

**EFEITO DA QUALIDADE
MICROBIOLÓGICA E DO DESNATE DO
LEITE CRU NA QUALIDADE E VIDA ÚTIL
DO LEITE PASTEURIZADO TIPO C**

LUIZ ANTÔNIO MICCOLI TEIXEIRA

2000

49352

MFN34583

LUIZ ANTÔNIO MICCOLI TEIXEIRA

**EFEITO DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA
E DO DESNATE DO LEITE CRU NA
QUALIDADE E VIDA ÚTIL DO LEITE
PASTEURIZADO TIPO C**

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Lavras,
como parte das exigências do
Curso de Pós-graduação em
Ciência dos Alimentos, para
obtenção do título de "Mestre".

Orientador
Luiz Ronaldo de Abreu

LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL
2000

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da
Biblioteca Central da UFLA**

Teixeira, Luiz Antônio Miccoli

Efeito da qualidade microbiológica e do desnate do leite cru na qualidade e vida útil do leite pasteurizado do tipo C / Luiz Antonio Miccoli Teixeira. -- Lavras : UFLA, 2000.

41 p. : il.

Orientador: Luiz Ronaldo de Abreu.

Dissertação (Mestrado) – UFLA.

Bibliografia.

1. Leite. 2. Pasteurização. 3. Qualidade. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD-637.1

LUIZ ANTÔNIO MICCOLI TEIXEIRA

**EFEITO DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA
E DO DESNATE DO LEITE CRU NA
QUALIDADE E VIDA ÚTIL DO LEITE
PASTEURIZADO TIPO C**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Curso de Pós-graduação em Ciência dos Alimentos, Área de Concentração Química, Físico-química e Bioquímica de Alimentos, para obtenção do título de “Mestre”.

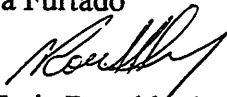
APROVADA em 27 de Fevereiro de 2000.

Profª Eliana Pinheiro de Carvalho

UFLA

Prof. Marco Antônio Moreira Furtado

UFJF



Prof. Luiz Ronaldo de Abreu

UFLA

(Orientador)

LAVRAS
MINAS GERAIS – BRASIL

Aos meus pais, José e Walkiria,

Às minhas avós, Aparecida e Matilde,

Aos meus avôs, Dante e Washington (*in memoriam*),

Ao meu irmão César,

À minha esposa Janete

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Deus, por todas as oportunidades que Ele me tem dado.

À Universidade Federal de Lavras e ao Departamento de Ciência dos Alimentos, pela oportunidade de realização deste curso.

À FAPEMIG e FIEMG, pela concessão da bolsa de estudo.

Aos Professores Luiz Ronaldo de Abreu e Eliana Pinheiro de Carvalho, pela orientação, ensinamentos, apoio e amizade.

Ao Presidente e Diretores da Cooperativa Agrícola Alto Rio Grande Ltda., pelo apoio e interesse demonstrados no decorrer do presente trabalho.

A todos os funcionários da Cooperativa Agrícola Alto Rio Grande Ltda.

Aos funcionários do Departamento de Ciência dos Alimentos: Cleusa, Eliane, Gicelda, Sr. Miguel, Sr. Piano e Adriana, pelo apoio recebido.

Aos amigos Celso José de Moura e Rodrigo Lobo, pela amizade, incentivo e grande apoio na realização das análises experimentais.

Aos amigos da pós-graduação: Gilson, Rogério, Daise, Ivana, Cristiane, Alexandre e Sandra, pela ajuda e amizade.

Aos amigos Leonardo Xavier, Cristiane Amorim, Juliana e André, pela disponibilidade e amizade.

A todos os professores, funcionários e amigos, pela colaboração, amizade e convivência.

Aos professores Carlos Alberto e Aloísio, do Departamento de Zootecnia.

A todos que, de algum modo, tenham colaborado para a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

RESUMO	i
ABSTRACT	ii
1 INTRODUÇÃO	1
2 REFERENCIAL TEÓRICO	4
2.1 Qualidade microbiológica do leite cru	4
2.2 Pasteurização do Leite	8
2.3 Teste de Redutase.....	10
3 MATERIAL E METODOS	11
3.1 Tratamentos	11
3.2 Análises do leite cru	12
3.2.1 Microbiológicas.....	12
3.2.2 Físico-químicas	12
3.3 Ajuste do teor de gordura do leite	13
3.4 Pasteurização do leite	13
3.5 Análises do leite pasteurizado	14
3.5.1 Microbiológicas.....	14
3.5.2 Físico-químicas.....	14
3.6 Avaliação da vida útil do leite.....	14
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	15
4.1 Qualidade do leite cru.....	15
4.2 Processamentos do leite.....	18
4.3 Leite pasteurizado	22
4.3.1 Contagem de bactérias mesófilas.....	22
4.3.2 Bactérias psicrotróficas e Coliformes	24
4.3.3 Análises físico-químicas.....	26
4.4 Vida útil do leite pasteurizado.....	26
5 CONCLUSÕES	30
BIBLIOGRAFIA	31

RESUMO

TEIXEIRA, Luiz Antônio Miccoli. Efeito da qualidade microbiológica e do desnatado do leite cru na qualidade e vida útil do leite pasteurizado tipo C. Lavras: UFLA, 2000. 39 p. (Dissertação – Mestrado em Ciência dos Alimentos).

O leite de consumo deve obrigatoriamente passar por um tratamento térmico, sendo a pasteurização e a esterilização os mais utilizados. A pasteurização não destrói a totalidade dos microrganismos presentes nesse leite. Sendo assim, o trabalho aqui apresentado teve como objetivo principal melhorar a qualidade e aumentar a vida de prateleira do leite pasteurizado tipo C. O leite cru foi coletado em uma Cooperativa da região de Lavras, Minas Gerais. As amostras foram então divididas em dois lotes, de acordo com a análise de redutase, sendo R1: redutase acima de 4:30 horas; R2: redutase abaixo de 4:30 horas. Cada lote foi dividido em quatro partes iguais, contendo 25 litros de leite em cada. A cada uma das partes foi aplicado um processamento diferente: a primeira parte do leite permaneceu integral; a segunda parte foi clarificado; na terceira parte, o leite foi padronizado em 3% de gordura; finalmente, na quarta parte o leite foi totalmente desnatado. Após esse processamento, fez-se a pasteurização do leite em sistema HTST, a 73°C por 15 segundos, embalagem em recipientes esterilizados, e conservação em câmara fria a $4 \pm 1^\circ\text{C}$. Tanto no leite cru, como no pasteurizado, foram realizadas análises microbiológicas de contagem total de microrganismos mesófilos e psicotróficos, bem como NMP de coliformes totais e fecais. Foi também avaliada a vida de prateleira desses leites. Os resultados verificaram uma maior vida útil no leite desnatado, tanto no lote R1 como no lote R2, e uma vida de prateleira mais prolongada no lote R1 em relação a R2, independente do processamento aplicado.

Comitê Orientador: Prof. Luiz Ronaldo de Abreu – UFLA (Orientador), Eliana Pinheiro de Carvalho – UFLA.

ABSTRACT

TEIXEIRA, Luiz Antônio Miccoli. **Effect of microbiological quality and creaming of the raw milk on quality and shelf life of the pasteurized type “C” milk.** Lavras: UFLA, 2000. 39 p. (Dissertação – Mestrado em Ciência dos Alimentos).

Consumable milk must undergo heat treatment, with sterilization and pasteurization being the most utilized. The pasteurization process does not destroy the totality of microorganisms present in milk. Given that the main objective of this project was to increase the quality and extend the shelf life of pasteurized type “C” milk. Raw milk was collected from a plant located in the region of Lavras, Minas Gerais. The samples were then divided into two groups, based on their reductase analysis, being: R1 – time of reduction being longer than 4.5 hrs and R2 – shorter than 4.5 hrs. Each portion was divided into four equal parts, containing 25 litres each. Each part received a different treatment. The first one remained as whole milk, the second was clarified, the third was standardized to 3.0% of fat and the fourth was totally skimmed. After this, the four groups were submitted to the pasteurization process (HTST system - 73° C/15 sec.), packed in sterilized material, and stored in a cold chamber ($4 \pm 1^\circ \text{C}$). A microbiological analysis was performed in both raw and pasteurized milks (total count of mesophilic and psychrotrophics, total and fecal coliforms). The shelf life was also evaluated. The results indicated that a longer shelf life was observed for the skim milk, in both R1 and R2 compared to the whole one. Regardless the processing applied, the milk with shorter reductase time presented a longer shelf life than the one with long reductase time, indicating that the reductase analysis can be a very good adviser to screen type “C” milk to be pasteurized and commercialized as consumable.

Guidance Committee: Prof. Luiz Ronaldo de Abreu – UFLA (Major Professor),
Eliana Pinheiro de Carvalho – UFLA.

1 INTRODUÇÃO

O leite de consumo, mesmo de procedência conhecida, obtido de rebanhos de comprovada sanidade, de ordenha higiênica e bem manipulado, deve ser necessariamente tratado termicamente, quer seja pela pasteurização ou pela esterilização. Dessa forma, estaremos livrando esse importante produto alimentar de bactérias patogênicas e da grande maioria das fermentativas, evitando, com isso, a transmissão de doenças e aumentando consideravelmente sua vida útil. A oferta de leite de boa qualidade, juntamente com preços competitivos, deve ser a meta principal de toda usina que beneficia leite de consumo.

A qualidade, juntamente com o preço, se posicionam como os principais parâmetros para a aceitação de qualquer produto pelo consumidor. Dessa forma, a qualidade assume um papel relevante para a sobrevivência das empresas em geral e da de laticínios em particular. Essa importância é ainda maior, quando se tem em mente o novo mercado que se formou recentemente, com o advento da unificação dos mercados entre Brasil, Argentina, Uruguai e Paraguai, na forma do chamado MERCOSUL. Neste contexto, as indústrias de laticínios de nossa região enfrentam um novo desafio, o de elevar o padrão de qualidade de seus produtos, para poderem concorrer satisfatoriamente com as indústrias dos países envolvidos nesse novo mercado. Junta-se a isso o fato de que os padrões de qualidade no comércio interno têm se desenvolvido, ao longo dos anos, por meio de grupos de consumidores e agências governamentais, federais ou locais.

