



[www.arvoredoleite.org](http://www.arvoredoleite.org)

Esta é uma cópia digital de um documento que foi preservado para inúmeras gerações nas prateleiras da biblioteca *Otto Frensel* do Instituto de Laticínios Cândido Tostes (ILCT) da Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (EPAMIG), antes de ter sido cuidadosamente digitalizada pela Arvoredoleite.org como parte de um projeto de parceria entre a Arvoredoleite.org e a Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes para tornarem seus exemplares online. A Revista do ILCT é uma publicação técnico-científica criada em 1946, originalmente com o nome **FELCTIANO**. Em setembro de 1958, o seu nome foi alterado para o atual.

Este exemplar sobreviveu e é um dos nossos portais para o passado, o que representa uma riqueza de história, cultura e conhecimento. Marcas e anotações no volume original aparecerão neste arquivo, um lembrete da longa jornada desta REVISTA, desde a sua publicação, permanecendo por um longo tempo na biblioteca, e finalmente chegando até você.

### Diretrizes de uso

A Arvoredoleite.org se orgulha da parceria com a Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes da EPAMIG para digitalizar estes materiais e torná-los amplamente acessíveis. No entanto, este trabalho é dispendioso, por isso, a fim de continuar a oferecer este recurso, tomamos medidas para evitar o abuso por partes comerciais.

Também pedimos que você:

- Faça uso não comercial dos arquivos. Projetamos a digitalização para uso por indivíduos e ou instituições e solicitamos que você use estes arquivos para fins profissionais e não comerciais.
- Mantenha a atribuição Arvoredoleite.org como marca d'água e a identificação do ILCT/EPAMIG. Esta atitude é essencial para informar as pessoas sobre este projeto e ajudá-las a encontrar materiais adicionais no site. Não removê-las.
- Mantenha-o legal. Seja qual for o seu uso, lembre-se que você é responsável por garantir que o que você está fazendo é legal. O fato do documento estar disponível eletronicamente sem restrições, não significa que pode ser usado de qualquer forma e/ou em qualquer lugar. Reiteramos que as penalidades sobre violação de propriedade intelectual podem ser bastante graves.

### Sobre a Arvoredoleite.org

A missão da Arvoredoleite.org é organizar as informações técnicas e torná-las acessíveis e úteis. Você pode pesquisar outros assuntos correlatos através da web em <http://arvoredoleite.org>.

REVISTA  
do  
INSTITUTO  
DE  
LATICÍNIOS  
"CÂNDIDO  
TOSTES"

DAIRY JOURNAL BIMONTHLY  
PUBLISHED BY THE "CÂNDIDO  
TOSTES" DAIRY INSTITUTE

Nº 296 JUIZ DE FORA, NOV/DEZ DE 1995 VOL. 50

GOVERNO DO ESTADO DE MINAS GERAIS  
SISTEMA OPERACIONAL DE AGRICULTURA  
EMPRESA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA DE MINAS GERAIS  
CENTRO DE PESQUISA E ENSINO  
INSTITUTO DE LATICÍNIOS "CÂNDIDO TOSTES"

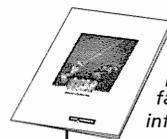


# A arte é mostrar o caminho



Grandes compositores clássicos são conhecidos pelo que criam. A genialidade provém da ruptura com tradições, da inteligência de não seguir os passos alheios e da criação de resultados práticos únicos. Como os grandes compositores, a Chr. Hansen aperfeiçoa as possibilidades que a natureza coloca à disposição

- culturas lácticas do mundo inteiro - para assegurar a produção de melhores produtos lácteos. A Chr. Hansen sempre conduziu a batuta sobre o desenvolvimento de culturas lácticas. Com "know-how" e técnicos experientes podemos ajudá-lo a manter a posição de liderança em seu mercado.



Entre em contato por telefone ou fax para maiores informações.

Chr. Hansen Ind. e Com. Ltda.  
Caixa postal 371  
13276-970 - Valinhos-SP  
Fone: (019) 881-1488  
Fax: (019) 881-1266

**CHR HANSEN**

Revelando o melhor em alimentos

## REVISTA DO INSTITUTO DE LATICÍNIOS "CÂNDIDO TOSTES"

DAIRY JOURNAL  
BIMONTHLY PUBLISHED BY THE  
"CÂNDIDO TOSTES" - DAIRY INSTITUTE

### ÍNDICE - CONTENT

- 1 Avaliação físico química e microbiológica do leite pasteurizado Integral/Fazenda comercializado em Viçosa. Nazareth Aguiar Magalhães; Alexandre Mendonça; Juliana Miwa Takarabe; Guilherme de Melo Pessoa ..... 3
- 2 Avaliação do limite de detecção de alguns métodos de pesquisa de conservadores em leite. Evaluation of detection limit of several methods in detecting preservatives in milk. Marco Antônio Moreira Furtado; Míriam Aparecida Pinto Vilela; Paulo Victor Pereira Baio; Vaneida Maria Meurer ..... 9
- 3 Queijo Prato salgado com NaCl e/ou MgCl<sub>2</sub>. I. Maturação e aceitabilidade. Prato Cheese brined with NaCl and/or MgCl<sub>2</sub>. I. Ripening and acceptability. Lúcio Alberto Forti Antunes; Flávia Regina França Costa ..... 13
- 4 Aspecto microbiológico do queijo tipo Minas prensado. Maria Izabel Franchi Vasconcelos Gomes; Ismael Antônio Bonassi ..... 23
- 5 Intolerância à Lactose. Lactose intolerance. Paulo Henrique Fonseca da Silva; Paola Roberta Moreira Venuto ..... 27
- 6 Acidez, pH e efeito tampão no leite. Acidity, pH and buffer effect in milk. Paulo Henrique Fonseca da Silva; Késia Ferreira Torres ..... 33
- 7 Qualidade microbiológica de queijos comercializados na região de São José do Rio Preto - SP. Fernando Leite Hoffmann; Crispin Humberto Garcia-Cruz; Tânia Maria Vinturim ..... 42

Rev. Inst. Latic. "Cândido Tostes" - Juiz de Fora - Vol. 50 (296); 1-50 - Nov/Dez de 1995

### EMPRESA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA DE MINAS GERAIS

Centro de Pesquisa e Ensino  
Instituto de Laticínios "Cândido Tostes"

Revista Bimestral

Endereço: Revista do Instituto de Laticínios "Cândido Tostes"  
Tel.: 224-3116 - DDD: 032 / Fax: 224-3113 - DDD 032  
Cx. Postal: 183 - 36.045-560 - Juiz de Fora - Minas Gerais - Brasil

## EMPRESA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA DE MINAS GERAIS

- EPAMIG -

## DIRETORIA EXECUTIVA

## Presidente

Gabriel Ferreira Bártholo

## Chefe do CEPE/ILCT

Renê dos Santos Neves

## Editor

Geraldo Magela Carozzi de Miranda

## Revisor Técnico

Otacílio Lopes Vargas

## Área de Divulgação/Redação

Luiza Carvalhaes de Albuquerque

## Editoração Eletrônica

Templo Editoração (032) 213-5854

## Impressão

Concorde Editora Gráfica Ltda  
(032) 215-8510

Juiz de Fora, Novembro de 1997

## EMPRESA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA DE MINAS GERAIS

- EPAMIG -

Revista do Instituto de Laticínios "Cândido Tostes", n. 1 - 1946 - Juiz de Fora. Instituto de Laticínios "Cândido Tostes", 1946.

v. ilust. 23 cm

n. 1-19 (1946-  
nome de Felctiano.

A partir de setembro de 1958, com o nome de Revista do Instituto de Laticínios "Cândido Tostes".

1. Zootecnia - Brasil - Periódicos. 2. Laticínios - Brasil - Periódicos  
1. Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais, Juiz de Fora, MG, ed.  
ISSN 0100-3674 CDU 636/637(81)(50)

## AVALIAÇÃO FÍSICO QUÍMICA E MICROBIOLÓGICA DO LEITE PASTEURIZADO INTEGRAL/FAZENDA COMERCIALIZADO EM VIÇOSA

Nazareth Aguiar Magalhães \*  
Alexandre Mendonça \*\*  
Julianna Miwa Takarabe \*\*  
Guilherme de Melo Pessoa \*\*

## RESUMO

Foram analisadas quatro marcas (A, B, C e D) de leite pasteurizado Integral/Fazenda (I/F) comercializadas em Viçosa-MG em 1996, sendo nove amostras para cada. Avaliou-se as características físico-químicas e microbiológicas. Diante dos resultados encontrados, pode-se concluir que o leite pasteurizado I/F está sendo comercializado, em sua maioria, cru, com adição de água, com contaminação por coliformes e com volume abaixo do especificado. A marca C apresentou os piores resultados com relação à sua qualidade. Desta forma é visível a necessidade da elaboração de uma legislação e posterior fiscalização dos estabelecimentos produtores deste tipo de leite.

## 1 - INTRODUÇÃO

O problema da comercialização do leite na sua forma "*in natura*" é muito grave tendo em vista as conseqüências à saúde pública a partir dos microrganismos patogênicos e substâncias tóxicas veiculados por ele. Segundo Vargas (1995), 3,1 bilhões de litros de leite foram comercializados em 1993 "*in natura*" correspondendo a 41% do total produzido.

No comércio brasileiro, o preço de leite pago pelas indústrias muitas vezes não é lucrativo para os pequenos produtores. Desta maneira, com o intuito de obterem maior lucro e evitarem a venda do leite cru, eles estão investindo em microusinas evitando desta forma a entrega do leite às cooperativas. Nestas microusinas o leite integral é pasteurizado pelo método lento através da imersão de embalagens plásticas contendo leite cru em tanques com água aquecidos a gás de forma que o produto seja mantido a 62-65 °C/30 minutos.

Segundo Abreu et. al. (1995), a lei 7889 de 23 de novembro de 1989 dá competência a Estados e Municípios para a execução de trabalhos que eram exclusivos do Governo Federal no que diz respeito à Inspeção de Produtos de Origem Animal. Assim, cabe à Prefeitura a fiscalização de produtos

que não ultrapassem as fronteiras do seu município. No entanto, muitas prefeituras não tiveram tempo para se equiparem para o serviço de inspeção e sendo assim, muitas indústrias e pequenos laticínios estão sem fiscalização. Ocorrendo portanto, negligência às normas recomendáveis para se produzir um leite pasteurizado de boa qualidade, colocando em risco a população consumidora, principalmente crianças que têm no leite uma de suas principais fontes de nutrientes.

Pelo exposto e devido a falta de informação sobre o respectivo tema e, considerando a importância que o leite representa na alimentação humana, realizou-se o referido trabalho no qual foi avaliada a qualidade físico-química e microbiológica do leite pasteurizado em banho-maria (Integral/Fazenda).

## 2 - MATERIAL E MÉTODO

## 2.1 - Amostragem

Foram analisadas quatro marcas de Felctiano, n. 20-7 de leite pasteurizado Integral/Fazenda (I/F) comercializadas em Viçosa-MG em 1996, sendo 9 amostras para cada. As amostras foram colhidas em padarias e supermercados da cidade,

\* Professora de Inspeção de Produtos de Origem Animal do Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Viçosa - Minas Gerais, Viçosa-MG, CEP: 36571-000  
\*\* Alunos de Graduação do Curso de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Viçosa - Minas Gerais

acondicionadas em isopor com gelo e imediatamente enviadas e analisadas no Laboratório de Inspeção de Produtos de Origem Animal do Departamento de Veterinária da Universidade Federal de Viçosa.

## 2.2 - Análises Microbiológicas e Físico-Químicas

Dos aspectos físico-químicos foram analisados: o Extrato Seco Total (EST), o Extrato Seco Desengordurado (ESD), volume, acidez Dornic, peroxidase, fosfatase alcalina, crioscopia, densidade, gordura, reconstituintes (amido e sacarose), conservantes (água oxigenada e formol). Foi utilizada a metodologia empregada pelo Laboratório Nacional de Referência Animal -

**TABELA 1 - Resultados das análises físico-químicas e microbiológicas segundo a marca do leite pasteurizado I/F comercializado em Viçosa.**

ANÁLISES	MARCAS			
	A	B	C	D
Densidade a 15°C	1,032	1,032	1,018	1,032
Crioscopia (°H)	-0,541	-0,536	-0,314	-0,541
Acidez (°D)	16,33	15,54	10,30	16,21
Gordura (%)	4,74	3,98	2,40	3,8
EST (%)	14,0	13,17	7,65	12,7
ESD (%)	9,29	9,2	5,27	8,94
Volume (ml)	1013,77	995,33	976,94	999,22
Amido (%)	-	-	-	-
Sacarose (%)	-	-	-	-
Formol (%)	-	-	-	-
Água Oxigenada (%)	-	-	-	-
Cloretos (%)	22,22	11,11	-	11,11
Mesófilos (UFC/ml)	46,02 × 10 <sup>1</sup>	42,7 × 10 <sup>1</sup>	98,70 × 10 <sup>3</sup>	100,7 × 10 <sup>1</sup>
Coliformes 30°C	-	-	323 NMP/ml	-
Coliformes 45°C	-	-	25,24 NMP/ml	-
Peroxidase - (%)	100	-	-	-
Fosfatase + (%)	-	-	100	-

**TABELA 2 - Resultados dos testes físico-químicos do leite pasteurizado I/F comercializado em Viçosa.**

TESTES	MÉDIA	DESVIO PADRÃO	AMOSTRAS FORA DOS PADRÕES (%)
Volume (ml)	996,3	24,98	38,88
Gordura (%)	3,7	0,99	25,0
Densidade a 15°C	1,029	0,006	25,0
Crioscopia (°H)	-0,483	0,10	27,77
Acidez (°D)	14,6	3,0	25,0
EST (%)	11,8	2,61	25,0
ESD (%)	8,17	1,74	25,0

LANARA (Métodos II..., 1981).

Para avaliar a qualidade microbiológica das amostras foram determinadas a contagem total de mesófilos aeróbios e o Número Mais Provável (NMP) de coliformes a 30 °C e a 45 °C, segundo a metodologia do Laboratório de Referência Animal - LARA (Métodos I..., 1993).

