
< 0,010	7 (46,7)	10 (66,7)	17 (56,7)	2 (13,3)	7 (46,7)	9 (30,0)	9 (30,0)	17 (56,7)	26 (43,3)
0,010 F 0,050	6 (40,0)	5 (33,3)	11 (36,7)	7 (46,7)	6 (40,0)	13 (43,3)	13 (43,3)	11(36,7)	24 (40,0)
0,050 F 0,100	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	1 (6,7)	2 (13,3)	3 (10,0)	1 (3,3)	2 (6,7)	3 (5,0)
0,100 F 0,150	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	3 (20,0)	0 (0,0)	3 (10,0)	3 (10,0)	0 (0,0)	3 (5,0)
≥0,150	2 (13,3)	0 (0,0)	2 (6,7)	2 (13,3)	0 (0,0)	2 (6,7)	4 (13,3)	0 (0,0)	4 (6,7)
média	0,037	0,01	0,024	0,122	0,015	0,069	0,080	0,013	0,046
desvio padrão	0,066	0,012	0,049	0,198	0,019	0,149	0,151	0,016	0,112
mínimo	0,002	0,000	0,000	0,006	0,000	0,000	0,002	0,000	0,000
máximo	0,201	0,046	0,201	0,636	0,065	0,636	0,633	0,065	0,633

Fonte: Elaboração do autor

Tabela 2 –Distribuição de acordo com os resultados de fraudes em 60 amostras de leite UHT comercializadas em Londrina-PR entre novembro de 2011 e julho de 2012.

Acidez (D°)	1° coleta novembro 2011 n (%)			2° coleta maio a julho 2012 n (%)			Total n (%)		
	Integral	Desnatado	Total	Integral	Desnatado	Total	Integral	Desnatado	Total
Neutralizantes fenolfitaleína	0 (0,0)	1 (6,7)	1 (3,3)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	1 (3,3)	1 (1,7)
Antibióticos	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
Água oxigenada	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
Formol	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
Cloro	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
Hipoclorito	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
Álcool	2 (13,3)	0 (0,0)	2 (6,7)	1 (6,7)	0 (0,0)	1 (3,3)	3 (10,0)	0 (0,0)	3 (5,1)
Amido	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
Cloretos	2 (13,3)	0 (0,0)	2 (6,7)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	2 (6,7)	0 (0,0)	2 (3,3)
Sacarose	0 (0,0)	2 (13,35)	2 (6,7)	1 (6,7)	4 (26,7)	5 (16,7)	1 (3,3)	6 (20,0)	7 (11,7)

APÊNDICE D

RESULTADOS DA PESQUISA DE SORO DE QUEIJO POR AMOSTRA

Tabela 1 – Resultados das concentração de CMP por amostra, em 30 amostras de leite UHT integral comercializadas em Londrina-PR entre novembro de 2011 e julho de 2012.

Amostra	CMP (mg/L ⁻¹)
1	58,13
2	58,50
3	51,27
4	65,48
5	49,34
6	131,36
7	11,57
8	16,50
9	63,00
10	65,55
11	30,19
12	157,22
13	93,61
14	178,39
15	50,97
16	52,36
17	44,74
18	102,20
19	44,62
20	51,84
21	39,40
22	110,09
23	88,64
24	83,81
25	68,47
26	87,66
27	92,28
28	76,44
29	54,75
30	53,83

Tabela 2 – Distribuição das 30 amostras de leite UHT comercializadas em Londrina-PR em novembro de 2011, de acordo com os resultados da concentração de CMP.

Faixa da concentração de CMP em mg/L ⁻¹	Integral	Desnatado	Total
<25	1 (6,7)	1 (6,7)	2 (6,7)
25 F- 50	5 (33,3)	0 (0,0)	5 (16,6)
50 F- 75	6 (40,0)	6 (40,0)	12 (40,0)
75 F- 100	3 (20,0)	3 (20,0)	6 (20,0)
100 F- 125	0 (0,0)	2 (13,3)	2 (6,7)
125 F- 150	0 (0,0)	1 (6,6)	1 (3,3)
≥150	0 (0,0)	2 (13,3)	2 (6,7)
média	56,07	86,08	71,07
desvio padrão	22,79	43,40	37,32
mínimo	11,57	16,50	11,57
máximo	93,61	178,39	178,39

Fonte: Elaboração do autor