Existe ainda, no Brasil, a classificação do leite em três tipos: A, B e C (Ministério da Agricultura, 1987), diferenciados entre si por vários fatores, dentre os quais o controle sanitário do rebanho, diferenças na obtenção

higiênica, refrigeração imediata após a ordenha, contagem de microrganismos antes e depois da ordenha, dentre outros. Dessa forma, a produção do leite tipo A é mais rigorosa e a do C, menos. Entretanto, pelas próprias condições da pecuária leiteira no Brasil, a maioria do leite pasteurizado produzido ainda é do tipo C, embora já existam estudos para eliminar essa classificação para o surgimento de um único tipo de leite de consumo.

Entretanto, essa modificação não se realizará em um futuro próximo. Devido a fatores mercadológicos, o leite tipo “Longa Vida” tem experimentado um grande aumento em sua produção, acarretando uma competição com o leite pasteurizado, principalmente o tipo C, o que vem preocupando setores das indústrias de laticínios e técnicos da área, que temem uma redução drástica no consumo de leite pasteurizado, fazendo com que muitas indústrias deixem de produzi-lo, o que poderia acarretar problemas mercadológicos futuros. Dessa forma, torna-se necessário que as usinas que produzem o leite pasteurizado concentrem esforços no sentido de melhorar a qualidade desse leite, bem como aumentar sua vida de prateleira, para que o consumidor tenha a confiança de estar adquirindo um produto de boa qualidade, seguro para sua saúde e de bom valor nutritivo.

Como o processo de pasteurização no Brasil se baseia em modelos importados, em que a qualidade do leite é sabidamente melhor que a nossa, é necessário, também, que se proponha um leite produzido de maneira apropriada, sendo manejado adequadamente desde a ordenha até a comercialização, passando pelo processamento e envase. Junta-se a isso o fato de que após produzido, o leite é enviado ao mercado, no qual nem sempre é conservado de maneira apropriada.

Face ao exposto, o presente projeto teve como objetivos:

Objetivo geral:

Avaliar a melhoria da qualidade e o aumento da vida de prateleira do leite pasteurizado tipo C.

Objetivos específicos:

- Estudar a influência que a qualidade microbiológica da matéria prima exerce na qualidade do leite pasteurizado.
- Verificar a eficiência do teste de redutase como método de triagem do leite destinado ao consumo.
- Elucidar a influência que o desnate, total ou parcial, tem na qualidade microbiológica do leite pasteurizado.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Qualidade microbiológica do leite cru

O leite pode ser definido como sendo o produto normal, fresco, integral, oriundo da ordenha completa e ininterrupta de vacas sadias. Considera-se leite normal, o produto que apresenta, entre outros fatores, teor de gordura mínimo de 3 %, acidez em graus Dornic entre 15 e 20, densidade a 15°C entre 1.028 e 1.033, ESD mínimo de 8,5 %, EST mínimo de 11,5 % e índice crioscópico mínimo de -0,55°C (Ministério da Agricultura, 1987).

A qualidade do leite é resultado de fatores que englobam aspectos físico-químicos, biológicos, organolépticos, sanitários e microbiológicos (Moura, 1997). Segundo Silva (1991) e Gomes (1988), a qualidade bacteriológica do leite é um dos principais fatores responsáveis pela manutenção das suas características químicas e organolépticas em níveis adequados.

O leite destinado ao consumo nunca está totalmente livre de microrganismos, já que a contaminação se inicia nos canais lactíferos, e aumenta à medida que se aproxima do meio externo (Oliveira, 1976). Essa contaminação não deve exceder os limites estabelecidos para o número máximo de bactérias patogênicas permitido por mililitro de leite (Baruffaldi *et alii*, 1984), definindo, assim, a qualidade microbiológica do leite. Essa qualidade é afetada pelas condições de produção, de estocagem (na fazenda) e de transporte. Silva (1991) verificou que a contagem de microrganismos mesófilos, no leite resfriado imediatamente após a ordenha, foi menor do que a do mesmo leite resfriado após a recepção na usina, o que ocorreu principalmente devido ao seu transporte e à temperatura ambiente, da fazenda até a usina.

Em estudos com leites provenientes de ordenha manual e mecânica, Huhn *et alii* (1980) obtiveram elevadas contagens de

microrganismos, principalmente dos termodúricos, nas amostras obtidas por ordenha mecânica.

Costa, Carvalho e Carvalho (1984) também analisaram leite obtido de ordenha mecânica, verificando que a contagem de coliformes superou a obtida em leite de ordenha manual, o que indica uma possível higienização deficiente dos equipamentos de ordenha.

Oliveira e Borges (1984) obtiveram contagem microbiana global elevada em amostras de leite pasteurizado, como consequência da baixa qualidade do leite cru, levando a uma deterioração do produto no prazo de 48 horas de estocagem em refrigerador doméstico.

Segundo Kessler, citado por Lima, Pinheiro e Teixeira (1992), a redução do número de microrganismos na pasteurização não depende somente de seu número inicial, mas também do tipo envolvido, não se observando correlação entre as populações iniciais e o número de sobreviventes.

Os microrganismos presentes dependem quase que exclusivamente das fontes de contaminação. O leite, logo após a ordenha, apresenta uma resistência natural devido à presença de inibidores bacterianos, como as lacteninas, presentes em 3 frações: lacteninas 1, 2 e 3, sendo que a lactenina 1 está no colostro e a lactenina 2, no leite até 1 hora após a ordenha, e constitui o sistema lactoperoxidase-tiocianato-peróxido de hidrogênio. A ação inibidora de ambas é bacteriostática (Alais, 1991).

Sendo assim, a maioria dos microrganismos se multiplica após a contaminação do leite, havendo uma fase de latência, chamada de *lag-phase*, em que a taxa de reprodução é insignificante. A duração dessa fase é de 3-4 horas, sendo função da temperatura em que o leite é mantido, sendo mais longa em baixas temperaturas. Mas mesmo nessas condições, a duração dessa fase pode ser reduzida quando os microrganismos se desenvolveram anteriormente, como, por exemplo, em utensílios mal higienizados (Foster, 1965; Gehriger, 1980).

Gehrig (1980) concluiu que entre 2 e 4°C existe um tempo crítico de estocagem do leite, situado entre 60 e 72 horas. Verificou que os microrganismos psicrotróficos apareceram em níveis baixos ao final do primeiro dia, mas se tornaram dominantes após 2 a 3 dias de estocagem. Concluiu também que um fator importante na estocagem é o nível de contaminação inicial, que depende de cuidados durante a produção do leite.

Segundo Oliveira (1976), as alterações observadas no leite, decorrentes da ação dos microrganismos, são variáveis, dependendo principalmente do tipo de microrganismo presente. Em geral, no desenvolvimento da microbiota presente, são decompostos um ou mais componentes do leite, levando a alterações das características físicas e organolépticas do produto, sendo que essas alterações serão percebidas mesmo após o tratamento térmico.

A microbiota do leite pode ser dividida em 3 grupos de microrganismos: mesófilos, psicrotróficos e termófilos/termodúricos. No grupo dos mesófilos é que está incluída a maioria dos contaminantes do leite.

Os psicrotróficos são bactérias que crescem a temperaturas de refrigeração comercial (2 a 7°C), independente de sua temperatura ótima de crescimento (Robinson, 1987). A temperatura ótima de muitos psicrotróficos está na faixa mesofílica (20-45°C), segundo Bishop e White (1986).

De acordo com Fairbairn e Law (1986), o leite logo após a ordenha possui uma carga inicial de psicrotróficos baixa (aproximadamente 10 % da carga total), mas que pode se tornar dominante caso o leite fique sob temperatura ambiente por algum tempo.

Os psicrotróficos gram negativos são destruídos pela pasteurização, mas suas enzimas não são inativadas, enquanto os gram positivos podem não ser destruídos pela pasteurização (Crielly, Logan e Anderton, 1994; Schraft *et al.*, 1996).

Vem daí a importância desse grupo de microrganismo para o leite pasteurizado, uma vez que leites refrigerados podem desenvolver alterações de *flavor*, apresentando sabor amargo ou pútrido, ranço ou sabor de frutas (Alfenas, 1994). Segundo Lima (1988), para uma armazenagem segura do leite por 72 horas, sua contagem inicial de psicrotróficos não deve exceder 10^3 UFC/ml. De acordo com Shroeder e Bland (1984), essas bactérias são destruídas pelo tratamento térmico quando estão em números baixos, mas quando estiverem com contagens próximas a 10^6 ufc/ml, podem sobreviver.

A melhor forma de evitar altas contagens iniciais desse tipo de microrganismo é na produção do leite. A higienização correta e eficiente dos equipamentos de ordenha ajuda muito no controle desse tipo de microrganismo. De acordo com Birkeland, Stepaniak e Sorhaug (1985), estas bactérias podem sobreviver muito tempo em resíduos de leite em equipamentos de ordenha e/ou em equipamentos de pasteurização ou tratamento UHT.

Os psicrotróficos produzem enzimas extracelulares (lipases e proteases), que têm papel importante no sabor do leite e produtos derivados, podendo propiciar aparecimento de sabor amargo e/ou ranço (Furtado, Wolfschoon-Pombo e Ventura, 1988), e essas enzimas não podem ser destruídas pela pasteurização convencional (Zall e Chan, 1981).

Os mesófilos são também um grupo importante, pois incluem a maioria dos microrganismos acidificantes e se desenvolvem a temperaturas entre 20 e 45°C, com tempo ótimo em torno de 30 a 40°C (Jay, 1994). Além disso, vários gêneros desses microrganismos são termorresistentes.

Os termófilos são definidos como aquelas bactérias cuja temperatura ótima de crescimento está entre 55 e 65°C, podendo atingir até 75 a 90°C por algumas espécies como máximo, e 35°C por outras (I.C.M.S.F., 1980). O leite cru normalmente tem poucos termófilos, mas é o suficiente para se desenvolverem no leite mantido a temperaturas elevadas.

A presença de coliformes, por sua vez, normalmente é considerada como índice das condições higiênico-sanitárias que prevalecem na produção e no processamento dos alimentos (I.C.M.S.F., 1980). A presença desses microrganismos no leite pasteurizado indica falhas na pasteurização, ou então uma contaminação pós-processamento (Marth, 1978).