## 3 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados das análises físico-químicas e microbiológicas do leite analisado, segundo a marca, estão na Tabela 1 abaixo:

Os resultados das análises físico-químicas do leite I/F, porcentagem de amostras fora dos padrões legais (Brasil, 1980) e seus respectivos desvios padrões estão nas Tabelas 2 e 3:

**TABELA 3 - Resultados dos testes de cloretos, peroxidase e fosfatase alcalina do leite pasteurizado I/F comercializado em Viçosa.**

TESTE	RESULTADOS
Cloretos	11,11% das amostras estavam fora dos padrões
Peroxidase	25% das amostras estavam negativas
Fosfatase Alcalina	25 % das amostras estavam positivas

Segundo a Tabela 2 o valor médio do volume encontrado por embalagem foi de 996,3 ml, sendo que 3,88% das amostras estavam fora dos padrões estipulados pela legislação. A marca C estava com 19 % das amostras com volume inferior a 1.000 ml. Rodrigues et al. (1995) pesquisaram o mesmo tipo de leite na mesma região e observaram que 25 % das 56 amostras analisadas não estavam dentro do volume de 1.000 ml. Este resultado mostrou uma desuniformidade no volume indicando que o sistema de empacotamento utilizado é de difícil controle para padronizar o volume.

A média dos resultados da crioscopia (-0,483 °H) revelou estar fora do padrão, indicando a ocorrência de aguagem em 27,77% das amostras. Apenas uma amostra da marca B apresentou aguagem (-0,494 °H). Entretanto 100% das amostras da marca C tiveram adição de 50% de água em média, apresentando média de -0,314 °H. Rodrigues et al. (1995) encontraram um valor médio de -0,540 °H para o índice crioscópico, sendo observado um índice de -0,342 °H em apenas uma marca, indicativo de adição de cerca de 40% de água. Cerqueira et al. (1995) encontraram 13,33% das amostras analisadas em Belo Horizonte fora do padrão. Na mesma cidade, Souza et al. (1995) encontraram 21,57% das 51 amostras analisadas com aguagem e Mesquita et al. (1996) verificaram 17,34% fora do padrão.

O teor médio de gordura se encontrava dentro dos padrões. Entretanto, todas as amostras da marca C estavam abaixo do limite mínimo de 3% estabelecido para o leite tipo "C". Rodrigues et al. (1995) verificaram que 20,71% das amostras estavam em desacordo com a legislação. Souza et al. (1995) observaram 33,33% de 51 amostras fora do padrão. Cerqueira et al. (1995) observaram que 40% das 30 amostras de leite pasteurizado I/F comercializadas em Belo Horizonte (MG) estavam fora dos padrões. Já Abreu et al. (1995), na cidade de Lavras (MG), concluiu que todas as amostras estavam dentro dos padrões. Campos et al. (1995) encontraram 3,7% das amostras fora do padrão.

Tendo em vista que este leite é vendido como leite integral, os dados encontrados podem indicar a ocorrência de desnate parcial, falta de

agitação durante a estocagem antes do envase ou mesmo aguagem do leite, ocorrendo diluição do teor de gordura.

A média da acidez encontrada foi de 14,6%, ou seja, está dentro dos limites da legislação. Porém, foram encontradas 30,55% das amostras fora dos padrões, sendo que a marca B apresentou 8,33% do total de suas amostras fora dos padrões e a marca C, 22,22%. Campos et al. (1995), Cerqueira et al. (1995), Souza (1994) e Mesquita (1996) encontraram respectivamente: 1,25%, 13,33%, 7,84% e 12,24% das amostras avaliadas, em Belo Horizonte, fora dos padrões estabelecidos pela legislação. Como foi constatada aguagem nas amostras da marca C, houve diluição da acidez nestas amostras.

A análise de cloretos revelou que 11,11% das amostras foram positivas, podendo ser devido ao leite oriundo de vacas com mamite, mistura de colostro ou mesmo resíduos de detergente e sanitizantes a base de cloretos.

Quanto à presença de amido, sacarose, formol e água oxigenada, todas as amostras foram negativas.

Na análise da densidade a 15°C foi encontrada uma média de 1,028, estando, portanto, dentro do padrão. Porém, todas as amostras da marca C apresentaram densidade abaixo do mínimo exigido, com média de 1,018 a 15 °C. Este resultado sugere a ocorrência de algum tipo de fraude, sendo a adição de água a mais provável, principalmente pelo resultado da crioscopia. Rodrigues et al. (1995) e Cerqueira et al. (1995) relataram, respectivamente, 1,81% e 23,33% das amostras, fora do padrão.

O EST médio foi de 11,88% e amostras fora do padrão (AFP) igual a 25%, o ESD médio foi de 8,17% e AFP igual 25%. O EST está dentro do padrão estabelecido pela legislação, entretanto o ESD se encontra abaixo do valor mínimo estabelecido (8,5%). Todas as amostras da marca C apresentaram EST e ESD abaixo dos limites mínimos estabelecidos pelo RIISPOA. Souza et al. (1995) encontraram EST de 12,59% e ESD de 8,7%. Rodrigues et al. (1995) observaram EST de 12,8% e ESD de 9,01%, sendo 9,09% e 20% fora dos padrões, respectivamente.

Dentre as amostras analisadas (Tab. 3), 25% sofreram aquecimento acima do padrão recomendado resultando em peroxidase negativa. A origem deste resultado foi devida exclusivamente à marca "A". As outras marcas estavam corretas quanto ao binômio tempo/temperatura para esta enzima. O problema da negatividade para a peroxidase está relacionada à destruição de nutrientes do leite. Um leite superaquecido terá menor valor nutritivo do que um leite corretamente pasteurizado.

Foram observados 25% das amostras com fosfatase alcalina positiva, ou seja, foram subaquecidas. A origem desta média está relacionada exclusivamente à marca C na qual houve 100% de positividade para esta enzima. Isto indica que todas as amostras da marca "C" estavam cruas, significando comercialização de leite sem tratamento térmico adequado. Esta marca foi aquecida com um limite inferior ao preconizado ou até mesmo pode estar sendo empacotado sem nenhum tratamento térmico, o que pode ser evidenciado pela alta contagem de coliformes a 30°C e 45°C e por ser a taxa de mesófilos a m encontrada dentre as marcas analisadas. Esta marca estava

Rodrigues et al. (1995) encontraram 10,71% de amostras subaquecidas, ou seja, cruas, e 8,92% de amostras superaquecidas. Abreu et al. (1995) detectaram 3,4% das amostras com fosfatase alcalina positiva. Mesquita et al. (1996) observaram em 1038 amostras no estado de Goiás 5,2% de positividade para fosfatase alcalina e 7,41% de negatividade para peroxidase. Henriques et al. (1995) detectaram 40% das amostras da marca "C", em Viçosa, positivas para fosfatase alcalina e 20% negativas para peroxidase; 100% das amostras da marca D estavam superaquecidas. Souza (1994) encontrou em Belo Horizonte, 20% das amostras superaquecidas e nenhuma subaquecida. Também em Belo Horizonte, Souza et al. (1995) detectaram, em 81 amostras, 11,11% com presença de fosfatase alcalina. Nader Filho et al. (1994) observaram uma correta pasteurização do leite comercializado em Sertãozinho (SP).

A falta de controle da temperatura da água, da ausência do termômetro, do controle automático do tempo de tratamento térmico e das

análises laboratoriais, todos obrigatórios pela legislação federal (RIISPOA), tornam a pasteurização do leite realizada desta forma um grande risco para a saúde dos consumidores (Rodrigues et al., 1995). O leite beneficiado I/F apresentou maior variação de resultados físico-químicos do que os leites tipo "A" e "C" (Cerqueira et al., 1995).

Os resultados das análises microbiológicas do leite I/F, percentagem de amostras fora dos padrões legais e seus respectivos desvios padrões estão na Tabela 4.

As análises de mesófilos aeróbios revelaram uma média de  $111 \times 10^2$  UFC/ml, indicando estar dentro do padrão estabelecido para leite tipo "B". Porém, a marca C apresentou uma média de  $98,7 \times 10^3$  UFC/ml, evidenciando uma maior taxa de mesófilos. Entretanto, visto que todas as amostras desta marca não sofreram tratamento térmico adequado, esta alta taxa bacteriana comprova a ineficiência da suposta "pasteurização" realizada. Souza et al. (1995) detectaram entre 51 amostras analisadas, 35,29% fora do padrão para mesófilos aeróbios. Nader Filho et al. (1994) observaram em 30 amostras analisadas, média de 246 UFC/ml, sendo este valor considerado baixo. Vieira et al. (1994) encontraram entre 90 amostras estudadas, 27,54% fora do padrão. Mesquita et al. (1996) em Goiás, mostraram que em 1038 amostras, 8,19% estavam acima dos limites máximos legais. Henriques et al. (1995) descreveram seus achados do leite I/F como leite com baixa carga de mesófilos, podendo ser classificado como leite tipo "A": menor que 500 UFC/ml. Já Rodrigues et al. (1995) detectaram uma média de  $3,61 \times 10^6$  UFC/ml com 61,23% das amostras fora do padrão.

Quanto à análise de coliformes, a 30°C foi obtida média de 323 NMP/ml e a 45°C, de 25,24 NMP/ml para a marca C. Nesta marca todas as amostras estavam fora dos padrões tanto para coliformes a 30°C quanto para 45°C. Para as marcas A, B e D houve ausência de coliformes para todas as amostras. Mas, a média geral para coliforme, a 30°C, foi de 81 NMP/ml com 25% das amostras fora do padrão e a 45°C, foi de 2,8 NMP/ml com 25% das amostras fora do padrão.

TABELA 4 - Resultados dos testes microbiológicos do leite pasteurizado I/F comercializado em Viçosa.

	MÉDIA	DESVIO PADRÃO	AMOSTRAS FORA DOS PADRÕES (%)
Mesófilos (UFC/ml)	$111 \times 10^2$	72,04	2,77
Coliformes a 30°C (NMP/ml)	81	80,85	25
Coliformes a 45°C (NMP/ml)	2,8	16,06	25

A presença de coliformes pode ser devido a contaminação do leite pós-pasteurização. Porém, neste caso, como o leite é empacotado e depois pasteurizado, estes coliformes não poderiam ser encontrados já que são destruídos com a pasteurização. Também o risco de contaminação é quase nula. Entretanto, como todas as amostras da marca C foram subaquecidas e adicionadas de água, pode-se supor que a origem destes coliformes estaria no manuseio inadequado ou mesmo na água adicionada ao leite, podendo esta ser o principal veículo desta contaminação. Para as marcas B e D pode-se dizer que a pasteurização foi bem feita não havendo contaminação pós-pasteurização. A marca A que sofreu superaquecimento também não apresentou coliformes.

Vieira et al. (1995) detectaram entre 90 amostras de leite, 40,58% fora do padrão para coliformes a 30°C e, 31,16% para coliformes a 45°C. Rodrigues et al. (1995) encontraram média de 0,97 NMP/ml para coliformes a 30°C, com 2,04% das amostras fora do padrão; e média de 0,3 NMP/ml para coliformes a 45°C, com ausência de amostras fora do padrão. Mesquita et al. (1996) detectaram 15,13% das amostras fora do padrão para coliforme a 30°C e 3,29% para coliformes a 45°C.

Muitos defendem este tipo de pasteurização do leite pela vantagem de ser imediatamente pasteurizado na fazenda e por não ter contaminação pós-pasteurização (Rodrigues et al., 1995). Entretanto, após a análise dos resultados encontrados neste trabalho, juntamente com os achados na literatura consultada, pode-se observar que na prática isto não ocorre.

Nader Filho et al. (1994) acreditam que novas investigações desta natureza devam ser realizadas no Brasil para trazer subsídios para o esclarecimento e/ou aprimoramento da eficiência do processo de pasteurização lenta.

## 5 - CONCLUSÕES

O leite pasteurizado pelo método lento em banho-maria (I/F) não apresenta suas características físico-químicas e microbiológicas de forma uniforme apresentando grande variabilidade de resultados.

A marca C analisada foi a que apresentou os piores resultados relativos à qualidade.

Além da necessidade de orientação técnica aos produtores de leite, há também a necessidade de elaboração de uma legislação para posterior fiscalização destes estabelecimentos e microusinas pelos órgãos competentes uma vez que o processamento deste leite e sua distribuição apresentam condições

higiênico-sanitárias insatisfatórias, tornando-o fora dos padrões estabelecidos pelo RIISPOA, para leite tipo C.

## 6 - SUMMARY

Four types of Integral/Fazenda (I/F) pasteurized milk from Viçosa (MG) were analyzed in 1996, nine of each type. The physico-chemicals and microbiological characteristics were analyzed. From the found results, we conclude that I/F pasteurized milk has been commercialized, in its majority, raw, with more water than the normal content, with coliform contamination and with lower volume than one liter. The C type showed the worst quality results. So, it's important to elaborate a new law and to improve the control of this kind of place that produce this kind of milk.

## 7 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABREU, L. R., CARVALHO, E. P., NETTO, A. C. M. S. Avaliação de alguns parâmetros físico-químicos e microbiológicos do leite pasteurizado comercializado na cidade de lavras no ano de 1994. *Rev. Inst. Latic. Cândido Tostes*, v.50, n.291, p.24-30, 1995
- BRASIL. Leis, Decretos, Resoluções, Portarias. **Regulamento da inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal**. Brasília: Ministério da Agricultura, 1980.
- CAMPOS, G., DAYRELL, I., BATISTA, K. E. S. et. Al. Avaliação físico-química de leites comercializados na região metropolitana de Belo Horizonte em 1994. In: XIII CONGRESSO NACIONAL DE LATICÍNIOS, 17, 1995, Juiz de Fora, *Anais*, p.161-162
- CERQUEIRA, M. N. O. P., SOUZA, M. R., FONSECA, L. M. et. al. Características físico-química do leite beneficiado em granja leiteira, entrepostos-usinas e propriedades rurais do estado de Minas Gerais. In: XIII CONGRESSO NACIONAL DE LATICÍNIOS, 17, 1995, Juiz de Fora. *Anais*, p. 99-103
- HENRIQUES, M. R., PINTO, C. L. O., VANETTI, M. C. D. Avaliação da qualidade microbiológica do leite pasteurizado comercializado no município de Viçosa (MG). In: XIII CONGRESSO NACIONAL DE LATICÍNIOS, 17, 1995, Juiz de Fora, *Anais*, p. 272-275.

MESQUITA, A.J., OLIVEIRA, A.N., NICOLAU, E.S. et. al. Qualidade microbiológica e físico-química do leite integral pasteurizado pelo processo lento, em propriedades rurais do estado de Goiás. In XXIV CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 1996.

MÉTODOS analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes. II. Métodos Físicos e Químicos. Brasília: LANARA, 1981.n.p.

MÉTODOS analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes. I - Métodos Microbiológicos. Brasília: LARA, 1993. 136 p.

NADER FILHO, A., AMARAL, L.A.A., LONGHI, J.L. et. al. Eficiência da pasteurização lenta do leite previamente ensilado. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec., V.46, N.6, P.729-736, 1994.