2.2 Pasteurização do Leite

Entende-se por pasteurização o emprego conveniente do calor, com o fim de destruir totalmente a flora microbiana patogênica sem alteração sensível da constituição física e do equilíbrio do leite, sem prejuízo dos seus elementos bioquímicos, assim como de suas propriedades organolépticas normais (Ministério da Agricultura, 1987).

O objetivo da pasteurização do leite é livrá-lo de qualquer organismo capaz de causar doenças, e reduzir a contagem total de bactérias, a fim de melhorar sua conservação. A pasteurização também destrói lipases e outras enzimas naturais do leite (Potter e Hotchkiss, 1995).

A combinação de temperatura e tempo de retenção é muito importante, uma vez que determina a intensidade do tratamento térmico. Essa combinação tempo/temperatura é determinada pelo tipo de microrganismo que se deseja destruir. Como exemplos, podemos citar as bactérias do grupo coliforme, que são destruídas se o leite for tratado a 70°C por 1 segundo. Se a temperatura for de 65°C, o tempo necessário passa para 10 segundos (Bylund, 1995).

Sendo assim, a intensidade do tratamento térmico necessário é determinada pela resistência térmica da enzima ou microrganismo de maior resistência ao calor. A pasteurização do leite foi baseada no *Mycobacterium tuberculosis* e *Coxiella burnetti*, mas com a descoberta de novos patógenos, a temperatura e o tempo necessários durante a pasteurização vêm sendo continuamente estudados.

O leite pasteurizado não é estéril, e necessita ser rapidamente resfriado após a pasteurização para evitar a multiplicação das bactérias sobreviventes. A pasteurização a

temperaturas adequadas não tem efeitos significativos sobre o valor nutricional do leite (Potter e Hotchkiss, 1995).

Pode ser encontrado um reduzido número de microrganismos, principalmente psicrotróficos, que sobrevive ao processo da pasteurização ou esterilização (Patel, Bartlett e Hamid, 1983).

Microrganismos esporogênicos são bactérias que podem contaminar o leite durante a produção na fazenda e sobreviver ao tratamento térmico, durante o processamento (Thielmann, 1995). O leite cru de média qualidade microbiana, tratado a 80°C por 12 minutos, ainda contém microrganismos viáveis após o tratamento térmico, certamente em forma de esporos (Mikolajcik e Simon, 1978).

A higienização dos equipamentos nas usinas também se revela importante. Johnston e Bruce (1982) mencionam que a contagem de esporos em amostras de leite pasteurizado pode ser maior do que em amostras de leite cru, podendo ser causada por contaminação com esporos do equipamento.

No Brasil, a legislação vigente (Ministério da Agricultura, 1987) permite dois processos de pasteurização, a saber: a) pasteurização lenta, que consiste no aquecimento do leite a 62 - 65°C por 30 minutos, mantendo-se o leite em grande volume sob agitação mecânica lenta, e b) pasteurização de curta duração, que consiste no aquecimento do leite em camada laminar a 72 - 75°C por 15 a 20 segundos, em aparelhagem própria. A legislação cita também que após o aquecimento, o leite deve ser refrigerado entre 2 e 5°C e em seguida engarrafado.

Lima, Pinheiro e Teixeira (1992), trabalhando com várias temperaturas diferentes de pasteurização, e tempo de 15 segundos, concluíram que apenas os tratamentos a temperaturas entre 76 e 82°C foram capazes de reduzir a população mesofílica aos níveis preconizados pelo regulamento do Ministério da Agricultura (1987), que é de 150.000 por mililitro de leite, o que leva a crer que

o Ministério da Agricultura se baseou em legislações estrangeiras, não considerando a qualidade microbiológica do leite produzido no país.

2.3 Teste de Redutase

O teste de redutase se baseia no fato de a maioria das bactérias que se desenvolvem no leite abaixarem o potencial de oxi-redução, provocando mudança da cor de certos corantes, estimando indiretamente o número de bactérias nas amostras de leite, o que determina mudança no substrato, causada por atividade metabólica dos microrganismos presentes, diminuindo a quantidade de oxigênio dissolvido, e pela produção de metabólitos e algumas enzimas (Solberg *et alii*, 1974).

De acordo com A.P.H.A. (1978), o tempo de redução deve ser inversamente proporcional à população bacteriana.

O tempo de redução, porém, pode variar de acordo com o tipo de microrganismo presente. *Streptococcus lactis* (atual *Lactococcus lactis*), por exemplo, reduz rapidamente o corante, sendo utilizado para detectar leites de qualidade inferior (Hamer, 1948).

Pedraza, Romero e Hargreaves (1978), estudando o grau de contaminação bacteriana no leite após sua passagem pelo equipamento de ordenha mecânica e outros fatores, concluíram que o método de redução do azul de metileno é de grande valor para se medir a qualidade bacteriológica do leite cru e que há uma alta correlação entre o teste de redução do corante e a contagem bacteriana.

3 MATERIAL E METODOS

O presente trabalho foi conduzido em conjunto com a Cooperativa Agrícola Alto Rio Grande, em Lavras, Minas Gerais. O leite foi coletado naquela Cooperativa, sendo o processamento desse leite, as análises físico-químicas e microbiológicas realizadas no Laboratório de Laticínios e de Microbiologia de Alimentos do Departamento de Ciência dos Alimentos da Universidade Federal de Lavras.

O leite foi dividido de acordo com a análise de redutase: acima de 4:30 horas (R1) e abaixo de 4:30 horas (R2). Foram utilizados 100 litros de leite de cada grupo (R1 e R2), sendo 3 repetições para cada. O leite com redutase acima de 4:30 horas foi submetido a refrigeração imediatamente após a ordenha, enquanto o leite com redutase abaixo de 4:30 horas foi submetido a refrigeração somente após os processamentos aplicados.

Foram realizadas análises físico-químicas e microbiológicas. O teor de gordura foi ajustado de acordo com os tratamentos indicados a seguir. O leite de cada tratamento foi pasteurizado, embalado e conservado em câmara fria à temperatura de $4 \pm 1^\circ\text{C}$.

3.1 Tratamentos

O experimento foi conduzido seguindo-se o seguinte esquema:

- 2 tempos de redutase: R1 – acima de 4:30 horas;
R2 – abaixo de 4:30 horas.
- 4 tipos de amostras: leite integral;
leite clarificado;
leite padronizado;
leite desnatado.

REDUTASE R1

Tratamento 1: leite integral – IR₁

Tratamento 2: leite clarificado – CR₁

Tratamento 3: leite padronizado – PR₁

Tratamento 4: leite desnatado – DR₁

- 3 repetições.

REDUTASE R2

Tratamento 5: leite integral – IR₂

Tratamento 6: leite clarificado – CR₂

Tratamento 7: leite padronizado – PR₂

Tratamento 8: leite desnatado – DR₂

Os leites submetidos a desnate total ou parcial foram aquecidos à temperatura de 20°C.

3.2 Análises do leite cru

3.2.1 Microbiológicas

Microrganismos mesófilos: Após as devidas diluições em água peptonada estéril, foi feito o plaqueamento em meio de cultura PCA (Plate Count Agar). As placas foram incubadas por 48 horas, a 32°C, conforme técnica descrita por Brasil (1992).

Microrganismos psicotróficos: Após as devidas diluições em água peptonada estéril, foi feito o plaqueamento em meio de cultura PCA (Plate Count Agar). As placas foram incubadas por 9 dias, a 7°C, conforme técnica descrita por Brasil (1992).

Número mais provável de coliformes: Procedeu-se de acordo com o método do número mais provável (NMP) de coliformes, descrito por Brasil (1992), em série de 3 tubos contendo lauril sulfato.

Redutase: O teste de redutase foi realizado utilizando-se o corante azul de metileno, segundo técnica descrita por Demeter (1969).

3.2.2 Físico-químicas

Densidade: A densidade das amostras foi determinada pela leitura direta em um termolactodensímetro, segundo Quevenne, corrigindo-se o efeito da

temperatura segundo o método descrito na seção das Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (1985).;

Sólidos totais e desengordurados: Os teores de sólidos totais e desengordurados foram obtidos através da fórmula de Fleishmann, descrita por Brasil (1981).

Gordura: Os teores de gordura das amostras de leite foram determinados pelo método butirométrico de Gerber, descrito por Brasil (1981).

Acidez: A acidez das amostras do leite foi medida utilizando-se o método de titulação de acidez com hidróxido de sódio N/9 (solução Dornic), em presença de fenolftaleína, como descrito por Brasil (1981).

3.3 Ajuste do teor de gordura do leite

O teor de gordura do leite foi ajustado conforme desejado. Após aquecimento até 20°C, o leite foi desnatado (total ou parcialmente) em desnatadeira Alfa Laval, tipo centrífuga, no Laboratório de Laticínios do Departamento de Ciência dos Alimentos da Universidade Federal de Lavras.

Nos tratamentos 2 e 6, foi retirada a gordura, sendo esta posteriormente reintegrada ao leite desnatado.

Nos tratamentos 3 e 7, a padronização foi feita para 3,0% de gordura.

Nos tratamentos 4 e 8, foi obtido um leite com 0% de gordura.

3.4 Pasteurização do leite

O leite de cada tratamento foi pasteurizado pelo processo HTST, com temperatura de 73°C e tempo de retenção de 15 segundos.

Imediatamente após a pasteurização, foram realizadas as análises microbiológicas descritas no item 3.5, análises estas que foram repetidas 24 horas depois da pasteurização.

3.5 Análises do leite pasteurizado

3.5.1 Microbiológicas

- Microrganismos mesófilos;
- Microrganismos psicrotróficos;
- Coliformes totais e fecais;
- Redutase.

De acordo com técnicas descritas no item 3.2.1.

3.5.2 Físico-químicas

Fosfatase: O teste de fosfatase foi realizado utilizando-se comprimidos de Phos-Phax e Indo-Phax, conforme técnica descrita por Brasil (1981).

Peroxidase: Foi realizada a análise de peroxidase, utilizando-se solução alcoólica de guaiacol, como descrito por Brasil (1981).