RODRIGUES, F.T., VIEIRA, M.D., SANTOS, J.L. et. al. Características físico-químicas e microbiológicas de leite cru e pasteurizado comercializados em Viçosa-MG. In: XIII CONGRESSO NACIONAL DE LATICÍNIOS, 17, 1995, Juiz de Fora, Anais, p.237-240.

SOUZA, M.R. Avaliação da Eficiência da pasteurização de leite beneficiado em granjas leiteiras, entrepostos usinas e propriedades rurais do Estado de Minas Gerais. Belo Horizonte: Escola de Veterinária da UFMG, 1994. 78 p. Tese (Mestrado em Medicina Veterinária).

SOUZA, M.R., CERQUEIRA, M.N.O.P., FONSECA, L.M. et. al. Avaliação microbiológica e físico-química de leite integral submetido a pasteurização lenta em banho-maria em propriedades rurais do estado de Minas Gerais. In: XIII CONGRESSO NACIONAL DE LATICÍNIOS, 17, 1995, Juiz de Fora, Anais, p.85-88.

VARGAS, O.L. A comercialização de leite cru e a segurança do consumidor. Rev. Inst. Latic. Cândido Tostes, Jan/Fev, v.50, n.291, p.3-17, 1995.

VIEIRA, M.B.C.M., DIAS, R.S., SOUZA, J. M. et. al. Avaliação da qualidade microbiológica de leites, cru, pasteurizado tipo "C" e pasteurizado integral/fazenda, comercializados em algumas cidades mineiras, em 1994. In: XIII CONGRESSO NACIONAL DE LATICÍNIOS, 17, 1995, Juiz de Fora, Anais, p.138-141, 166p.

## ASSINE A REVISTA

# ILCT

## AVALIAÇÃO DO LIMITE DE DETECÇÃO DE ALGUNS MÉTODOS DE PESQUISA DE CONSERVADORES EM LEITE \*

Evaluation of detection limit of several methods in detecting preservatives in milk.

Marco Antônio Moreira Furtado\*\*  
Míriam Aparecida Pinto Vilela\*\*  
Paulo Victor Pereira Baio \*\*\*  
Vaneida Maria Meurer \*\*\*\*

### RESUMO

O limite de detecção dos principais métodos empregados no país para pesquisa de conservadores em leite foi avaliado. Os métodos mencionados referem-se à detecção de formaldeído, hipoclorito de sódio e peróxido de hidrogênio, que são comumente adicionados ao leite para evitar sua deterioração. Os principais métodos aplicados são aqueles descritos por BRASIL (1981), PEREIRA (1980), e SÃO PAULO (1985). Os resultados mostraram que os níveis de detecção oscilaram de 2 a 105 ppm para hipoclorito de sódio; 5 a 50 ppm para formaldeído e 15 a 80 ppm para peróxido de hidrogênio. Os resultados também demonstraram ser essencial a realização simultânea de uma prova testemunha com leite genuíno para comparação. Recomenda-se a realização de trabalhos semelhantes com amostras de leite cru para avaliar o limite de detecção dos métodos de pesquisa de peróxido de hidrogênio.

### INTRODUÇÃO

A qualidade dos alimentos é uma preocupação de todos aqueles que se interessam pela saúde dos consumidores. O leite é um alimento amplamente consumido principalmente pôr recém-nascidos, crianças e idosos, devendo estar isento de quaisquer substâncias estranhas ou tóxicas. Entretanto, devido a sua característica de alta perecibilidade e freqüente a prática fraudulenta de adição de substâncias conservadoras, na tentativa de aumentar a sua vida útil.

Os principais conservadores utilizados são o formaldeído, hipoclorito de sódio e peróxido de hidrogênio, além de antibióticos.

O controle de qualidade envolve, entre

outros parâmetros, a aplicação de testes específicos para detectar conservadores. Vários métodos qualitativos são recomendados para detecção destes conservadores, não demonstrando entretanto, quais os seus limites de detecção.

Buscou-se neste trabalho avaliar o limite de detecção destes métodos.

### MATERIAL E MÉTODOS

#### 1. MATERIAL

Amostras autênticas de leite pasteurizado foram adicionadas de concentrações conhecidas e progressivas de conservadores, conforme Quadro 1.

A concentração dos reagentes utilizados como conservadores ( formaldeído, hipoclorito de

QUADRO 1 : Níveis de adição de conservadores ao leite pasteurizado em laboratório

Conservadores	Níveis de adição (ppm)						
	0	5	10	15	20	25	Até detecção
Formaldeído	0	5	10	15	20	25	Até detecção
Hipoclorito de Sódio	0	5	10	15	20	25	Até detecção
Peróxido de Hidrogênio	0	5	10	15	20	25	Até detecção

\* Participante do VI Programa de Bolsas de Iniciação Científica, da PROEP/UFJF ( VI BIC ).

\*\* Professores do Departamento de Bromatologia da Faculdade de Farmácia e Bioquímica /UFJF. Campus Universitário CEP 36036-330 - Juiz de Fora - MG

\*\*\* Técnico em Laticínios, Farmacêutico-Bioquímico, Bolsista do VI BIC.

\*\*\*\* Farmacêutica-Bioquímica do Departamento de Bromatologia da F.F.B.-UFJF.

sódio e peróxido de hidrogênio ) adicionadas ao leite, foi previamente determinada segundo a metodologia descrita na U.S.P. PHARMACOPEA (1990) e ARAÚJO (1992).

Em seguida as amostras assim adulteradas foram analisadas em duplicata frente aos métodos descritos em BRASIL (1981), PEREIRA (1980) e SÃO PAULO (1985), sempre acompanhadas de uma prova testemunha (0% de adição), conforme metodologia a seguir.

Amostras de leite cru foram adulteradas com peróxido de hidrogênio e testadas frente aos métodos descritos.

**2.MÉTODOS**

**2.1.PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO**

**Brasil (1981):**

Primeiro método: Em um tubo de ensaio, colocar 10 ml de leite e 10 gotas de solução de óxido de vanádio. Agitar. Na presença de água oxigenada aparecerá uma coloração rósea ou vermelha.

Segundo método: Transferir 10 ml de leite para tubo de ensaio. Adicionar 2 ml de leite cru. O aparecimento de uma coloração salmão indicará a presença de água oxigenada.

**Pereira (1980):**

Primeiro método: Ponha num tubo de ensaio, 5 ml da amostra: junte 2 ml de ácido clorídrico R, homogeneize e junte 01 gota de formol, agite e aqueça em chama de lamparina a álcool. Positivo: Coloração violácea.

Segundo método: Ponha num tubo de ensaio, 5 ml da amostra e, pela parede, junte 3 gotas de reagente de Arnold-Mentzel. Positivo: Coloração Amarelo-rosada no ponto de contato.

Terceiro método: Misture, num tubo de ensaio, 5 ml da amostra e 05 ml de guaiacol 1% SR. Positivo: Coloração salmão.

Quarto método: Misture, num tubo de ensaio, partes iguais (1 ml) de leite e iodeto de potássio a 10% SR. Positivo Coloração amarelo-tijolo.

**São Paulo (1985):**

Primeiro método: Transfira 10 ml da amostra para um tubo de ensaio graduado de 20 ml. Adicione 2 ml de uma solução de guaiacol 1% e 2 ml de leite cru. O aparecimento de uma cor salmão indicará a presença de água oxigenada.

Segundo método: Meça 10 ml da amostra em uma proveta e transfira para um tubo de ensaio. Adicione de 10 a 20 gotas de óxido de vanádio. Agite. Na presença de água oxigenada,

aparecerá uma coloração rósea ou vermelha.

Terceiro método: Em um tubo de ensaio coloque 2 ml da amostra, 2 ml de solução de ácido clorídrico a 1% e 2 ml de solução de iodeto de potássio a 10%. Aqueça por 1 minuto em banho-maria. Resfrie rapidamente. Acrescente, em seguida, 2 ml de solução de amido a 1% previamente fervida e resfriada. O desenvolvimento de uma coloração azul indica teste positivo.

**2.2.FORMALDEÍDO**

**Brasil (1981):**

Primeiro método: Transferir 10 ml de leite para tubo de ensaio de 25 ml, adicionar 2 ml de ácido sulfúrico 1 + 1 e 0,5 ml de solução de cloreto férrico a 2 %. Aquecer até ebulição. Na presença de formol aparecerá coloração roxa.

Segundo método: Transferir 10 ml de leite para tubo de ensaio e adicionar 1 ml de solução de floroglucina a 1% e 2 ml de solução de hidróxido de sódio a 10%. Agitar. Na presença de formol aparecerá coloração salmão. A coloração é fugaz.

**Pereira (1980):**

Primeiro método: Misture num tubo de ensaio, 5 ml da amostra, 2 ml de ácido sulfúrico 50% e 0,5 ml de cloreto férrico 2% SR. Aqueça à ebulição em chama de lamparina a álcool. Positivo: coloração violácea.

Segundo método: Misture, num tubo de ensaio, 5 ml da amostra e 2 ml de hidróxido de sódio (ou potássio) 10% SR. Junte 0,5 ml de floroglucina (em éter) 1% SR e agite. Positivo: coloração avermelhada.

**São Paulo (1985):**

Primeiro método: Transfira 10 ml da amostra para um tubo de ensaio de 20 ml. Adicione 1 ml de solução de floroglucina a 1% e 2 ml de uma solução de hidróxido de sódio a 10%. Agite. Na presença de formaldeído, aparecerá uma coloração salmão.

Segundo método: Transfira 5 ml de amostra e 1 ml de ácido sulfúrico (1 + 1) para um tubo de ensaio. Adicione 01 gota de solução de cloreto férrico a 1% . Aqueça até ebulição. Na presença de formaldeído aparecerá uma coloração roxa.

**2.3.HIPOCLORITO DE SÓDIO**

Brasil (1981): Em um tubo de ensaio colocar 5 ml de leite e adicionar 0,5 ml de solução de iodeto de potássio a 7,5%. Agitar. Observar a

coloração do meio. Se der coloração amarela, indica a presença de cloro livre. A confirmação é dada adicionando-se 1 ml de solução de amido a 1%. Deverá desenvolver coloração azul ou violeta. Não havendo mudança de coloração, adicionar 4 ml de ácido clorídrico 1 + 2. Colocar em banho-maria a 80 graus C por 10 minutos (não ultrapassar os 80° C ). Esfriar em água corrente e observar a coloração da coalhada. Na presença de hipoclorito deverá ser amarela. Para confirmação, adicionar 1 ml de solução de amido a 1%. Deverá desenvolver coloração azul ou violeta. Fazer uma prova em branco com ácido clorídrico.

Pereira (1980): Misture, num tubo de ensaio, partes iguais ( 1ml ) de leite e iodeto de potássio 10% SR. Positivo: coloração amarelo tijolo.

**QUADRO 2 - Limites de detecção (ppm)de conservadores em leite - métodos qualitativos**

Métodos	BRASIL (1981)		PEREIRA (1980)				SÃO PAULO (1985)		
	1°	2°	1°	2°	3°	4°	1°	2°	3°
Conservador									
Peróxido de Hidrogênio	50	15	40	80	20	20	15	50	20
Formaldeido	5	10	10	20	=	=	15	50	=
Hipoclorito de Sódio	2	=	105	=	=	=	=	=	=

**RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Um resumo dos resultados obtidos é apresentado no Quadro 2, seguido da discussão destes para cada conservador.

**Peróxido de hidrogênio:** O primeiro método de SÃO PAULO (1985) que é idêntico ao segundo método de BRASIL (1981) foram os mais sensíveis, detectando a adição de 15 ppm. Observou-se uma grande variedade de métodos com diferenças significativas em termos de facilidade de execução e limite de detecção. Já o 3° e 4° métodos de PEREIRA (1980) e o 3° método SÃO PAULO (1985) apresentaram o mesmo limite de detecção (20 ppm), destacando-se os dois primeiros pela facilidade de execução e rapidez em relação ao terceiro. O 2° método recomendado por PEREIRA (1980), apesar de ser de fácil execução só detectou adulteração a partir de 80 ppm de peróxido de hidrogênio. O 1° método BRASIL (1981) e o 2° método SÃO PAULO (1985), que são idênticos, foram capazes de detectar adulterações a partir de 50 ppm. Quando se trabalhou com amostras de leite cru, os resultados foram inconsistentes em função, provavelmente, de

variações dos níveis de catalase das amostras, tempo de contato, dentre outros fatores. Observou-se ainda uma perda de sensibilidade para todos os métodos testados em relação ao leite pasteurizado.

**Formaldeido:** Ao analisar os resultados obtidos nos seis métodos testados (Quadro 2) observou-se uma variação razoável no limite de detecção apresentado, apesar dos métodos serem semelhantes, e também uma relativa facilidade de execução de todos eles. Os mais sensíveis foram: o 1° método citado em BRASIL (1981), com limite de detecção de 5 ppm, e também 1° método de PEREIRA (1980) e o 2° de BRASIL (1981), ambos detectando 10 ppm.

**Hipoclorito de sódio:** O método BRASIL (1981), apesar de mais trabalhoso, demonstrou ser bastante sensível, em oposição ao descrito em

PEREIRA (1980). SÃO PAULO (1985) não faz referência a métodos qualitativos para detecção de hipoclorito de sódio.

**CONCLUSÃO**

As diferenças observadas nos limites de detecção dos diversos métodos testados demonstram a necessidade de uma avaliação mais rigorosa, no sentido de adotar preferencialmente aqueles métodos que assegurem bons resultados. Devem ser levados em consideração também aspectos como facilidade de execução, tempo de resposta e custo. Observou-se ser imprescindível a realização simultânea de uma prova testemunha com leite autêntico (para comparação) em todos os métodos. Para pesquisa de peróxido de hidrogênio recomenda-se a realização de trabalhos semelhantes com amostras de leite cru para melhor avaliar o limite de detecção dos métodos.

**SUMMARY**

The evaluation of several useful methods in detecting preservatives in milk was tested. The methods mentioned are to detect formaldehyde, sodium hypochlorite and hydrogen peroxide, which

are usually added to the milk to keep it from spoiling. The main methods applied were described by BRASIL (1981), PEREIRA (1980), and SÃO PAULO (1985). The results showed that the level of detection was variable and oscilates from 2 ppm to 105 ppm to sodium hypochlorite; 5 ppm to 50 ppm to formaldehyde; 15 ppm to 80 ppm to hydrogen peroxide. The results also showed that it is essential to carry on simultaneous tests with genuine milk to compare the results and provides it safely. It is recommended to perform similar tasks with non pasteurized milk samples in order to evaluate the detection limit of the research methods used for hydrogen peroxide.

#### AGRADECIMENTOS

À professora Lina Lúcia Teperino de Araújo, pela contribuição na parte experimental.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARAÚJO, L.L.T. *Controle de Qualidade de Medicamentos*. Faculdade de Farmácia e Bioquímica/ UFJF, 1992. (Apostila). n.p.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. *Métodos Analíticos Oficiais para Controle de Produtos de Origem Animal e seus Ingredientes Vol.II-Métodos Físicos e Químicos*. Brasília, 1981.p.i.

PEREIRA, J.F. *Análise de Leite e Derivados*. Faculdade de Farmácia e Bioquímica/UFJF, Juiz de Fora, 1980. p.i.(Apostila).

SÃO PAULO.INSTITUTO ADOLFO LUTZ. *Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz. Volume 1- Métodos Químicos e Físicos para análise de alimentos*, 3ª ed. São Paulo:1985. 533p.

THE UNITED STATES PHARMACOPEIA *The National Formulary - USP XVII, NF XII* 17ª Ed. Rockville, United States Pharmacopoeial conv.- 1990.

**Queijos  
Finos**

**Do Leite  
ao Queijo  
de Cabra**

A EPAMIG - Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais, através do "Instituto de Laticínios Cândido Tostes", lançou em julho, por ocasião do XIII e XIV Congressos Nacionais de Laticínios, dois livros sobre diversas variedades de queijos de vaca e cabra e a tecnologia de fabricação dos mais afamados queijos do mundo; além de um glossário com mais de 100 variedades de queijos e anexos estatísticos sobre o setor.

#### Informações

Área de Difusão de Tecnologia  
CEPE/ILCT/EPAMIG - Caixa Postal 183 - 36045-560 - Juiz de Fora - MG  
Fone: (032) 224-3116 Fax: (032) 224-3113

## QUEIJO PRATO SALGADO COM NaCl E/OU MgCl<sub>2</sub>. I. MATURAÇÃO E ACEITABILIDADE

### PRATO CHEESE BRINED WITH NaCl AND/OR MgCl<sub>2</sub> I. RIPENING AND ACCEPTABILITY

Lúcio Alberto Forti Antunes<sup>2</sup>  
Flávia Regina França Costa<sup>3</sup>

#### RESUMO

Queijos prato foram submetidos a 5 diferentes tipos de salmouras (20% p/v) contendo NaCl e/ou MgCl<sub>2</sub>. Análises físico-químicas e sensoriais foram conduzidas para acompanhar a influência do MgCl<sub>2</sub> nas características de maturação e aceitabilidade do queijo prato. Os resultados mostraram que queijos salgados com misturas de NaCl e MgCl<sub>2</sub> tiveram seu peso aumentado após a salga devido a maior retenção de umidade causada pelo MgCl<sub>2</sub>. Foi possível observar também que uma maior atividade proteolítica das enzimas do coalho nos queijos com MgCl<sub>2</sub>, sem no entanto interferir no comportamento da maturação. Em queijos salgados com MgCl<sub>2</sub> foi observado um "flavor" amargo, cuja intensidade dependeu da concentração do sal; no entanto, os queijos salgados com 60% de NaCl e 40% de MgCl<sub>2</sub> tiveram aceitabilidade muito similar ao controle (100% NaCl), sendo possível indicá-lo como uma nova alternativa para a indústria de laticínios na produção de queijo com baixo teor de sódio.

#### INTRODUÇÃO

Nos últimos tempos tem-se verificado uma crescente conscientização, por parte dos consumidores de alimentos em todo o mundo, em relação à ingestão de produtos que atendam às suas necessidades nutricionais. Grupos especiais de indivíduos, como os hipertensos, necessitam de dietas restritas em sódio e muitas vezes são obrigados a deixarem de consumir produtos que apresentem em sua formulação cloreto de sódio em proporções consideráveis.

O sódio é um alimento essencial na dieta humana e sua ingestão mínima diária é da ordem de 100 a 200 mg (0,25 a 0,5 g de sal/dia) (MARSH, 1983). Nos EUA as ingestões diárias desse elemento podem atingir 3.900 à 4.700 mg, representando uma ingestão 20 - 25 vezes maior do que a necessidade diária de um adulto (HAND 1982). No Brasil, esses dados não diferem muito. Como consequência, tem-se que a hipertensão é um problema que aflige mais de 20% da população mundial.

Em função desta problemática, pesquisadores têm buscado encontrar um substituto

adequado para o cloreto de sódio em muitos alimentos visando oferecer produtos alternativos aos consumidores que necessitem ou prefiram uma dieta restrita de sódio. No entanto, têm deparado com um forte oponente: o sabor, já que a maioria da população considera um alimento isento ou com pouco sal sem gosto e, portanto, inaceitável (LYNCH, 1987). Alternativas de buscar substitutos parciais para NaCl como: o cloreto de cálcio, cloreto de potássio, cloreto de magnésio, sulfato de magnésio, ácido glutâmico, glutamato de potássio e sulfato de potássio têm sido testadas em vários alimentos.

Dentre muitos alimentos que possuem o cloreto de sódio em sua formulação, o queijo é dos mais importantes, por ser um produto de alto valor nutritivo e fonte de cálcio e outros elementos na dieta.

Segundo NAKAZAWA et al (1992), a substituição do cloreto de sódio pelo uso de outros cloretos, como os de potássio, cálcio e magnésio pode produzir produtos lácteos aceitáveis com menores teores de sódio.

Estudos visando obter queijos com teores reduzidos de sódio têm sido feitos (CERVANTES,

- 1 Parte da tese de mestrado em Ciência de Alimentos do segundo autor apresentada a Universidade Estadual de Londrina.
- 2 Ger. Tecnologia Aplicada e Controle de Qualidade. Chr. Hansen Ind. e Com. C.P. 371- Valinhos, SP - CEP 13276-970. Brasil
- 3 Mestre em Ciência de Alimentos - Universidade Estadual de Londrina. Londrina, PR

1983; FRITZGERALD & BUCKLEY, 1985; Lyndsay et al, apud OLSON, 1982; RAPACCI, 1989; SCHROEDER et al, 1988; REDDY & MARTH, 1991;) e têm sido constatado (RAPACCI, 1989 e NAKAZAWA et al (1992) que seus resultados podem ser bastante satisfatórios.

Por já ter apresentado um bom comportamento em produtos de salsicharia, pães, etc, o cloreto de magnésio aparece como um bom substituto do NaCl também em queijos. A introdução de MgCl<sub>2</sub> em determinadas proporções, possibilitaria não só aos consumidores a redução do nível de sódio, mas também a ingestão de um nutriente (magnésio), geralmente deficiente na dieta e que tem importante papel no metabolismo corpóreo, onde participa de reações enzimáticas, agindo também na manutenção da integridade estrutural e funcional dos tecidos orgânicos (RANHOTRA et al, 1976).

O queijo Prato é um importante queijo brasileiro quanto ao volume de produção. Assim, encontrar uma proporção ideal de cloreto de magnésio e cloreto de sódio na salga desse produto, seria de grande interesse para a indústria de laticínios e altamente benéfico para uma determinada classe de consumidores, proporcionando uma nova alternativa tecnológica, através de um produto com reduzido teor de sódio.

**MATERIAL E MÉTODOS**

**Ingredientes**

Foi utilizado leite pasteurizado com teor de gordura de 3,5-4,0%, acidez média de 16°D; cultura láctica Dry-Vac CH-143 (Chr. Hansen, Horsholm, Dinamarca), contendo Lactococcus cremoris e Lactococcus lactis; coalho Ha-La (Chr. Hansen, Valinhos-SP) com poder coagulante de 1:10.000; extrato de urucum (Dalton Lab) numa quantidade de 5 ml para cada 100 l; cloreto de sódio da Refinaria Nacional S/A ("Sal Cisne"); cloreto de magnésio - (MgCl<sub>2</sub>.6H<sub>2</sub>O - (Synth).

**Técnica de Fabricação**

Todos os processamentos (um processamento e uma repetição) foram levados a efeito na Cooperativa Agropecuária de Londrina (CATIVA), em tanque com 600l de leite.

O processamento do queijo prato obedeceu à tecnologia tradicional de produção (OLIVEIRA, 1982), com exceção da salga. O leite era pasteurizado a 72°C/15 segundos e resfriado a 32°-35°C, temperatura na qual se faziam as inoculações da cultura láctica (1,0% v/v), corante vegetal e coalho. A coagulação era feita em 40 minutos, seguida do corte da massa em cubos de 0,4-0,5

cm de aresta e agitação lenta. Vinte minutos após o corte iniciava-se o semi-cozimento da massa, sendo a temperatura elevada até 40° C numa taxa de 1°C a cada 4 minutos. Após a segunda mexedura até o "ponto de massa", iniciava-se uma pré-prensagem por 10 minutos, seguindo-se corte da massa e colocação em formas de 8 kg cada, as quais eram levadas a prensagem final em prensas coletivas verticais. Ao final da prensagem, as peças de queijos 8 kg cada eram subdivididas em 16 peças de 0,5 kg cada, levada para a pesagem e, em seguida, à salga. Após o tempo de salga, novamente pesada para se calcular a perda/ganho percentual de peso.

**Salga**

Os queijos produzidos foram divididos em 5 grupos para serem submetidos aos diferentes tratamentos de salga. Todos os processos de salga foram conduzidos em salmouras 20% (p/v), num volume de 3 l/kg de queijo. Os 5 tratamentos foram assim constituídos:

- Tratamento A = 100% NaCl
- Tratamento B = 50% de NaCl - 50% de MgCl<sub>2</sub>
- Tratamento C = 60% de NaCl - 40% de MgCl<sub>2</sub>
- Tratamento D = 40% de NaCl - 60% de MgCl<sub>2</sub>
- Tratamento E = 100% MgCl<sub>2</sub>

As salmouras eram pasteurizadas a 80°C/15min e seu pH mantido entre 5,5-5,9.

Os queijos eram pesados antes e após a passagem pela salmoura para cálculo da perda ou ganho de peso.

**Embalagem e Maturação**

Após a salmoura, os queijos eram secos por 1-2 dias, embalados em embalagens plásticas (Cryovac), seladas à vácuo e deixadas maturar por 60 dias a 12° C sob uma umidade relativa de 85%.

**Determinações Analíticas**

Para as determinações analíticas foram empregados os seguintes métodos: umidade (RICHARDSON, 1985); pH (KOSIKOWSKI, 1978), acidez titulável (A.O.A.C., 1984); cinzas (A.O.A.C., 1984 e KOSIKOWSKI, 1978); gordura, pelo método de Gerber van Guliki (LANARA, 1981); cloretos, segundo Volhard (RICHARDSON, 1978); sódio (A.O.A.C., 1985); magnésio, por espectrofotometria de absorção atômica (MIYASAWA et al, 1984); nitrogênio total - microkjeldahl (A.O.A.C., 1984); nitrogênio solúvel (KOSIKOWSKI, 1978); nitrogênio não proteico (GRIPON et al., 1975).

O índice de maturação (I.M.) dos queijos foi calculado, como recomendado por FURTADO (1990), pela relação entre os conteúdos de nitrogênio solúvel (N.S.) e nitrogênio total (N.T.).  $IM = (NS/NT) \times 100$ .

O índice de profundidade de maturação (I.P.M.) dos queijos foi calculado, como citado por WOLFSCHOON-POMBO (1983), pela relação entre os conteúdos de nitrogênio não proteico (N.N.P.) e nitrogênio solúvel (N.S.).  $IPM = (NNP/NS) \times 100$ .

Para análise sensorial, os queijos foram submetidos ao teste de aceitabilidade geral, através de escala hedônica de 9 pontos, desde "desgostei muitíssimo" até "gostei muitíssimo", tal como recomendado por MORAES (1985). Setenta e sete provadores não treinados realizaram a prova com uma semana de intervalo para repetição.

Os dados físico-químicos foram avaliados estatisticamente através da análise de variância (ANOVA), utilizando o programa SAS. Já para a análise sensorial, foi realizada análise de variância (ANOVA) através de blocos casualizados, com 2 repetições, correspondente a parcelas subdivididas ("split-plots"), de acordo com SHIROSE & MORI (1994). Aos resultados com diferenças significativas aplicou-se o teste de Tuckey.

**RESULTADOS E DISCUSSÕES**

**Avaliação Físico-química**

Determinação da diferença de peso dos queijos após a passagem pelas salmouras

No processo de salga em salmoura ocorre o fenômeno osmótico, resultando na aquisição de sal por parte do queijo, com sua consequente desidratação parcial (FURTADO & SOUZA, 1981). No caso do queijo Prato, têm-se uma perda em torno de 2% de peso em salmoura à 20% (FURTADO et al, 1979).

Para uma perfeita avaliação da ocorrência ou não da perda de peso dos queijos contendo MgCl<sub>2</sub> na salmoura, todos os queijos designados

para cada tratamento foram pesados antes e após a passagem pela salmoura. Esses resultados obtidos são mostrados na Tabela 1 e a composição físico-química na Tabela 2.

Através da observação dos resultados, pode-se evidenciar que houve perda de peso somente nos tratamentos A e B, que continham um único tipo de sal, A (100% NaCl), E (100% MgCl<sub>2</sub>). Por outro lado, os tratamentos que continham misturas de sais (B, C e D), tiveram ganhos de peso ao passarem pela salmoura.

RAPACCI (1989), estudando substituições de NaCl por KCl em queijo Prato, observou que à medida em que se aumentava o teor de KCl na salmoura, havia diminuição na perda de peso dos queijos em termos percentuais, embora o conteúdo de sal absorvido em todos os tratamentos tivesse sido praticamente igual, concluindo que esta menor perda de peso na passagem pela salmoura com KCl poderia estar relacionada com uma menor capacidade que o KCl teria em desidratar as proteínas. No caso dos tratamentos B, C e D, onde se tinha misturas de Na<sup>+</sup> e Mg<sup>++</sup> é possível supor uma potencialização dessa atividade, além do fato de que essas misturas acabam por dificultar a saída de água no sentido inverso ao do sal, levando a uma maior retenção de umidade (Tabela 2).

**Composição físico-química dos queijos**

Os resultados referentes a composição físico-química dos queijos no dia da embalagem (dia 0) estão na Tabela 2.