3.6 Avaliação da vida útil do leite

Amostras de cada tratamento foram conservadas sob refrigeração a $4 \pm 1^\circ\text{C}$ e analisadas diariamente quanto à sua acidez Dornic, até que esta ultrapassasse aos 18°D , quando então, com exceção da Redutase, foram repetidas as mesmas análises microbiológicas descritas no item 3.5.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Qualidade do leite cru

A qualidade do leite engloba uma série de aspectos, dentre esses pode-se destacar: os aspectos físico-químicos, microbiológicos, a contagem de células somáticas e os atributos sensoriais, dentre outros. A contagem de microrganismos do leite, desempenha um papel dos mais importantes, pois é o principal fator que afeta a vida útil e exerce influência marcante nas outras características, principalmente na composição físico-química e nas características sensoriais do leite. Para a redução do número de microrganismos do leite, um dos processos mais utilizados é a pasteurização, que embora não corrija os defeitos já presentes, diminui consideravelmente a carga microbiana do leite, permitindo que o mesmo tenha uma vida útil mais prolongada, desde que mantido sob refrigeração.

Como a pasteurização não destrói a totalidade dos microrganismos presentes no leite, é de fundamental importância que o leite cru destinado a esse processamento não possua uma contagem elevada, pois sabidamente, quanto maior a carga microbiana do leite cru, maior será essa no leite pasteurizado. A qualidade e a vida útil de um produto dependem, em grande parte, da qualidade da matéria-prima utilizada, sendo praticamente impossível melhorar as propriedades de um produto derivado do leite se o número de microrganismos inicialmente presentes no leite “in natura” for elevado (Huhn *et alii*, 1980). Janzen *et alii* (1982) também relataram que a qualidade do leite cru é de grande importância.

Os dados referentes à contagem de microrganismos mesófilos dos leites crus com diferentes tempos de redutase e submetidos a diferentes processamentos estão apresentados na Figura 1. Observa-se que quando o tempo

FIGURA 1-A

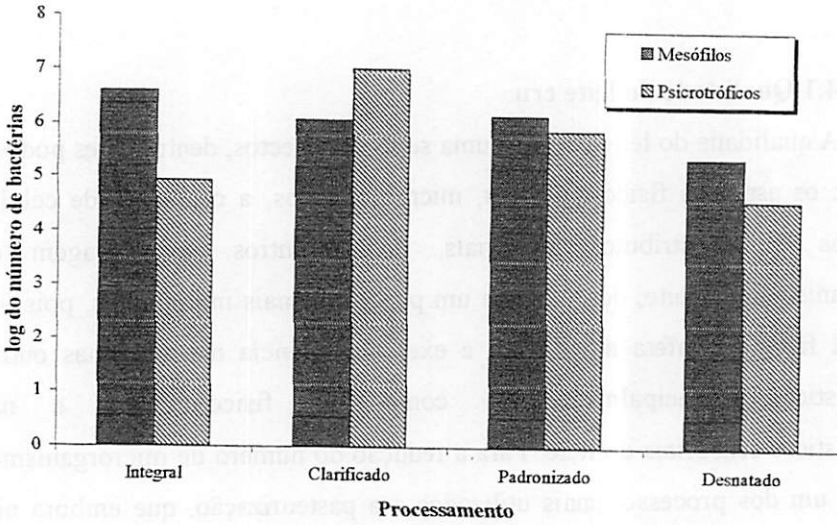


FIGURA 1-B

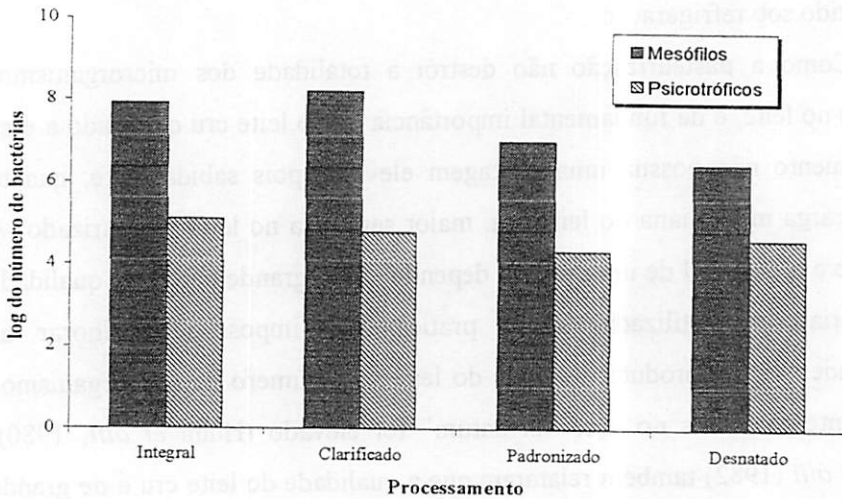


FIGURA 1 Log do número de bactérias mesófilas e psicrotróficas de leite cru e com redutase acima de 4:30 horas (1-A) e abaixo de 4:30 horas (1-B), submetidos a diferentes processamentos.

de redutase passou de < 4:30 h. para > 4:30 h. aconteceu uma redução na contagem de mesófilos de $8,17 \times 10^7$ ufc/ml para $3,98 \times 10^6$ ufc/ml. Como os mesófilos são os principais causadores da acidificação do leite e são aqueles que mais influência exercem no tempo de redutase do leite, fica claro que executada na plataforma de recepção, essa análise simples, rápida e barata, é uma ferramenta eficiente para uma triagem do leite destinado à pasteurização. Froeder (1985), trabalhando com leite da região de Viçosa – MG, observou que 91,29 % das amostras analisadas apresentaram tempo de redução do azul de metileno proporcional à carga microbiana mesofílica.

Observa-se também, na Figura 1, que embora o número de psicrotróficos tenha sido menor no leite de melhor tempo de redutase, essa diferença foi menos intensa que aquela encontrada para os mesófilos. Como os psicrotróficos possuem a capacidade de se desenvolverem a baixas temperaturas, essa pequena diferença pode ter ocorrido provavelmente em função do leite de melhor redutase ter sido mantido a temperaturas de refrigeração desde a ordenha até o momento de análise. Em função disso, fica evidente que o resfriamento do leite logo após a ordenha é um fator fundamental na manutenção da qualidade do leite, embora seja extremamente importante que esse leite contenha uma baixa contagem microbiana, o que pode ser conseguido com boa saúde do animal e higiene na obtenção e manipulação do leite, bem como com a correta limpeza e sanificação de todo o vasilhame e equipamentos utilizados em toda a cadeia do leite. Oliveira (1976) cita que do ponto de vista tecnológico, os microrganismos de maior importância são os que entram em contato com o leite durante a ordenha e manipulação. Froeder (1985) concluiu que a simples utilização de latões devidamente sanitizados resultou numa redução de quatro vezes na média do número de mesófilos.

4.2 Processamentos do leite

Alguns processamentos têm sido aplicados ao leite pré-pasteurização para diminuir sua carga microbiana, principalmente quando esse leite necessita ficar algum tempo armazenado antes de ser pasteurizado. Dentre esses tratamentos, a clarificação tem sido utilizada por algumas indústrias, principalmente em leites destinado à fabricação de queijos. Tem-se observado, também, que leites desnatados normalmente apresentam contagens menores de microrganismos que o integral. Isso acontece em função da membrana do glóbulo de gordura possuir em sua superfície uma proteína denominada aglutinina (crioproteína), que adere microrganismo, fazendo com que a parte gordurosa do leite contenha maior número de microrganismos que a fase desengordurada.

Além disso, as aglutininas imobilizam as bactérias sensíveis, formando massas agrupadas que são arrastadas à superfície com os glóbulos graxos (formação da nata), resultando em uma inibição dessas bactérias por separação física (Alais, 1991).

A presença de gordura aumenta a resistência térmica de alguns microrganismos, sendo que essa proteção pode ser chamada de proteção lipídica (Franco e Landgraf, 1996).

Os dados referentes à contagem de bactérias mesófilas dos leites submetidos à clarificação padronização e desnate encontram-se na Figura 2.

Nos leite de redutase acima de 4:30h (Figura 2), os desnates parcial e total do leite diminuiram significativamente a contagem de mesófilos, mostrando ser um processamento eficiente nesta redução. Como na gordura concentra-se a maior parte dos microrganismos, o leite totalmente desnatado apresentou a maior redução, nos outros casos, o uso de uma clarificadora, equipamento próprio para esse fim, os resultados seriam ainda melhores. Ainda com relação à Figura 2, observa-se que no leite com redutase inferior a 4:30h, a clarificação levou a um aumento na contagem de mesófilos. Provavelmente, isso aconteceu

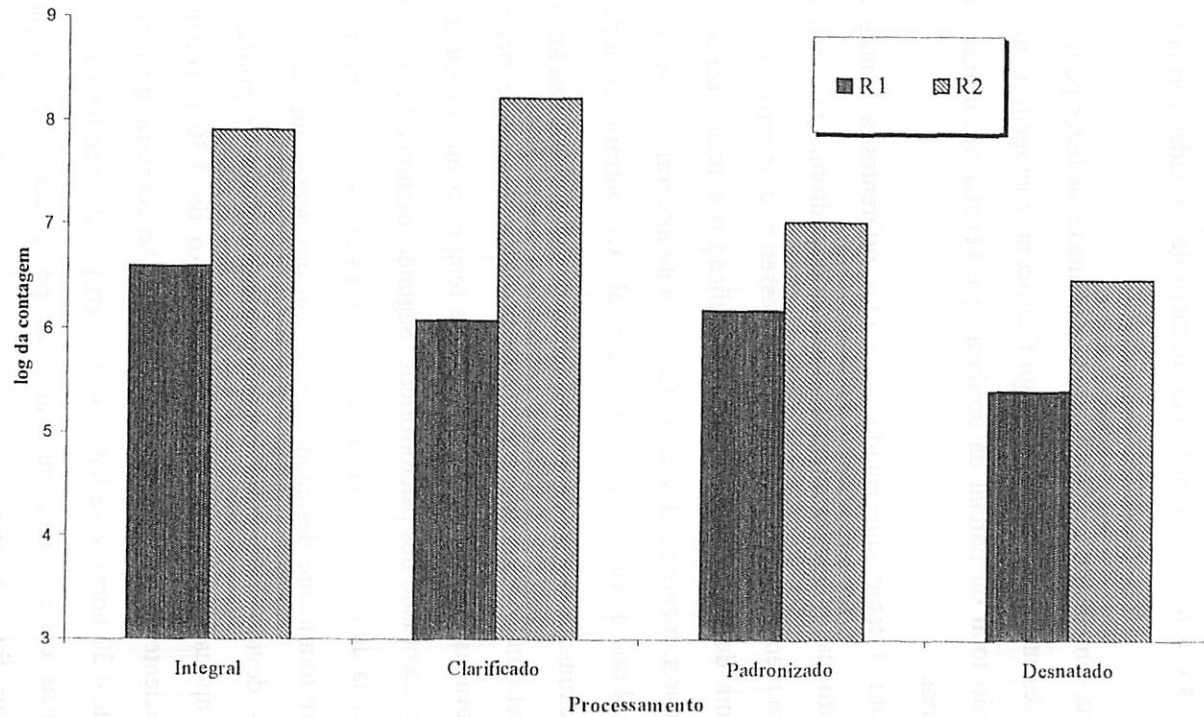


FIGURA 2 Log do número de bactérias mesófilas de leite cru, com redutase acima de 4:30 horas (R1) e abaixo de 4:30 horas (R2), submetidos a diferentes processamentos.

em função do grande número de bactérias desse leite. A clarificação do leite provoca uma homogeneização parcial da gordura, e como essa aglutina bactérias em torno de si, isso leva a um aumento do número de unidades formadoras de colônias.