Numa análise dos dados de umidade apresentados na Tabela 2, verificou-se que o teor de umidade dos queijos variou entre 42,1% a 45,6%, estando dentro da variação encontrada por FURTADO & WOLFSCHOON POMBO (1979) (B) (40,8% a 47,0%) e LONQUE e ANTUNES (1990) (40,17 a 44,69%). No entanto, foi possível observar (Tabela 2), que quando se utilizava salmouras contendo misturas de NaCl e MgCl<sub>2</sub> tratamentos B, C e D, os teores de umidade foram superiores aos dos tratamentos A e E (100% NaCl

**TABELA 1 - Valores médios do peso (em gramas) dos queijos antes e após a passagem pela salmoura, em cada tratamento.**

Tratamento	Peso antes da salmoura	Peso após a salmoura	Perda/ganho em percentual de peso
A	8859,5	8597,5	-2,96
B	8619,5	8970	+ 4,07%
C	8764,5	8955	+ 2,17%
D	8869,5	9345	+ 5,36%
E	8942	8677,5	-0,0296

e 100% MgCl<sub>2</sub> respectivamente). Além disso, esses 2 grupos de tratamentos - misturas e sais puros - tiveram o mesmo comportamento estatístico, não diferindo dentro de cada grupo (p < 0,05). Estes dados vêm de encontro ao observado tanto por THAKUR et al. (1975) quanto por SCHROEDER et al. (1988) de que Cheddar ausentes ou com baixos teores de NaCl, apresentam maior conteúdo de umidade que aqueles salgados em condições normais.

FURTADO et al. (1979), determinando a perda de peso sofrida pelo queijo Prato ao passar pela salmoura, deduziram que se o queijo fosse colocado em um meio menos concentrado que a salmoura e do que seu próprio líquido interno, poder-se-ia concluir que o mesmo ganharia peso, representado pelo aumento do teor de umidade.

Uma análise crítica da Tabela 2 permite notar que os valores de cinzas variaram entre 2,79% e 3,91%, se assemelhando ao descrito na literatura (SCHIFTAN & KOMATSU, 1980; TEIXEIRA, 1992). Por outro lado, também pode-se notar que os tratamentos B, C e D (misturas de sais), não diferem entre si (p < 0,05) no

conteúdo de resíduo mineral fixo, diferindo dos tratamentos A (100% NaCl) e E (100% MgCl<sub>2</sub>) que possuem um único tipo de sal. Isto evidencia a participação de cada sal nas cinzas dos queijos. Os demais dados mostraram-se com valores normais.

Na Tabela 3 está demonstrada a evolução do pH dos queijos na cura (tratamentos A, B, C, D e E durante 60 dias de maturação).

Analisando a Tabela 3 constata-se que os valores de pH obtidos neste experimento estão de acordo com o valor médio de pH do queijo Prato citado na literatura (pH em torno de 5,3 logo após a salga) (FURTADO & NETO, 1979; FURTADO & SOUZA, 1981; OLIVEIRA, 1982). Além disso, é possível observar que os tratamentos B e C, que inicialmente apresentaram valores mais elevados de pH (5,42 e 5,43), tiveram uma queda mais acentuada e constante nos primeiros 30 dias de maturação, juntamente com o tratamento E. Porém, todos os tratamentos atingiram quase os mesmos valores no final de 60 dias de cura, indicando que o MgCl<sub>2</sub> e suas misturas com o NaCl não interferiram com o pH dos queijos durante o processo de maturação.

TABELA 2 - Composição físico-química dos queijos salgados de acordo com os tratamentos A, B, C, D e E, determinados no dia da embalagem.

DETERMINAÇÃO	TRATAMENTOS				
	A	B	C	D	E
pH	5,31	5,42	5,34	5,43	5,35
Acidez (%)	0,68	0,64	0,69	0,64	0,63
Umidade (%)	42,1 <sup>b</sup>	44,4 <sup>a</sup>	45,1 <sup>a</sup>	45,6 <sup>a</sup>	43,6 <sup>b</sup>
G.E.S. (%)	45,0	44,0	46,8	45,6	43,1
Nitr. total (%)	3,77	3,43	3,22	3,34	3,45
Cinzas (%)	3,91 <sup>a</sup>	3,76 <sup>b</sup>	3,81 <sup>b</sup>	3,65 <sup>b</sup>	2,79 <sup>c</sup>
Cloreto (%)	1,47	1,61	1,53	1,44	0,85
Sódio (mg/100g)	902,00	712,00	752,00	572,00	184,00
Magnésio (mg/100g)	30,6	148,50	125,50	160,00	209,00

G.E.S. - gordura no extrato seco

a, b, c - letras iguais indicam não haver diferença significativa (p < 0,05)

TABELA 3 - Evolução do pH durante a maturação dos queijos dos tratamentos A, B, C, D e E

INTERVALO DE MATURAÇÃO (DIAS)	TRATAMENTOS				
	A	B	C	D	E
0	5,31	5,42	5,34	5,43	5,35
15	5,30	5,30	5,31	5,32	5,30
30	5,22	5,20	5,18	5,17	5,16
45	5,30	5,26	5,31	5,25	5,30
60	5,53	5,52	5,51	5,48	5,49

**Proteólise**

A avaliação da proteólise dos queijos foi feita através de determinação dos conteúdos de nitrogênio total (N.T.), nitrogênio solúvel (N.S.) e nitrogênio não proteico (N.N.P.).

Os resultados da relação entre nitrogênio solúvel e nitrogênio total, estão expressos como índice de maturação (I.M.); já os resultados da relação entre nitrogênio não proteico solúvel, estão expressos como índice de profundidade de maturação (I.P.M.).

**Índice de maturação**

O índice de maturação reflete a quantidade de substâncias de baixo peso molecular que se tornam solúveis na fase aquosa do queijo, demonstrando a ação das enzimas do coalho sobre a caseína.

Na Tabela 4 são apresentados os valores médios do conteúdo de nitrogênio total e nitrogênio solúvel, obtido nos 5 tratamentos, durante o período de maturação.

De acordo com a Tabela 4, pode-se observar um aumento progressivo no conteúdo de nitrogênio solúvel em todos os tratamentos durante todo o período de maturação, o que evidencia o desenvolvimento da cura; observa-se também uma quantidade maior de nitrogênio solúvel nos tratamentos D e E, tratamentos estes que apresentaram baixo ou nenhum conteúdo de cloreto de sódio. Isso indica que as enzimas proteolíticas - quimosina e pepsina - integrantes do coalho, encontraram melhor meio de atuação nos queijos salgados com menores quantidades ou ausência de NaCl. Estas observações concordam com THAKUR et al. (1974) que, estudando modificações em queijo Cheddar salgado normalmente e queijo Cheddar sem sal, observaram um aumento na quantidade de nitrogênio solúvel nos queijos sem sal. Também pode-se relatar que os resultados dos valores médios do conteúdo de nitrogênio solúvel deste

experimento do grupo controle (tratamento A), são bastante similares aos encontrados por TEIXEIRA (1990), 0,21% no dia 1 de maturação e 0,62% no dia 60 de maturação em queijo tipo Prato, demonstrando um processo de maturação normal do experimento.

Através dos resultados de nitrogênio solúvel e nitrogênio total, pode-se chegar ao índice de maturação demonstrado na Tabela 5.

Analisando-se a Tabela 5 observa-se um aumento progressivo durante todo o processo de maturação em todos os tratamentos. Assim, o índice de maturação do tratamento A variou de 7,68% a 16,91%; do tratamento B de 10,19% a 17,72%; do tratamento C de 10,10% a 19,37%; do tratamento D de 8,98% a 19,40%; do tratamento E de 10,43% a 19,13%.

WOLFSCHOON-POMBO (1983) determinando o índice de maturação do queijo tipo Prato, encontrou valores entre 5,1 a 8,2% após 4 dias de maturação e valores entre 11,9 a 14% após 35 dias da maturação. Comparando estes valores com os do tratamento controle (A), no mesmo período, constata-se que os resultados encontrados são semelhante aos citados pelo autor. Já nos demais tratamentos, pode-se notar um aumento no conteúdo de proteólise, fato também observado por THAKUR et al. (1974), em queijos Cheddar salgado e sem sal. Esses autores também observaram uma progressiva solubilização das proteínas do queijo, tanto em amostras salgadas, como nas sem sal e mais, que queijos sem sal apresentaram valores no índice de maturação de 36 a 41,1%, enquanto que queijos salgados tiveram valores de 21,4 a 29,5%.

Também SCHROEDER et al. (1988), ao estudarem níveis de 0 a 1,44% de NaCl em queijo Cheddar, verificaram que as mais altas taxas de proteólise foram encontradas nos queijos sem sal. Além disso, mostraram que o desenvolvimento da proteólise depende dos teores de sal e umidade. Essas observações ajudam a explicar o fato dos

TABELA 4 - Valores de nitrogênio total (N.T.) e nitrogênio solúvel (N.S.), em g/100g de queijo, determinados no processo de maturação de queijo Prato salgado em salmouras contendo NaCl e/ou MgCl<sub>2</sub>.

INTERVALO DE MATURAÇÃO (DIAS)	TRATAMENTOS									
	A		B		C		D		E	
N	NT	NS	NT	NS	NT	NS	NT	NS	NT	NS
0	3,77	0,29	3,43	0,35	3,22	0,32	3,34	0,30	3,45	0,36
15	3,65	0,37	3,42	0,43	3,44	0,40	3,38	0,42	3,81	0,41
30	3,60	0,42	3,33	0,42	3,47	0,46	3,37	0,55	3,61	0,49
45	3,54	0,51	3,21	0,53	3,27	0,51	3,29	0,57	3,59	0,55
60	3,55	0,60	3,30	0,58	3,33	0,64	3,32	0,64	3,58	0,68

tratamentos B, C, D e E terem apresentado valores do índice de maturação superiores ao tratamento A, salgado somente com NaCl.

As Tabelas 6 e 7 mostram uma diferença ( $p < 0,05$ ) no índice de maturação do tratamento A, quando comparado com os demais tratamentos. Este fato pode ser explicado de forma semelhante ao descrito por SCHROEDER et al. (1988), onde a redução de NaCl nos queijos proporciona uma maior atividade das enzimas do coalho e, conseqüentemente, uma maior proteólise. Em outras palavras, é possível afirmar que queijos salgados em misturas de NaCl e  $MgCl_2$  apresentam proteólise mais intensa que queijos salgados só com NaCl, por haver, naquelas condições, menor inibição das enzimas do coalho.

No estudo sobre o efeito da concentração de NaCl no tempo de maturação e nas características sensoriais do queijo Camembert com adição de magnésio realizado por LESAGE et al. (1992), observou-se que queijos tradicionais com 1,8% de NaCl, mas sem magnésio, apresentavam valores inferiores de nitrogênio solúvel que o Camembert com 2,1% de sal, mas com a adição de magnésio favorece a proteólise e que esta ação é mais forte que a ação inibitória do NaCl às enzimas do coalho,

TABELA 5 - Desenvolvimento do índice de maturação durante os dias 0, 15, 30, 45 e 60, nos tratamentos A, B, C, D e E.

INTERVALO DE MATURAÇÃO (DIAS)	TRATAMENTOS				
	A	B	C	D	E
0	7,69	10,20	9,94	8,98	10,43
15	10,14	12,57	11,63	12,43	10,76
30	11,67	12,61	13,26	16,32	13,57
45	14,41	16,51	15,60	17,33	15,32
60	16,90	17,57	19,22	19,28	19,00

TABELA 6 - Teste de Tuckey para médias de tratamentos A, B, C, D e E, referentes ao índice de maturação.

TRATAMENTOS	MÉDIAS
A	12,17 a
B	14,19 b
C	13,96 b
D	14,84 b
E	13,85 b

Médias com letras iguais não diferem estatisticamente entre si a nível de 5% de probabilidade ( $p < 0,05$ ).

o que também vem de encontro ao apresentado neste trabalho.

### ÍNDICE DE PROFUNDIDADE DE MATURAÇÃO

Para verificar a ação proteolítica das enzimas microbianas do fermento láctico sobre os compostos nitrogenados da caseína, foi calculado o índice de profundidade de maturação, através da relação entre os conteúdos de nitrogênio não proteico (NNP) e nitrogênio solúvel (NS) (Tabela 7) e os valores do índice de profundidade de maturação na Tabela (8).

Através dos dados da tabela 8 pode-se observar que o índice de profundidade de maturação não apresentou diferenças expressivas entre os tratamentos.

Além disso, pode-se também verificar que, após 30 dias de cura, o comportamento do índice de profundidade de maturação foi bastante semelhante em todos os tratamentos, refletindo praticamente não haver interferência do  $MgCl_2$  sobre as enzimas do fermentoláctico. Essas observações ficam claras na análise de variância, onde verificou-se não haver diferença significativa entre os tratamentos a nível de 5% de probabilidade (anexo 9). Isto indica que, do ponto de vista físico-químico, não há empecilhos

da aplicação de  $MgCl_2$  como agente de salga de queijo Prato.

### Avaliação Sensorial

Os queijos foram avaliados ao completarem 60 dias de maturação através de uma escala hedônica de 9 pontos, por um grupo de provadores não treinados, que repetiram a análise após uma semana e as médias das notas atribuídas aos 5 tratamentos testados nesta experimento variaram entre 3,53 (tratamento E) e 6,99 (tratamento A), tendo o tratamento C (60% NaCl / 40%  $MgCl_2$ ) recebido nota (6,14) próxima a do tratamento A.

Para a realização da análise estatística, foi utilizado a análise de variância, através do modelo de experimentos em blocos casualizados. Os resultados obtidos são apresentados na Tabela 9.

Os resultados obtidos mostram haver diferença significativa entre os tratamentos ( $p < 0,05$ ).

O teste de Tuckey foi aplicado para discriminar quais os tratamentos que diferiram, e os resultados estão na Tabela 10.

Os resultados da Tabela 10 revelam que os provadores não detectaram diferenças significativas apenas entre os tratamentos B (50% NaCl / 50%  $MgCl_2$ ) e C (60% NaCl / 40%  $MgCl_2$ ). Os demais tratamentos diferiram entre si a nível de 5% de probabilidade ( $p < 0,05$ ).

A maior média foi encontrada no tratamento A (controle). Foi detectado pelos provadores um sabor residual amargo e uma consistência mole nos tratamentos B, C, D e E, muito provavelmente devido ao magnésio. Quanto ao tratamento E (100%  $MgCl_2$ ), este recebeu a menor pontuação, e comentários referidos a amostra como extremamente amargo, muito mole e totalmente inaceitável foram feitas pelos provadores.

Avaliações organolépticas de queijo Cheddar sem NaCl (THAKUR et al., 1974), também detectaram sabor amargo, sendo considerado um "flavor" dominante. O queijo com menor conteúdo de NaCl foi considerado "aguado", pastoso e o aumento na hidrólise protéica e a mais alta umidade do queijo sem sal levam a explicação, destes defeitos.

TABELA 7 - Análise de variância dos resultados do índice de maturação dos tratamentos A, B, C, D e E.