De forma semelhante ao leite de melhor redutase, os leites padronizados e desnatados apresentaram uma redução significativa na contagem de mesófilos devido à remoção total ou parcial da gordura, que veicula um número muito grande de bactérias.

Na Figura 3 estão apresentados os dados referentes à contagem de bactérias psicotróficas nos leites integral, clarificado, padronizado e desnatado. Aconteceu um aumento inesperado do número desses microrganismos no leite de redutase acima de 4:30 h., submetido à clarificação e padronização. Esse aumento pode supostamente ser devido ao fato do leite integral ter sido mantido sob refrigeração desde a ordenha até a análise final. Ao contrário, os leites que receberam os tratamentos foram aquecidos acima de 20° C, processados a essa temperatura e retomado à câmara fria; nesse processo, esse leite ficou com temperaturas elevadas por um longo período de tempo, o que ocasionou um desenvolvimento acentuado dos psicotróficos. Segundo Bishop e White (1986), a temperatura ótima de desenvolvimento de muitos psicotróficos está em torno de 20° C. O leite totalmente desnatado apresentou um decréscimo no número dessas bactérias devido à remoção desses juntamente com a gordura. Os processamentos aplicados ao leite de redutase abaixo de 4:30 h (Figura 3) mostraram-se eficiente na remoção de psicotróficos. Ao contrário do leite com redutase acima de 4:30 horas, esse leite não foi refrigerado, não havendo então diferenças térmicas entre o leite integral e os processados. A redução de psicotróficos não foi tão eficiente quanto a dos mesófilos (Figura 2), provavelmente devido às temperaturas mais favoráveis aos psicotróficos durante os processamentos. Dessa forma, o número de psicotróficos removidos

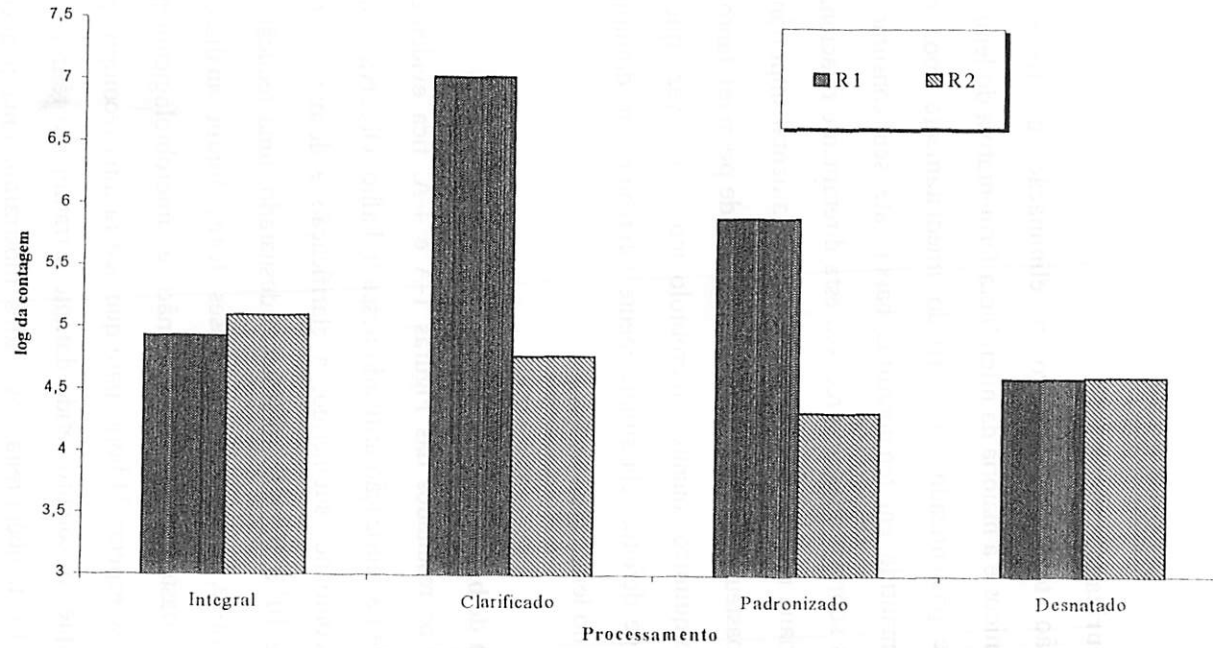



FIGURA 3 Log do número de bactérias psicrotróficas de leite cru, com redutase acima de 4:30 horas (R1) e abaixo de 4:30 horas (R2), submetidos a diferentes processamentos.



foi maior que o número gerado por multiplicação celular. O raciocínio anteriormente utilizado para a remoção de mesófilos pode ser utilizada para os psicrotróficos.

4.3 Leite pasteurizado

A pasteurização tem por objetivo a eliminação de todos os microrganismos patogênicos e a maioria da microbiota fermentativa do leite; daí a necessidade do leite pasteurizado ser resfriado imediatamente após esse tratamento térmico e mantido em temperaturas baixas até seu consumo. A quantidade de bactérias sobreviventes no processo está diretamente relacionada com a contagem bacteriana do leite cru. Assim, é de fundamental importância que o leite destinado à pasteurização seja da melhor qualidade possível, tanto do ponto de vista físico-químico quanto microbiológico, uma vez que a pasteurização não corrige defeitos, ela simplesmente interrompe ou diminui o processo de degradação do leite.

4.3.1 Contagem de bactérias mesófilas

Comparando-se os resultados das Figuras 1-A e 4-A, fica evidente a eficiência do processo de pasteurização utilizado nesse trabalho. Observa-se que tanto no leite integral como nos submetidos à clarificação e desnatado parcial ocorreu uma redução de 10^3 a 10^4 e no totalmente desnatado, uma redução da ordem de 10^3 . Ressalva-se, entretanto, que esses leites foram analisados imediatamente após a pasteurização, o que não é microbiologicamente recomendado, pois deve-se esperar 24 horas para que ocorra uma recomposição do sistema enzimático, que foi comprometido durante o tratamento térmico. A contagem com 24 horas foi também feita e os dados mostraram uma pequena

FIGURA 4-A

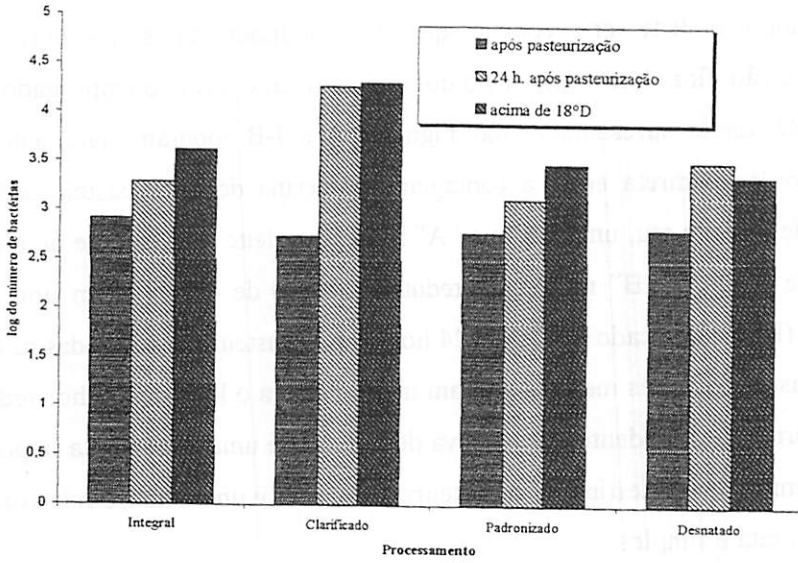


FIGURA 4-B

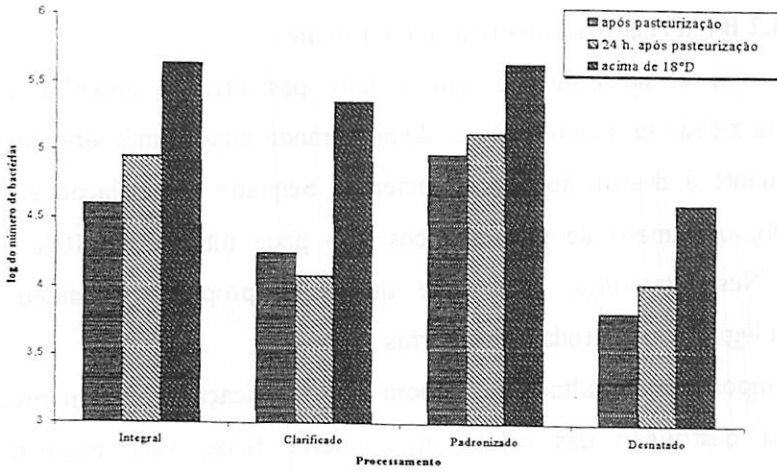


FIGURA 4 Log do número de bactérias mesófilas de leite pasteurizado (imediatamente após a pasteurização, 24 horas após, e ao superar 18°D de acidez), proveniente de leite cru com redutase acima de 4:30 horas (4-A) e abaixo de 4:30 horas (4-B), submetidos a diferentes processamentos.

elevação nos leites integral, padronizado e desnatado; somente o leite clarificado apresentou uma elevação significativa, de 2 ciclos logarítmicos. Mesmo comparando o leite cru com o que foi analisado após 24 horas após pasteurização, fica clara a eficiência do processamento térmico empregado.

Os dados apresentados nas Figura 4-A e 4-B apontam claramente para uma correlação direta entre a contagem bacteriana do leite pasteurizado e a qualidade do leite cru, uma vez que “A” representa leite proveniente de redutase acima de 4:30h. e “B” representa redutase abaixo de 4:30h. Com uma única exceção (leite clarificado analisado 24 horas após pasteurização), todas as outras contagens de bactérias mesófilas foram menores para o leite de melhor redutase. Dessa forma, fica evidente que a prova de redutase é uma ferramenta importante na triagem de leites destinados à pasteurização, pois é uma análise relativamente rápida, barata e simples.

4.3.2 Bactérias psicotróficas e Coliformes

Observa-se, na Figura 5, que o leite pasteurizado apresentou uma pequena quantidade de psicotróficos, demonstrando uma grande eficiência do processo quanto à destruição dessas bactérias. Segundo a legislação em leite pasteurizado, o número de psicotróficos não pode ultrapassar 10% do de mesófilos. Neste trabalho, observa-se que essa proporção atendeu com segurança a legislação em todas as amostras analisadas.

É importante ressaltar que embora a pasteurização seja um processo eficiente na destruição das células dos psicotróficos, suas enzimas são termorresistentes. Segundo Zall e Chan (1981), lipases e proteases produzidas por bactérias psicotróficas, não podem ser destruídas pela pasteurização convencional. Trabalhando também com psicotróficos, Adams, Barach e Speck (1975) verificaram que esses microrganismos produzem proteases resistentes a 149°C por 10 segundos, e que a destruição de 90 % dessas enzimas pode ser

FIGURA 5-A

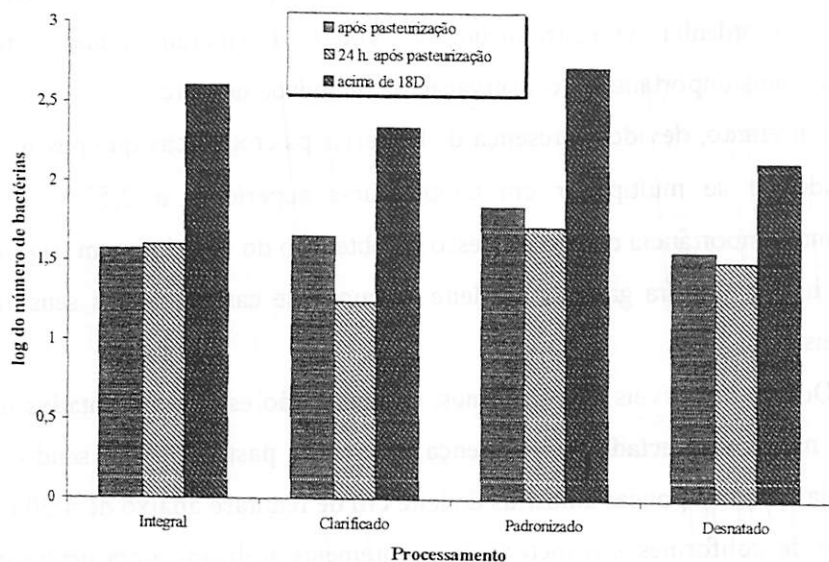


FIGURA 5-B

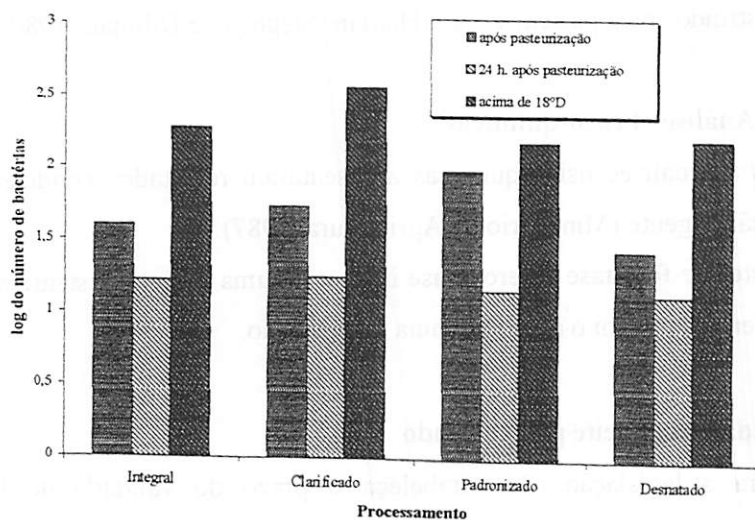


FIGURA 5 Log do número de bactérias psicotróficas de leite pasteurizado (imediatamente após a pasteurização, 24 horas após, e ao superar 18°D de acidez), proveniente de leite cru com redutase acima de 4:30 horas (5-A) e abaixo de 4:30 horas (5-B), submetidos a diferentes processamentos.

atingida a 72°C por 4-5 horas. A coleta de leite a granel, que está sendo implantada no Brasil, tem a grande vantagem de obrigar o produtor a resfriar o leite após a ordenha. O resfriamento do leite é considerado como o fator individual mais importante na conservação da qualidade do leite.

Entretanto, devido à presença de bactérias psicrotóxicas que possuem a capacidade de se multiplicar em temperaturas superiores a 2,5° C, é de fundamental importância que no processo de obtenção do leite haja um rigoroso controle higiênico para garantir um leite inócuo e de características sensoriais agradáveis.

Quanto aos níveis de coliformes, os dados não estão apresentados uma vez que não foi detectada sua presença nos leites pasteurizados, sendo sua ocorrência restrita a poucas amostras do leite cru de redutase abaixo de 4:30 h. A contagem de coliformes é o método freqüentemente utilizado para determinar contaminação pós-pasteurização, uma vez que esses microrganismos são facilmente destruídos pela pasteurização (Hankin, Stephens e Dillman, 1980).

4.3.3 Análises Físico-químicas

Todas as análises físico-químicas apresentaram resultados condizentes com a legislação vigente (Ministério da Agricultura, 1987).

Os testes de fosfatase e peroxidase indicaram uma correta pasteurização do leite, atendendo também o que determina a legislação.

4.4 Vida útil do leite pasteurizado

Embora a legislação não estabeleça o prazo de validade de leite pasteurizado, observa-se, na prática, que a maioria das usinas colocam esse prazo em torno de 3 dias. Esse curto prazo está, na maioria das vezes, relacionado à má qualidade da matéria prima e/ou deficiência no processo de pasteurização e manipulação do leite já processado.

Os dados encontrados neste trabalho (Figura 6) demonstram que é possível estender a vida útil do leite pasteurizado tipo “C”, desde que o processo seja conduzido de forma adequada, e o envase, bem como a conservação desse leite, sejam realizados em temperaturas apropriadas, desde a saída do pasteurizador até o consumo final.

Observa-se entretanto que em muitos pontos de venda o leite pasteurizado é exposto à venda sob temperaturas elevadas, além de, em muitos casos, o refrigerador ser desligado à noite e/ou finais de semana, havendo conseqüentemente uma flutuação da temperatura do leite, com conseqüente multiplicação microbiana, o que leva a uma acidificação e diminuição de sua vida útil. Segundo Cromie, Dommett e Schmidt (1989), a temperatura de estocagem afeta a vida de prateleira, controlando a taxa de crescimento da microbiota e afetando o tipo de microrganismo capaz de se desenvolver.

O mesmo gráfico (Figura 6) demonstra claramente que os leites com tempo mais longo de redutase apresentaram contagens microbianas menores (Figuras 2 e 3) e tiveram sua vida de prateleira prolongada. É importante ressaltar que o número de microrganismos por si só não é o único fator que determina uma maior vida de prateleira do leite. O tipo de microrganismo envolvido é também um importante fator, uma vez que cada espécie microbiana degrada o leite de forma mais ou menos intensa.

É de conhecimento geral que o aumento da vida útil do leite pasteurizado depende não de um processo isolado, mas de um conjunto fatores, que de forma interrelacionada contribuem para a melhoria da qualidade do leite e para o aumento de sua vida útil. Dessa forma, há de se ter em mente que devem ser tomados os devidos cuidados com a higiene da ordenha, limpeza e sanificação do vasilhame e equipamentos, resfriamento imediato após ordenha, armazenagem e transporte sob temperaturas adequadas, triagem na plataforma