C.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	Valor F
Trat.	4	39.175	9.793	12.61 **
Tempo	4	505.808	126.452	162.82 **
Trat. * Term.	16	20.271	1.266	169
Resíduo	25	19.415	0.776	
Total	49	584.659		

Média geral = 13.80

Coefficiente de variação = 6.383%

TABELA 8 - Valores médios dos conteúdos de nitrogênio solúvel (NS) e nitrogênio não proteico (NNP), em g/100 g de queijo, dos tratamentos A, B, C, D, e E durante 60 dias de maturação.

Intervalo de maturação (dias)	Tratamentos									
	A		B		C		D		E	
	NS	NNP	NS	NNP	NS	NNP	NS	NNP	NS	NNP
0	0,29	0,22	0,35	0,27	0,32	0,29	0,30	0,26	0,36	0,31
15	0,37	0,33	0,43	0,35	0,40	0,31	0,42	0,36	0,41	0,33
30	0,42	0,34	0,42	0,35	0,46	0,37	0,55	0,38	0,49	0,40
45	0,51	0,45	0,53	0,43	0,51	0,45	0,57	0,43	0,55	0,43
60	0,60	0,50	0,58	0,51	0,64	0,47	0,64	0,47	0,68	0,50

Muitos relatos de trabalhos feitos com substituições do NaCl pelo magnésio, têm acusado a presença de certo amargor, que muitas vezes é dado como gosto metálico.

Neste trabalho foi evidenciado o aparecimento do amargor em todos os tratamentos onde se utilizou o MgCl<sub>2</sub>. Da mesma forma FITZGERALD & BUCKEY (1985), relataram um "flavor" indesejável e inaceitável para qualquer produto nos quais utilizaram MgCl<sub>2</sub> em quantidades significantes, particularmente em condições semelhantes as do tratamento E.

De acordo com as conclusões de LESAGE et al. (1992), em queijo Camembert, substituir totalmente o NaCl pelo MgCl<sub>2</sub> é muito delicado. O interessante seria encontrar uma relação entre o teor de magnésio e o teor de sódio, de modo a obter as qualidades organolépticas de um queijo tradicional.

Este trabalho buscou exatamente este aspecto. Assim, a tabela 19 mostra que o tratamento C, embora difira estatisticamente do controle (A), é o que apresenta pontuação mais

próxima ao queijo padrão, sendo sua média de pontuação 6,14, permanecendo entre "gostei ligeiramente" e "gostei regularmente", diagnosticando uma possível e concreta aceitabilidade por parte dos consumidores mesmo o tratamento B, que não diferiu estatisticamente ao tratamento C, apresenta potencial de ser utilizado como um novo produto. Esta aceitabilidade poderia beneficiar pessoas que tem necessidade de restrição ao consumo de sódio, possibilitando ainda a ingestão de um nutriente (Mg) considerado deficiente na dieta humana, além de fornecer à indústria uma nova alternativa tecnológica.

**ABSTRACT**

Prato cheeses were submitted to five different brining treatments (20% w/v). Physico-chemical and sensorial analysis were conducted to follow the influence of MgCl<sub>2</sub> in the characteristics of ripening and its acceptability. The results showed that cheeses brined with mixtures of NaCl and MgCl<sub>2</sub> had increased their

**TABELA 9** - Análise de variância dos resultados obtidos dos tratamentos A, B, C, D e E e para o teste de aceitabilidade geral do queijo Prato.

C.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	Valor F
Parcelas	153	965.471	256.362	82.19**
Tratamentos	4	1025.449	3.365	1.07
Pro. * Tra.	304	1020.350	3.118	
Resíduo	308	960.600		
Total	769	3971.870		

Média geral = 5.5228

Coefficiente de variação = 31.944%

**TABELA 10** - Teste de Tuckey para médias de tratamentos A, B, C, D e E, referentes ao teste de aceitabilidade geral.

TRATAMENTOS	MÉDIAS
A	6,99 a
B	5,78 b
C	6,14 b
D	5,20 c
E	3,53 d

Médias com letras iguais não diferem estatisticamente entre si a nível de 5% de probabilidade (p<0,05).

weight after brining due MgCl<sub>2</sub> higher moisture retention.. It was found that the proteolytic activity of rennet in cheeses with MgCl<sub>2</sub> was higher that of control cheese brined with NaCl only, but even so did not change the behavior of ripening. In cheese brined with MgCl<sub>2</sub> it was found a bitter flavor whose intensity was dependent of the salt concentration; however, the cheese brined with 60% NaCl-40% MgCl<sub>2</sub> was graded at very similar to the control (100% NaCl). In conclusion, it was possible to indicate that this treatment could be a new alternative to dairy industry to produce low sodiumprato cheese containing a essential element like magnesium.

**REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTS. **Official Methods of Analysis**. 14 ed. Washington, AOAC,1984.1141 p.

CERVANTES, M. A.; LUND, D. B.; OLSON, N. F. Effect of Salt Concentration and Freezing on Mozzarella Cheese Texture. **Journal Dairy Science**, Champaign, v.66, p.204 - 213, 1983.

FITZGERALD, E.; BUCKLEY, J.. Effect of Total and Partial Substitution of Sodium Chloride on the Quality of Cheddar Cheese. **Journal Dairy Science**, Cork, v.68, p.3127 - 3134, 1985.

FURTADO, M. M.. **A Arte e a Ciência do Queijo**. São Paulo, Globo, 1990 297 p.

FURTADO, M. M.; NETO, J. P. M. L.. Estudo rápido sobre a composição média dos queijos Prato e Minas no mercado. **Boletim do leite**, Rio de Janeiro, n.605, p.4 -10, 1979.

FURTADO, M. M.; SOUZA, H. M.. Estudo Rápido sobre a Evolução da Salga do Queijo Prato Salmoura. **Rev. do ILCT**, Juiz de Fora, p.5 - 10, jan/fev., 1981.

FURTADO, M. M.; SOUZA, H. M.; MUNCK, A. V.. Controle de Salga e Umidade do Queijo Prato pelo Banho de Água Gelada. **Rev. do ILCT**, Juiz de Fora, p.9 - 14, jul./ago., 1979.

FURTADO, M. M.; WOLFSCHOON-POMBO, A. F. Fabricação do Queijo Prato e Minas: estudo de rendimento II - Previsão da gordura no extrato seco. **Rev. do ILCT**, Juiz de Fora, p. 3 - 11, nov./dez., 1979.

FURTADO, M. M.; WOLFSCHOON-POMBO, A. F. Etude de quelques aspects de la fabrication des fromages brésilien Prato et Minas. **Le Lait**, Paris, v.58, n.578, p. 510 - 530, 1978.

GRIPON, J. C.; DESMAZEAUD, M. J.; LEBARS, D. Étude du rôle des microorganismes et des enzymes au cours de la maturation des fromages. II. Influence de la pressure commerciale. **Le Lait**, Paris, v.55, n.548, p. 502 - 516, 1975.

HAND, L. W.; TERREL, R. N.; SMITH, G. C.. Effects of Chloride Salts on Physical, Chemical and Sensory Properties of Frankfurters. **Journal of Food Science**. Champaign, v.47, p. 1800 - 1802, 1982.

KOSIKOWSKI, F. V.. **Cheese and Fermented Milk Foods**. 2.ed. New York, Edwards Brothers,1978. 711 p.

LANARA Laboratório Nacional de Referência Animal - **Métodos Analíticos Oficiais para Controle de Produtos de Origem Animal e seus Ingredientes**, I. Métodos microbiológicos, Brasília, 1981.

LESAGE, L.; SAUVAGEOT, F.; VOILLEY, A. et al. Influence de la teneur en NaCl et la durée d'affinage sur les caracteristiques sensorielles d'un fromage type camembert enrichi en magnésium. **Le Lait**, Dijon, p.72 - 85, 1992.

LONQUE, H.; ANTUNES, L. A. F. Emprego de culturas lácticas na fabricação de queijo Prato II Características do produto. **Arq. Biol. e Tecnol.**, Curitiba, v.33, ,3, p. 561 - 573, 1990.

LYNCH, N. M. In Search of the Salty Taste. **Food Technology**, Hunt Valley, p.82 - 86, nov., 1987.

MARSCH, A. Process and Formulation that affect the sodium content of foods. **Food Technologic**, Hyattsville, v.37, n.7, p.45 - 49, 1983.

MIYASAWA, M.; PAVAN, M.A.; BLOCK, M.F.M. Determination of Ca, Mg, K, Mn, Cu, Zn, Fe and P in coffe, soybena, corn, sun flower, and pasture grass Leat tissues on a HCl extration method. **Communications in soil Science and plant Analysis**, New York, v.15, n.2, p. 141 - 147, 1984.

- MORAES, M. A. C. **Métodos para Avaliação Sensorial dos Alimentos** ed. Campinas, UNICAMP, 85p. 1985.
- NAKAZAWA, Y.; YAMADA, M.; WADA, R. Proteolysis in low-sodium cottage cheese produced from whole milk, **Laboratory of Food Science and Technology, Lebensmittel - Wissenschaft und Technology**, v.25, n.2, Tokio, 1992.
- OLIVEIRA, J.S. **Queijo. Fundamentos Tecnológicos**. São Paulo, Secretaria de Indústria e Comércio e Tecnologia, (Série Tecnologia Agroindustrial, 9). 233p., 1982.
- OLSON, N. F. Effects of Sodium Reduction on Natural Cheeses. **Dairy Field**, Wisconsin, p. 48 - 50, 78, Jun., 1982.
- RANHOTRA, G. S.; LOENE, R. J.; LEHMANN, T. A. Effect of Various Magnesium Sources on Breadmaking Characteristics of Wheat Flour. **Journal of Food Science**, Chicago, v.41, p.952 - 954, 1976.
- RAPACCI, M. **Efeito da substituição total ou parcial do cloreto de sódio por cloreto de potássio nas características do queijo prato**. Londrina, 1989. Tese (Mestrado) Universidade Estadual de Londrina.
- REDDY, K. A.; MARTH, E. H. Reducing the sodium content of Foods: A Review. **Journal of Food Protection**, v.54, n.2 p. 138 - 150, 1991.
- RICHARDSON, G. H. **Standard Methods for Examination of Dairy Products**. 15. ed, Washington, 412., 1985.
- SCHIFTAN, T. Z.; KOMATSU, I. Estudos sobre a composição do queijo prato consumido na cidade de São Paulo. **Rev. do ILCT**, São Paulo, v.35, n.207, p. 33 - 38, 1980.
- SHIROSE, I.; MORI, E. E. M. **Estatística Aplicada à Análise Sensorial** (módulo1). Campinas, Instituto de Tecnologia de Alimentos, Campinas, 1994. 73 p. (manual técnico, n. 13).
- SCHROEDER, C. L.; BODYFELT, F. W.; WYATT, C. J. Reduction of Sodium Chloride in Cheddar Cheese: Effect on Sensory, Microbiological and Chemical Properties. **Journal Dairy Science**, Corvallis, v. 71, p. 2010 - 2020, 1988.
- TEIXEIRA, E. C. **Modelagem Matemática da Atividade de Água para o Queijo Prato: Relações entre o abaixamento de ponto de congelamento e a composição**. Londrina, 1992. Tese (Mestrado). Universidade Estadual de Londrina, 1992.
- THAKUR, M. K.; KIRK, J. R.; HEDRICK, T. I. Changes During Ripening of Unsalted Cheddar Cheese. **Journal Dairy Science**, East Lansing, v.58, n.2, p. 175 - 180, 1974.
- WOLFSCHOON-POMBO, A. F. Índices de proteólises em alguns queijos brasileiros. **Boletim do leite**, Rio de Janeiro, v.55, n.661, p. 1 - 8, 1983.

## INSTITUTO DE LATICÍNIOS CÂNDIDO TOSTES

"A tradição que desenvolve tecnologia".

## ASPECTO MICROBIOLÓGICO DO QUEIJO TIPO MINAS PRENSADO (\*)

Microbiological aspect of ripened Minas cheese.

Maria Izabel Franchi Vasconcelos Gomes (\*\*)  
Ismael Antônio Bonassi (\*\*\*)

### RESUMO

Neste trabalho procurou-se reconhecer os principais grupos de bactérias que podem ser encontrados no queijo tipo Minas curado. A matéria-prima foi constituída de queijos adquiridos no comércio de Botucatu, para os quais não foi possível obter informação do período de cura. Foram efetuadas análises microbiológicas em 3 amostras diferentes, utilizando-se os meios específicos para contagem total de microrganismos aeróbios (Agar para placas de contagem), *Lactococcus* (Agar lactato vermelho neutro), *Lactobacillus* (Agar acetato), microrganismos proteolíticos (Agar leite), microrganismos lipolíticos (Agar tributirina). A contagem total de microrganismos aeróbios foi da ordem de 8 a 8,3 log ufc/g, o grupo isolado em agar lactato vermelho neutro correspondeu a 6,3 a 7,4 log ufc/g, no meio agar acetato encontrou-se 7,4 a 7,8 log ufc/g, em agar leite foi de 7,0 a 7,4 log ufc/g, para o meio agar tributirina os resultados encontrados foram: 6,3 a 7,4 log ufc/g. Muitas dessas colônias de bactérias podem ter sido provenientes de contaminações casuais, que tiveram acesso desde a fase de ordenha ao processamento.

### 1 - INTRODUÇÃO

O queijo Minas padronizado, produto obtido de leite integral ou padronizado, de massa crua, submetido à prensagem e maturado é um queijo brasileiro por excelência (3, 6, 10, 11). É conhecido também pelas denominações Minas curado, Minas prensado, Queijo Mineiro (6, 10, 11, 13). Possui ainda algumas variedades com características semelhantes como o queijo do Serro, da Canastra e o queijo de coalho (13). Embora a legislação especifique que deva ser fabricado com leite pasteurizado (3) encontra-se muitos produtos de fabricação artesanal com leite cru.

Ocorre uma grande desuniformidade do material encontrado no comércio. As características do queijo tipo Minas, do ponto de vista microbiológico, não está ainda definida. De acordo com as regiões de fabricação tem-se um produto com qualidades individuais próprias, que podem ou não ser semelhantes.

Os microrganismos são importantes durante todo o processo de fabricação dos queijos. Estes,

ao agirem sobre as proteínas, lactose e gordura, são responsáveis pelo aparecimento do sabor, aroma, textura e consistência que distinguem os diversos tipos de queijos (21). Neste trabalho procurou-se reconhecer os principais grupos de bactérias que podem ser encontrados no queijo tipo Minas prensado.