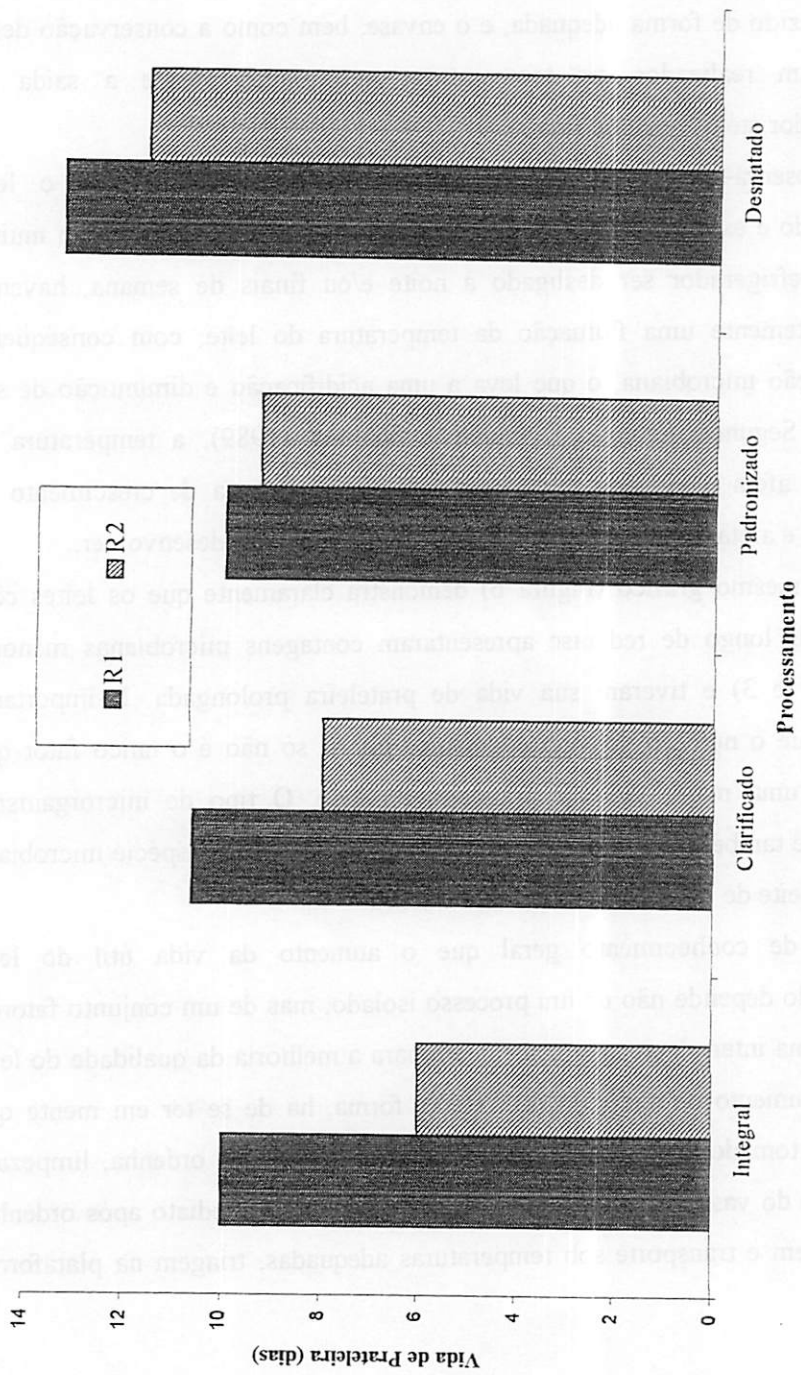


FIGURA 6 Vida de prateleira (em dias) de leites pasteurizados, provenientes de leite cru com redutase acima de 4:30 horas (R1) e abaixo de 4:30 horas (R2), submetidos a diferentes processamentos.

do leite destinado à pasteurização, processamento e envase conduzidos de forma correta, armazenamento e distribuição do leite pasteurizado em temperaturas apropriadas, bem como da manutenção dessas temperaturas nos pontos de venda. Os equipamentos de ordenha constituem fontes importantes de contaminação (Pedraza, Romero e Hargreaves, 1978). Robinson (1987) verificou que a incidência de microrganismos está muito relacionada aos métodos de limpeza e desinfecção de utensílios empregados nas granjas leiteiras.

5 CONCLUSÕES

Com base nas condições experimentais e nos dados obtidos, pode-se concluir que:

→ O teste de redutase mostrou-se eficiente para auxiliar no processo de seleção do leite na plataforma.

→ A triagem do leite cru, levando em consideração a sua qualidade, teve influência direta na qualidade do produto pasteurizado, indicando uma relação direta entre a qualidade microbiológica da matéria prima e do produto final.

→ A remoção, total ou parcial da gordura, teve influência direta na qualidade e na vida útil do leite, sendo o leite totalmente desnatado o que apresentou os melhores resultados.

→ O processo de pasteurização apresentou eficiência maior quanto melhor foi a qualidade do leite, indicando a necessidade de triagem do leite destinado ao consumo.

→ A vida útil do leite foi consideravelmente estendida em função da qualidade e dos processamentos utilizados.

BIBLIOGRAFIA

- ADAMS, D.M.; BARACH, J.T.; SEPECK, M.L. Heat resistant proteases produced in milk by psychrotrophic bacteria of dairy origin. **Journal of Dairy Science**, Baltimore, v. 58, n. 6, p. 828-834, June 1975.
- ALAIS, C. **Ciencia de la leche: principios de tecnica lechera**. México: Continental, 1991. 594 p.
- ALFENAS, R.C.G. **Efeito da temperatura de crescimento e determinação dos parâmetros de resistência ao calor de psicrotóxicos acidificantes isolados do leite**. Viçosa: UFV, 1994. 55 p. (Tese-Mestrado em Microbiologia Agrícola).
- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. **Standard methods for the examination of dairy products**. 14. ed. Washington, 1978. p. 187-195..
- BARUFFALDI, R.; PENNA, T.C.V.; MACHOSVILI, I.A.; ABE, L.E. Condições higiênico-sanitárias do leite pasteurizado tipo "B" vendido na cidade de São Paulo, SP (Brasil), no período de fevereiro a agosto de 1982. **Revista Saúde Pública**, v. 18, p. 367-374, 1984.
- BIRKELAND, S.R.; STEPANIAK, L.; SORHANG, T. Quantitative studies of heat-stable proteinase from *Pseudomonas fluorescens* P1 by the enzyme-linked immunosorbent assay. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 49, n. 2, p. 382-387, Feb. 1985.
- BISHOP, J.R.; WHITE, C.H. Assessment of dairy product quality and potential shelf-life – a review. **Journal of Food Protection**, Ames, v. 49, n. 9, p. 739-753, Sept. 1986.
- BRASIL. Secretaria de Defesa Agropecuária. Departamento de Defesa Animal. **Métodos de análise microbiológica para Alimentos**. 2. Revisão. Brasília, 1991/1992. 136p.
- BRASIL. Secretaria de Defesa Agropecuária. Laboratório Nacional de Referência Animal. **Métodos analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes**. II. Métodos físicos e químicos. Brasília, 1981. p.ir.

- BYLUND, G. **Tetra Pak Dairy Processing Handbook**. Tetra Pak Processing Systems, Sweden, 1995. 436 p.
- COSTA, L.C.G.; CARVALHO, E.P.; CARVALHO, A.S. Qualidade microbiológica do leite cru obtido por ordenha manual e mecânica, na fonte de produção. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 39, n. 235, p. 3-6, 1984.
- CRIELLY, E.M.; LOGAN, N.A.; ANDERTON, A. Studies on the *Bacillus* flora of milk and milk products. **Journal of Applied Bacteriology**, Great Britain, v. 77, n. 3, p. 256-263, Sept. 1994.
- CROMIE, S.J.; DOMMETT, T.W.; SCHMIDT, D. Changes in the microflora of milk with different pasteurization and storage conditions and packaging. **The Australian Journal of Dairy Technology**, Victoria, v. 44, n. 11, p. 74-77, 1989.
- DEMETER, K.J. **Lactobacteriologia**. Zaragoza: Acribia., 1969. 331 p.
- FAIRBAIRN, D.J.; LAW, B.A. Proteinases of psychrotrophic bacteria: their production, properties, effects and control. **Journal of Dairy Research**, London, v. 53, n. 1, p. 139-177, Feb. 1986.
- FOSTER, E.M. et al. **Microbiologia de la leche**. México: Herrero, 1965.
- FRANCO, B.D.G.M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Atheneu, 1996.
- FROEDER, E. Qualidade microbiológica e físico-química do leite cru da bacia leiteira de Viçosa-MG. Viçosa: UFV, 1985. 54 p. (Tese-Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos).
- FURTADO, M.M.; WOLFSCHOON-POMBO, A.F.; VENTURA, R.F. Pasteurização do leite por efeitos de vapor: considerações sobre a diluição do leite e rendimento na fabricação do queijo prato. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 43, n. 256, p. 3-10, 1988..
- GEHRIGER, G. Multiplication of bacteria in milk during farm storage. In: Factors influencing the bacteriological quality of raw milk. **IDF. Doc n° 120**. Chapter 5:22-24, 1980.

- GOMES, M.I.F. Alterações na qualidade do leite pasteurizado pela ação de lipase microbiana.** Piracicaba: ESALQ, 1988. 55 p. (Tese-Mestrado em Tecnologia de Alimentos).
- HAMMER, B.W. Dairy bacteriology.** New York: John Wiley, 1948. 593 p.
- HANKIN, L.; STEPHENS, G.R.; DILLMAN, W.F.** Comparison of code date reliability for freshly bottled whole, low fat and not fat fluid milk. **Journal of Food Protection**, Ames, v. 43, n. 3, p. 175-177, 1980.
- HUHN, S.; HAJDENWURCEL, J.R.; MORAES, J.M.; VARGAS, O.L.** qualidade microbiológica do leite cru obtido por meio de ordenha manual e mecânica e ao chegar à plataforma. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 35, n. 209, p. 3-8, 1980.
- INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS.** **Microrganismos de los alimentos. I. tecnicas de analisis microbiologicas.** Zaragoza: Acribia, 1980. 431 p.
- JANZEN, J.J.; BISHOP, J.R.; BODINE, A.B.; CADWELL, C.A.** Shelf-life of pasteurized milk as affected by age of raw milk. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 65, n. 12, p. 2233-2236, 1982.
- JAY, J.M. Microbiologia moderna de los alimentos.** 3. ed. Zaragoza: Acribia, 1994. 804 p.
- JOHNSNSTON, D.W.; BRUCE, J.** Incidence of thermophilic psychrotrophs in milk produced in west of Scotland. **Journal of Applied Bacteriology**, Reading, v.52, n.3, p. 333-337, 1982.
- LIMA, M.C** Efeitos de tratamentos térmicos do leite tipo C em grupos de microrganismos e em seu desenvolvimento durante a estocagem a diferentes temperaturas. Viçosa: UFV, 1988. (Tese-Mestrado em Microbiologia Agrícola).
- LIMA, M.C.; PINHEIRO, A.J.R.; TEIXEIRA, M.A.** Leite tipo C: I-Efeito de diferentes temperaturas de pasteurização sobre a flora normal do leite. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 47, n. 279/281, p. 41-45, 1992.
- MARTH, E.H. Standard methods for the examinations of dairy products.** 14. ed. Washington: Alpha, 1978. 416 p.