### 2 - MATERIAIS E MÉTODOS

A matéria-prima foi constituída de queijos tipo Minas adquiridos no comércio de Botucatu-SP, os quais se apresentavam embalados à vácuo com película plástica termoencolhível, não havendo indicação do período de cura.

Foram efetuadas as seguintes análises microbiológicas:

#### a) Contagem Total

A contagem total de microrganismos aeróbios presentes nos queijos foi realizada em PCA - Agar para placas de contagem (Plate Count Agar), com semeadura em profundidade e incubação a 32°C/48 horas (8, 14, 24).

(\*) Departamento de Tecnologia dos Produtos Agropecuários da Faculdade de Ciências Agrônomicas (F.C.A.) - Campus de Botucatu - Universidade Estadual Paulista (UNESP).  
(\*\*, \*\*\*) Professores e Pesquisadores da Faculdade de Ciências Agrônomicas - Departamento de Tecnologia dos Produtos Agropecuários, Fazenda Experimental Lageado - 18.603-970 - C.P. 237 - Botucatu - SP - Tel.: (014) 821-3883.

**b) Lactococos**

Foi realizada em meio de Agar Lactato Vermelho Neutro (ALVN), com semeadura em profundidade e incubação a 32°C/48 horas (14,19, 20).

**c) Lactobacilos**

Foi realizada em meio Agar Acetato (ACA) em condições de anaerobiose (14, 26, 27).

**d) Microrganismos proteolíticos**

A contagem dos microrganismos proteolíticos foi efetuada em meio Agar Leite (AL), conforme HARRIGAN & Mc CANCE (14).

**e) Microrganismos lipolíticos**

Foi realizada em meio Agar Tributirina (AT) conforme indicações da literatura (8, 14).

Para amostragem, diluições, contagem e identificação, seguiu-se as recomendações de HARRIGAN & Mc CANCE (14) e RICHARDSON (24). Os resultados foram obtidos em ufc/g (unidades formadoras de colônia por grama de queijo) e expressos em log ufc/g.

**3 - RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Foram analisadas três amostras diferentes e o número médio de microrganismos isolados nos diferentes meios seletivos encontra-se na Tabela 1.

A contagem total de microrganismos aeróbios, feita em meio PCA, foi da ordem de 8,0 a 8,3 log ufc/g. Não se encontrou nos padrões microbiológicos para os produtos expostos à venda ou destinados ao consumo (4) limite máximo para esta contagem em queijo tipo Minas. Não se achou também referência para termo de comparação. Porém FARALDO (12) em queijo Prato com 30 dias verificou valores na ordem de 7 a 8 log ufc/g.

O grupo isolado em agar lactato vermelho neutro, referente ao lactococos, apresentou valores entre 6,3 a 7,4 log ufc/g. O gênero *Lactococcus* é amplamente utilizado como cultura lática na elaboração de queijos nacionais entre eles o tipo Minas (6, 10, 11, 13, 21). LONQUE & ANTUNES

(18) verificaram em queijo tipo Prato com 30 dias contagens de lactococos mesófilos entre 5,18 a 7,48 log ufc/g.

No meio agar acetato, referente à contagem dos lactobacilos constatou-se valores entre 7,4 a 7,8 log ufc/g. Estes microrganismos originam-se fundamentalmente do leite de fabricação ou meio ambiente do laticínio (1, 16, 17) e constituíram-se numa microbiota acentuada nos queijos analisados. Os testes bioquímicos realizados, em meios seletivos indicaram tratar-se principalmente de *Lactobacillus casei* os quais tem sido também relacionados em outros tipos de queijos (20, 22, 25). A predominância de *L. casei* durante a maturação pode ser atribuída a algumas de suas características como resistência ao sal (17) e tratamentos térmicos (23). PERRY & SHARPE (22) constataram em queijos Cheddar com pequeno período de cura, valores da ordem de 8 log ufc/g.

Em agar leite o número de microrganismos proteolíticos situou-se na ordem de 7,0 a 7,4 log ufc/g de amostra. Estas bactérias podem provir da cultura lática utilizada ou principalmente das bactérias não integrantes do fermento por terem sobrevivido à pasteurização do leite ou por terem tido acesso ao leite durante a fabricação do queijo. Estes microrganismos isolados em AL apresentaram as seguintes características: cocos, gran positivos, catalase positiva, que crescem facilmente na superfície de agar nutriente e apresentavam colônias com coloração amarela, sendo possivelmente pertencentes ao gênero *Micrococcus* (5, 9).

Para o meio agar tributirina os resultados encontrados foram da ordem de 6,3 a 7,3 log ufc/g de amostra. Podem ser originários principalmente de bactérias casuais, pois as bactérias láticas são fracamente lipolíticas quando comparadas a outros grupos de bactérias (15). Em função do manuseio do leite desde a ordenha até o processamento pode-se desenvolver uma flora lipolítica, principalmente se o leite for submetido a longo período de resfriamento (2). Pode incluir grupos microbianos bem conhecidos: *Pseudomonas*, *Achromobacter*,

**TABELA 1 - Resultado das análises microbiológicas (em log ufc/g), do queijo tipo Minas, nos respectivos meios seletivos.**

Amostras	Plate	Agar	Agar	Agar	Agar
	Count	Lactato	Acetato	Leite	Tributirina
	Agar	Vermelho Neutro			
1	8,0	7,0	7,7	7,3	7,3
2	8,3	7,4	7,8	7,4	7,4
3	8,0	6,3*	7,4	7,0	6,3*

\* Número estimado

*Alcaligenas*, *Micrococcus* (7). As características dos microrganismos isolados neste meio apresentaram as mesmas características daqueles isolados em agar leite, provavelmente pertencentes também ao gênero *Micrococcus* (5).

**4 - CONCLUSÃO**

Os resultados obtidos pelas análises microbianas, em três amostras de queijo tipo Minas prensado adquiridos no comércio revelaram:

- Contagem total de microrganismos aeróbios: 8,0 a 8,3 log ufc/g; lactococos: 6,3 a 7,4 log ufc/g; lactobacilos: 7,4 a 7,8 log ufc/g; proteolíticos: 7,0 a 7,4 log ufc/g; lipolíticos: 6,3 a 7,3 log ufc/g.

Muitas dessas colônias podem ter sido provenientes de bactérias casuais que tiveram acesso desde a fase de ordenha ao processamento.

**5 - ABSTRACT**

This work was carried out to recognize the main groups of bacteria that may be found in ripened Minas cheese. The material was formed by cheeses acquired in Botucatu. These cheeses didn't have informations about their periods of ripen. The microbiological analysis were realized at 3 different samples. Specific medium were utilized for: total count of aerobic (plate count agar), *Lactococcus* (neutral red chalk agar), *Lactobacillus* (acetate agar), proteolytic microorganisms (milk agar) and lipolytic microorganisms (tributyryn agar). The total count of aerobic microorganisms was about 8 to 8,3 log/cfu/g. The groups that were isolated on neutral red chalk agar were about 6,3 to 7,4 log/cfu/g, The number obtained in acetate agar was 7,4 to 7,8 log/cfu/g, in milk agar was 7,0 to 7,4 log/cfu/g. The results obtained in tributyrin agar were: 6,3 to 7,4 log/cfu/g. A large quantity of colonies of bacteria might come from occasional contaminations in the phase of milking to manufacture.

**6 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

ANTUNES, L.A.F, OLIVEIRA, J.S Bactérias láticas de leite cru: Frequência e caracterização. *Arq. Biol. Tecnol.*, v.29, n.3, p.505-514, 1986.

BONASSI, I.A. Lipólise em leite e derivados. *Rev. Inst. Latic. Cândido Tostes*, v.44, n.261/266, p.42-48, 1989.

BRASIL. Ministério da Agricultura. *Regulamento da inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal*. São Paulo, Inspetoria do Sipa, 1968. 346p. (mimeogr.).

BRASIL. Portaria Dinal nº 0-01, 28 jan. 1987. Aprova padrões microbiológicos. *Diário Oficial*, Brasília, 12 de fevereiro de 1987.

BUCHANAN, R.E-, GIBBONS, M.E- *Bergey's manual of determinative bacteriology*. 8ª ed. Baltimore: Willians & Milkins Company, 1975, 1268p.

CASTILHO, C.M.C, ALBUQUERQUE, L.C- de. *O leite em suas mãos*. Juiz de Fora: Zas Gráfica e Editora, 1989. 142p.

CIMIANO, P.C, ALVAREZ, J.A.G. A lipólise e sua influência na qualidade do leite. *Rev. Inst. Latic. Cândido Tostes*, v.38, n.230, p.27-33, 1983.

DEMETER, K.J. *Lactobacteriologia*. Zaragoza: Acribia, 1969, 328p.

DEMETER, K.J-, ELBERTZHACEN, H. *Elementos de microbiologia lactologica*. Zaragoza: Acribia, 1971, 150p.

EPAMIG - Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais. *Os queijos na Fazenda*. 4ª ed. São Paulo: Globo, 1988. 219p.

EPAMIG - Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais. *Queijos no Brasil*. Juiz de Fora, 1986. 140p.

FARALDO, L.M.Z. - Aceleração da cura de queijo Prato através da utilização de *Lactobacillus casei* subsp. *casei*. Londrina, 1995, 87p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos - Departamento de Tecnologia de Alimentos e Medicamentos, Universidade Estadual de Londrina).

FURTADO, M.M., NETO, J.P. de M.L. *Tecnologia de queijos. Manual técnico para a produção industrial de queijos*. 1ª ed. São Paulo: Dipemar, 1984. 118p.

HARRIGAN, W.F, Mc CANCE, M.E. *Laboratory methods in food and dairy microbiology*. London: Academic Press Inc., 1976, 452p.

KAMALY, K.M., MARTH, E.H. Enzyme activities of lactic Streptococi and their role in maturation of cheese: a review. *Journal of Dairy Science*, v.73, n.10, p.2711-2719, 1990.

LEE, B.H., LALEYE, L.C., SIMARD, R.E. et al. Influence of homofermentative lactobacilli on the microflora and soluble nitrogen components in Cheddar cheese. *Journal of Food Science*. v.55, n.2, p.391-397, 1990.

LITOPOULOU-TZANETAKI, E. Changes in numbers and kinds of lactic acid bacteria during ripening of kefalotyre cheese. *Journal of Food Science*. v.55, n.1, p.111-113, 1990.

LONQUE, H., ANTUNES, L.A.F. Emprego de culturas nativas na fabricação de queijo Prato II. Características do produto. *Arq. Biol. Tecnol.*, v.33, n.3, p.561-573, 1990.

MARTINS, J.F., FIQUEIREDO, I.B., MORI, E.E.M. et al. Maturação do queijo Prato. Evolução da microflora láctica. *Col. ITAL*, Campinas, v10, p.50-72, 1979.

NUNEZ, M. Microflora of cabrales cheese. Changes during maturation. *J. Dairy Research*, v.45, p.501-508, 1978.

OLIVEIRA, A.J., VALLE, J.L.E., CARUSO, J.G.B. Importância dos microrganismos na produção de queijos. *Bol. Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v.52, p.75-93, 1990.

22. PERRY, K.D., SHARPE, M.E. Lactobacilli in raw milk and Cheddar cheese. *J. Dairy Research*, v.27, p.267, 1960.

PETERSON, S.D., MARSHALL, R.T., HEYMANN, H. Peptidase profiling of lactobacilli associated with Cheddar cheese and its application of identification and selection of strains for cheese ripening studies. *Journal of Dairy Science*. v.73, n.6, p.1454-1464, 1990.

RICHARDSON, G.H. (ed.). *Standard methods for examination of dairy products*. 15 ed. Washington, 1985. 412p.

SHARPE, M.E. Enumeration and studies of Lactobacilli in food products. *Dairy Science Abstracts*, v.24, n.4, p.165-171, 1962.

SHARPE, M.E. Taxonomy of Lactobacilli. *Dairy Science Abstracts*, v.24, n.3, p.109-118, 1962.

THOMAS, S.B. *Técnicas bacteriológicas para el central lactológico*. Zaragoza, Acribia, 1971, 255p.

# ASSINE A REVISTA

# ILCT

## INTOLERÂNCIA À LACTOSE

### Lactose intolerance

Paulo Henrique Fonseca da Silva (\*)  
Paola Roberta Moreira Venuto (\*\*)

### RESUMO

Intolerância à lactose é a incapacidade para digerir quantidades consideráveis de lactose, o açúcar predominante no leite. Esta incapacidade resulta da deficiência da enzima lactase, a qual é normalmente produzida pelas células epiteliais do intestino delgado. Embora a intolerância à lactose seja amplamente distribuída, não se apresenta como sendo um sério risco à saúde. Pessoas que possuem problemas para digerir a lactose podem aprender quais produtos de laticínios e outros alimentos poderão ser consumidos sem desconforto. Têm sido sugeridas diferentes alternativas para o consumo de leite, tais como: queijos, leites fermentados, leite tratado enzimaticamente com lactase, uso de lactase líquida ou em tabletes para auxiliar a digerir a lactose, dentre outros. Todos estes aspectos são discutidos neste breve artigo.

### INTRODUÇÃO

Intolerância à lactose é a incapacidade de digerir e absorver quantidades consideráveis de lactose, o açúcar predominante no leite. Quando esta incapacidade se manifesta, os resultados, embora não perigosos, podem ser muito incômodos. Enquanto nem todas as pessoas deficientes na produção de lactase têm sintomas, aquelas que os têm são consideradas **intolerantes à lactose**.

Para que ocorra a digestão e absorção da lactose, é necessária a ação da enzima lactase. É possível que exista uma relação entre o teor de lactose do leite e o de lactase no intestino. O leão do mar da Califórnia, por exemplo, cujo leite não contém lactose, não possui lactase intestinal.

Na maioria dos mamíferos a atividade da lactase intestinal é máxima no período neonatal, torna-se reduzida no prematuro e aumenta rapidamente nos dias que se seguem ao nascimento, independente do fornecimento de lactose e alcança níveis mais baixos no adulto.

No homem, a atividade lactásica é geralmente mais baixa no adulto, podendo permanecer elevada durante toda a vida. Em um número limitado de pessoas, a enzima encontra-se totalmente ausente (raro) ou insuficiente no intestino delgado desde o nascimento.

A baixa atividade de lactase (hipolactasia) leva à má-digestão da lactose, na qual nem toda a lactose consumida é hidrolisada. A lactose não digerida não é absorvida pela mucosa intestinal, caracterizando a má-absorção da lactose. Aproximadamente 75% da população mundial apresenta hipolactasia e em torno de 20% das pessoas com má-digestão da lactose são intolerantes à lactose, ou seja, sofrem sintomas gastrointestinais após consumo de lactose.