- MIKOLAJCIK, E.M.; SIMON, N.T. Heat resistant psychrotrophic bacteria in raw milk and their growth at 7 degree. **Journal of Food Protection**, Ames, v.41, n.2, p. 93-95, 1978.
- MINISTÉRIO DA AGRICULTURA. **Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal**. Brasília, 1987.
- MOURA, C.J. **Efeito do resfriamento do leite sobre o rendimento e lipólise do queijo tipo parmesão**. Lavras: UFLA, 1997. 77 p. (Tese-Mestrado em Ciência dos Alimentos).
- NORMAS ANALÍTICAS DO INSTITUTO ADOLPHO LUTZ. **Métodos químicos e físicos para análise de alimentos**. 3. ed. São Paulo, 1985. v. 1, 533 p.
- OLIVEIRA, J.S. Qualidade microbiológica do leite. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 31, n. 186, p. 15-20, 1976.
- OLIVEIRA, J.S.; BORGES, S.F. Qualidade do leite pasteurizado. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 39, n. 235, p. 29-33, 1984.
- PATEL, T.R.; BARTLETT, F.M.; HAMID, J. Extracellular heat-resistant proteases of psychrotrophic *Pseudomonas*. **Journal of Food Protection**, Ames, v.46, n.2, p. 90-94, 1983.
- PEDRAZA, C.G.; ROMERO, J.J.; HARGREAVES, A. Efecto del paso de la leche por el equipo de ordeño mecánico, del enfriamiento y el tiempo de almacenaje, sobre su cualidad bacteriológica. **Agricultura Tecnica**, México, v. 38, n. 10-12, p. 56-160, 1978.
- POTTER, N.N.; HOTCHKISS, J.H. **Food Science**. New York: Chapman & Hall, 1995.
- ROBINSON, R.K. **Microbiologia lactologica: microbiologia de la leche**. Zaragoza: Acribia, 1987. v. 1. 230 p.
- SCHRAFT, H.; STEELE, M.; McNAB, B.; ODUMERU, J.; GRIFFITHS, M.W. Epidemiological typing of *Bacillus* spp. Isolated from food. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v.62, n.11, p.4229-4232, Nov. 1996.

- SCHROEDER, M.J.A.; BLAND, M.A. Effect of pasteurization temperature on the keeping quality of whole milk. **Journal of Dairy Research**, London, v. 51, n. 4, p. 569-578, Nov. 1984.
- SILVA, M.H. Efeito do resfriamento e estocagem sobre alguns grupos de microrganismos e propriedades físico-químicas do leite. Viçosa: UFV, 1991. 104 p. (Tese-Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos).
- SOLBERG, P. et al. Methods for assessing the bacteriological quality of cooled bulk milk from the farm. **International Dairy Federation Annual Bulletin**, La Haye, v.83, p. 1-19, 1974.
- THIELMANN, C. Avaliação das características da qualidade e prazo de validade do leite tipo A. Viçosa: UFV, 1995. 126 p. (Tese-Mestrado em Tecnologia de Alimentos).
- ZALL, R.R.; CHAN, J.H. Heating and storing milk on dairy farms before pasteurization in milk plants. **Journal of Dairy Science**, Baltimore, v. 64, n. 7, p. 1540-1544, July 1981.

mao

ANEXOS

ANEXO A

Página

TABELA 1A	Contagem total de microrganismos mesófilos e psicrotróficos, e NMP de Coliformes Totais e Fecais em leite tipo C cru, com redutase acima de 4:30 horas 37
TABELA 2A	Contagem total de microrganismos mesófilos e psicrotróficos, e NMP de Coliformes Totais e Fecais em leite tipo C cru, com redutase abaixo de 4:30 horas. 37
TABELA 3A	Contagem total de microrganismos mesófilos imediatamente após a pasteurização, 24 horas após a pasteurização e ao superar 18°D de acidez, em leite tipo C pasteurizado, proveniente de leite cru com redutase acima de 4:30 horas. 37

TABELA 1A Contagem total de microrganismos mesófilos e psicrotróficos, e NMP de Coliformes Totais e Fecais em leite tipo C cru, com redutase acima de 4:30 horas.

	Integral	Clarificado	Padronizado	Desnatado
Mesófilos	$3,98 \times 10^6$	$1,21 \times 10^6$	$1,51 \times 10^6$	$2,57 \times 10^5$
Psicrotróficos	$8,45 \times 10^4$	$1,07 \times 10^7$	$7,99 \times 10^5$	$4,07 \times 10^4$
Coliformes totais	ausente	ausente	ausente	ausente
Coliformes fecais	ausente	ausente	ausente	ausente

TABELA 2A Contagem total de microrganismos mesófilos e psicrotróficos, e NMP de Coliformes Totais e Fecais em leite tipo C cru, com redutase abaixo de 4:30 horas.

	Integral	Clarificado	Padronizado	Desnatado
Mesófilos	$8,17 \times 10^7$	$1,61 \times 10^8$	$1,07 \times 10^7$	$3,05 \times 10^6$
Psicrotróficos	$1,25 \times 10^5$	$6,07 \times 10^4$	$2,13 \times 10^4$	$4,17 \times 10^4$
Coliformes totais	$1,50 \times 10^4$	$1,50 \times 10^5$	$4,67 \times 10^2$	$1,50 \times 10^4$
Coliformes fecais	ausente	$1,50 \times 10^5$	ausente	ausente

TABELA 3A Contagem total de microrganismos mesófilos imediatamente após a pasteurização, 24 horas após a pasteurização e ao superar 18°D de acidez, em leite tipo C pasteurizado, proveniente de leite cru com redutase acima de 4:30 horas.

	Integral	Clarificado	Padronizado	Desnatado
Mesófilos	$8,15 \times 10^2$	$5,32 \times 10^2$	$6,00 \times 10^2$	$6,67 \times 10^2$
Mesófilos 24 horas	$1,92 \times 10^3$	$1,88 \times 10^4$	$1,32 \times 10^3$	$3,24 \times 10^3$
Mesófilos > 18°D	$4,06 \times 10^3$	$2,06 \times 10^4$	$3,06 \times 10^3$	$2,30 \times 10^3$

TABELA 1B	Contagem total de microrganismos mesófilos imediatamente após a pasteurização, 24 horas após a pasteurização e ao superar 18°D de acidez, em leite tipo C pasteurizado, proveniente de leite cru com redutase abaixo de 4:30 horas.....	39
TABELA 2B	Contagem total de microrganismos psicotróficos imediatamente após a pasteurização, 24 horas após a pasteurização e ao superar 18°D de acidez, em leite tipo C pasteurizado, proveniente de leite cru com redutase acima de 4:30 horas.....	39
TABELA 3B	Contagem total de microrganismos psicotróficos imediatamente após a pasteurização, 24 horas após a pasteurização e ao superar 18°D de acidez, em leite tipo C pasteurizado, proveniente de leite cru com redutase abaixo de 4:30 horas.....	39

TABELA 1B Contagem total de microrganismos mesófilos imediatamente após a pasteurização, 24 horas após a pasteurização e ao superar 18°D de acidez, em leite tipo C pasteurizado, proveniente de leite cru com redutase abaixo de 4:30 horas.

	Integral	Clarificado	Padronizado	Desnatado
Mesófilos	$4,02 \times 10^4$	$1,76 \times 10^4$	$9,37 \times 10^4$	$6,58 \times 10^3$
Mesófilos 24 horas	$9,01 \times 10^4$	$1,20 \times 10^4$	$1,35 \times 10^5$	$1,06 \times 10^4$
Mesófilos > 18°D	$4,35 \times 10^5$	$2,30 \times 10^5$	$4,46 \times 10^5$	$4,13 \times 10^4$

TABELA 2B Contagem total de microrganismos psicrotróficos imediatamente após a pasteurização, 24 horas após a pasteurização e ao superar 18°D de acidez, em leite tipo C pasteurizado, proveniente de leite cru com redutase acima de 4:30 horas.

	Integral	Clarificado	Padronizado	Desnatado
Psicrotróficos	$3,70 \times 10^1$	$4,50 \times 10^1$	$7,00 \times 10^1$	$3,70 \times 10^1$
Psicrotróficos 24 h.	$4,00 \times 10^1$	$1,80 \times 10^1$	$5,20 \times 10^1$	$3,20 \times 10^1$
Psicrotróficos > 18°D	$4,00 \times 10^2$	$2,20 \times 10^2$	$5,30 \times 10^2$	$1,33 \times 10^2$

TABELA 3B Contagem total de microrganismos psicrotróficos imediatamente após a pasteurização, 24 horas após a pasteurização e ao superar 18°D de acidez, em leite tipo C pasteurizado, proveniente de leite cru com redutase abaixo de 4:30 horas.

	Integral	Clarificado	Padronizado	Desnatado
Psicrotróficos	$4,00 \times 10^1$	$5,30 \times 10^1$	$9,50 \times 10^1$	$2,70 \times 10^1$
Psicrotróficos 24 h.	$1,70 \times 10^1$	$1,70 \times 10^1$	$1,40 \times 10^1$	$1,30 \times 10^1$
Psicrotróficos > 18°D	$1,87 \times 10^2$	$3,60 \times 10^2$	$1,52 \times 10^2$	$1,60 \times 10^2$

ANEXO C

Página

TABELA 1C	Média do teor de Gordura e Vida útil de leite pasteurizado tipo C, proveniente de leite cru com redutase acima de 4:30 horas	41
TABELA 2C	Média do teor de Gordura e Vida útil de leite pasteurizado tipo C, proveniente de leite cru com redutase abaixo de 4:30 horas.....	41

TABELA 1C Média do teor de Gordura e Vida útil de leite pasteurizado tipo C, proveniente de leite cru com redutase acima de 4:30 horas.

	Integral	Clarificado	Padronizado	Desnatado
Gordura (%)	3,7	3,1	3,0	0
Vida útil (dias)	10	10,6	10	13,3

TABELA 2C Média do teor de Gordura e Vida útil de leite pasteurizado tipo C, proveniente de leite cru com redutase abaixo de 4:30 horas.

	Integral	Clarificado	Padronizado	Desnatado
Gordura (%)	4,16	3,26	2,96	0
Vida útil (dias)	6	8	9,3	11,6