### LACTOSE

É o glúcide típico do leite, embora outros glúcides também ocorram em quantidades reduzidas. Além disso, a lactose também pode ser encontrada em certos vegetais. Somente o leite de alguns mamíferos tais como *Lyptopora cristata*, *Phoca groenlandica* e leão marinho não contém lactose.

É um dissacarídeo formado pela ligação  $\beta$ 1:4 das monoses galactose e glicose. Na Figura 1 é representada a estrutura química da lactose ou 4-O- $\beta$ -D-galactopiranosil-D-glucopiranosose. Dos constituintes do leite, é o menos variável: variações mínimas em quantidade e nenhuma em estrutura. No Quadro 1 são apresentados os teores de lactose em leite da bacia leiteira de Viçosa, MG, durante as estações do ano. Teores de lactose em alguns produtos lácteos são citados no Quadro 2.

\* Técnico em Laticínios, Bioquímico, M.S. Ciência e Tecnologia de Alimentos. EPAMIG/CEPE/Instituto de Laticínios Cândido Tostes, R. Tenente Freitas, 116, Juiz de Fora, MG, 36045-560, Tel.: (032) 224-3116, fax: (032) 224-3113.

\*\* Estudante, Curso Técnico em Laticínios. EPAMIG/CEPE/Instituto de Laticínios Cândido Tostes, R. Tenente Freitas, 116, Juiz de Fora, MG, 36045-560, Tel.: (032) 224-3116, fax: (032) 224-3113.

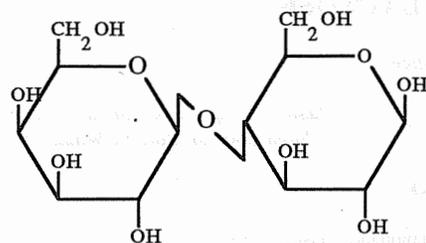


FIGURA 1 - Estrutura química da lactose.

QUADRO 1 - Teores de lactose em leite da bacia leiteira de Viçosa, MG, durante as estações do ano

Estação	Teor de lactose % (m/v)		
	Mínimo	Máximo	Média
Inverno	4,60	5,36	5,00
Primavera	4,55	5,33	5,05
Verão	4,50	4,96	4,74
Outono	4,46	5,04	4,78

Fonte: Froeder, 1985.

QUADRO 2 - Teor de lactose em alguns produtos lácteos

Produto	Teor de lactose % (m/v)
Leite integral	4,5-4,8
Leite desnatado	4,7-5,1
Soro doce	4,6-5,2
Leite evaporado	9-10
Leite condensado com açúcar	10,0-12,5
Leite em pó integral	36-38
Leite em pó desnatado	49-52
Soro em pó	71-73

Fonte: Walstra & Jenness, 1984.

Em vacas, o início da lactação é antecedido pelo aparecimento de lactose mamária e urinária, antes do fim da gestação. A síntese da lactose ocorre na vesícula do complexo de Golgi, a partir da glicose sanguínea. Ainda no citoplasma, parte da glicose sanguínea é convertida em galactose por intermédio da ação de uma enzima (epimerase). As duas monoses passam para o complexo de Golgi. Neste local, por meio da ação de uma outra enzima, a lactose-sintetase, as duas monoses são ligadas, formando a lactose. A lactose sintetizada passa para o interior do vacúolo, arrastando consigo água (propriedades osmóticas), sais e vitaminas hidrossolúveis.

A lactose-sintetase possui uma sub-unidade denominada de proteína "B" que, na realidade, é a própria lactoalbumina do leite. A proteína "A", conhecida como galactosiltransferase, na origem, encontra-se na membrana da vesícula de Golgi como parte estrutural. Contudo, a ativação da lactose-sintetase é dependente da síntese externa da lactoalbumina, que se dá no retículo endoplasmático. Este sistema enzimático encontra-se intimamente associado com a membrana da vesícula de Golgi. Por este motivo, acredita-se que a síntese da lactose e a estabilização das micelas caseínicas estejam associadas, visto que após síntese reticular, as cadeias peptídicas primárias entram diretamente na vesícula de Golgi.

A lactose existe sob duas formas isoméricas, e, que aparecem em equilíbrio no leite. Não é um açúcar muito doce, sempre apresenta-se arenosa ao paladar e é pouco solúvel. Em alguns alimentos estas características transformam-se em vantagens. A textura do leite condensado depende exatamente da correta quantidade e forma da lactose presente. Muita lactose pode conferir arenosidade ao produto e pouca lactose resultará em um produto viscoso. A lactose interage com as proteínas do leite quando aquecido, formando substâncias que dão ao produto uma coloração amarronzada (escurecimento não-enzimático por reação de Maillard). Isto é útil na fabricação de doce de leite, porém, pode ser um problema sério em leite em pó. Geralmente, todas estas dificuldades tecnológicas tornam a purificação e utilização da lactose não econômica e, deste modo, milhares de toneladas de detritos da indústria são jogadas ao mar. Soro contém muita lactose, porém, não é normalmente descartado. Após concentrado em evaporadores, as indústrias o vendem para uso em produtos de confeitaria e farmacêuticos, ou para alimentação animal.

Entre os benefícios que a lactose pode proporcionar, além do valor energético, destacam-se: ação suavizante sobre mucosas por ser pouco solúvel, ajuda na manutenção da flora intestinal, aumenta a absorção de cálcio e fósforo (minerais extremamente importantes para o organismo) e da sua fermentação pode resultar ácido láctico L(+), de importante ação fisiológica.

**DESCRIÇÃO DA INTOLERÂNCIA**

Para ser apropriadamente digerida, a lactose deve ser hidrolisada em suas monoses (galactose e glicose). A hidrólise é feita pela

enzima lactase, a qual é produzida pelas células epiteliais do intestino delgado (duodeno e jejuno). A lactase hidrolisa o açúcar do leite, transformando-o em formas simples que podem então passar para a corrente sanguínea. Quando não há lactase suficiente para digerir a quantidade de lactose consumida, há o acúmulo da mesma, o que exerce um efeito hiperosmótico, aumentando o volume de fluidos no intestino. Além disso, parte da lactose é fermentada por bactérias no cólon, produzindo ácidos e gases, o que, além de diminuir o pH das fezes para abaixo de 6,0, resulta em sintomas bastante desconfortáveis, como dores abdominais, náuseas, vômitos, flatulência e diarreia. Estes sintomas aparecem cerca de 30 minutos a 2 horas após a ingestão do alimento contendo lactose. A intensidade dos sintomas depende da quantidade de lactose que cada indivíduo pode tolerar.

Essa escassez de lactase no organismo pode ser classificada de três formas:

\* **congênita:** a deficiência é detectada nos primeiros dias da infância, persistindo pelo resto da vida do indivíduo. É um fenômeno genético e relativamente raro. Após a ingestão de leite, o recém-nascido apresenta distensão abdominal, vômitos, seguidos de diarreia líquida e de odor ácido. A criança melhora rapidamente com a suspensão do leite, e os sintomas reaparecem com a sua reintrodução;

\* **primária:** a baixa atividade de lactase chamada primária é a causa mais comum da intolerância à lactose; deficiência que se verifica geralmente em adultos, os quais presumivelmente tiveram níveis normais de lactase durante a infância. A explicação para este decréscimo de lactase após o período de lactação é dada considerando-se que a lactase é uma enzima induzível, ou seja, tão logo o consumo do leite diminua, o estímulo à formação da lactase também diminui. Quando a lactose ingerida supera a capacidade catalítica da lactase intestinal, em termos de hidrólise, ela alcança o intestino grosso, sem ser digerida. A flora do intestino grosso dá início a processos que resultam na produção de monossacarídeos, ácidos orgânicos de cadeia curta e gases (CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>, e CH<sub>4</sub>). Os gases produzidos causam distensão abdominal e cólica, enquanto os ácidos orgânicos e os monossacarídeos resultantes da hidrólise do dissacarídeo pela lactase microbiana, aumentam a pressão osmótica no cólon que passa a absorver a água do sangue, dando início à diarreia; e

\* **secundária:** resulta de danos causados à mucosa intestinal e está associada a várias doenças, tais como gastroenterites, má nutrição, infestação por Giardia lamblia, colite ulcerática e outras. Também resulta de gastroectomia e de tratamento com certos medicamentos.

**OCORRÊNCIA**

Durante a década passada, tornou-se claro que a maior parte da população adulta do mundo não pode tomar leite facilmente e isto pode ser causado pela ausência ou insuficiência de lactase em seus intestinos, como já foi descrito. Em diversos estudos, 70-90% de adultos africanos, tailandeses, chineses e outras raças orientais apresentaram doenças que são provocadas por muitos dos raros açúcares dos alimentos. Felizmente, para a maioria da população dos Estados Unidos e do Reino Unido, somente 5-10% da população, ou menos, sofre deste mal. Qual a razão desta diferença racial existir? A resposta é ainda obscura e os cientistas estão divididos em suas opiniões, se a diferença é genética ou ambiental. Em outras palavras, ou herda-se a capacidade de utilizar a lactose ou perde-se ao deixar de beber leite ou ingeri-lo em menor quantidade após o fim da amamentação, de tal modo que o nível de lactase reduz-se no intestino. No Quadro 3 é apresentada a incidência da deficiência de lactase em crianças e adultos, de diferentes grupos étnicos.

Durante a puberdade, o sistema orgânico do homem passa por diversas transformações, preparando-o para a fase adulta; muitos mecanismos são parcial ou totalmente desativados, enquanto outros entram em operação, alterando a reação deste organismo com o meio.

QUADRO 3 - Incidência da deficiência de lactase em crianças e adultos, de diferentes grupos étnicos.

População	Porcentagem
<i>Crianças</i>	
Australianos caucasianos	9
Australianos aborígenes	84
Asiáticos na Austrália	93
Gregos na Austrália	56
Povos do Mediterrâneo na Austrália	41
<i>Adultos</i>	
Caucasianos com 19 a 61 anos	19
Australianos aborígenes	84
Asiáticos na Austrália	95
Chineses na Austrália	90

Fonte: <http://www.presenter.com/~shurb>

## DIAGNÓSTICO

Os testes mais comumente usados para medir a absorção da lactose no sistema digestório são o teste de tolerância à lactose, o teste de medição do hidrogênio expirado e o teste de acidez nas fezes. Estes testes são executados em hospital, clínica ou consultório.

O teste de tolerância à lactose começa com jejum antes do teste, o qual é seguido da ingestão de um líquido contendo lactose. Várias amostras de sangue são coletadas por um período de 2 horas para medir o nível de glicose do sangue do indivíduo, o que indica a capacidade do organismo de digerir a lactose.

Normalmente, quando a lactose chega no aparelho digestório, a enzima lactase hidrolisa a lactose em glicose e galactose. O fígado então transforma a galactose em glicose, a qual passa para a corrente sanguínea e eleva o nível de glicose. Se a lactose é hidrolisada incompletamente, o nível de glicose não se eleva, e um diagnóstico de intolerância à lactose é confirmado. Este método é invasivo (coleta de sangue) e não específico para lactose, apesar de ser simples e bastante comum.

Cabe aqui ressaltar que críticas têm sido feitas quanto à validade do teste de tolerância à lactose:

\* a condição do indivíduo em jejum não permite que o organismo reaja da mesma forma como se estivesse em condições normais;

\* provou-se que a solução aquosa de lactose produz uma reação muito mais intensa e prolongada nos intolerantes que o próprio leite; e

\* o teste pode ser mascarado em pessoas que têm problemas de taxa de açúcar no sangue.

O teste de medição do hidrogênio expirado mede a quantidade de hidrogênio na expiração. Normalmente, pouco hidrogênio é detectado na expiração. No entanto, lactose não digerida no cólon é fermentada por bactérias e, vários gases, incluindo o hidrogênio, são produzidos. O hidrogênio é absorvido dos intestinos, levado por meio da corrente sanguínea para os pulmões, e exalado. No teste, o paciente ingere um líquido contendo lactose (12, 24 ou 50g), e a expiração é analisada em intervalos regulares de tempo. Altos níveis de hidrogênio na expiração (>10-20 ppm) indicam digestão imprópria da lactose. Certos alimentos, medicamentos e cigarros podem afetar a exatidão do teste e devem ser evitados antes da realização do mesmo. Outra limitação é a presença de microbiota intestinal não produtora de hidrogênio, o que ocorre em mais de 20% dos pacientes. Neste caso, é aconselhável realizar o

teste do metano expirado, no qual aumento de 1,7 mmol/L no nível de metano indica má-absorção. Este teste é útil para crianças e adultos.

Os testes citados acima não são aplicáveis a recém nascidos e crianças muito novas suspeitas de serem intolerantes à lactose. Uma grande carga de lactose pode ser perigosa para muitos indivíduos jovens, porque eles são mais susceptíveis à desidratação que pode resultar de uma diarreia causada pela lactose. Se um bebê ou criança muito nova apresenta sintomas de intolerância à lactose, muitos pediatras simplesmente recomendam uma mudança de leite para produtos à base de soja e esperam os sintomas se reduzirem.

Se necessário, um teste de acidez nas fezes, o qual mede a quantidade de ácido nas fezes, pode ser usado para bebês e crianças muito pequenas. A lactose não digerida e fermentada pelas bactérias no cólon resulta em ácido láctico e outros ácidos graxos de cadeia curta que podem ser detectados em uma amostra de fezes. Em acréscimo, glicose pode estar presente na amostra como um resultado de lactose não absorvida no cólon, entretanto, o teste não é específico para lactose.

Um método direto consiste na biópsia intestinal para avaliação da atividade de lactase, em que < 10 UI/g de proteína é considerada hipolactasia. É um método invasivo, sujeito a complicações sérias, além da variação da atividade enzimática ao longo do intestino.

## TRATAMENTO E ALTERNATIVAS

Felizmente, a intolerância à lactose é relativamente fácil de ter seus efeitos minimizados. Não existe tratamento capaz de devolver ao organismo a capacidade de produzir a lactase, mas os sintomas podem ser controlados por meio da dieta.

Crianças muito novas com deficiência de lactase não devem consumir nenhum produto que contenha lactose. Já as crianças com mais idade e os adultos não precisam evitar a lactose completamente, pois cada pessoa tolera uma quantidade de lactose e é por meio da ingestão de quantidades variáveis deste açúcar que o indivíduo vai tomar conhecimento de quanto ele pode consumir. Tem sido sugerido que a adaptação à lactose é possível, aumentando-se gradativamente a quantidade de leite ingerida. Isto pode ser devido a uma alteração na microbiota intestinal, sendo necessária uma ingestão regular de leite para manter a adaptação.

Para aqueles que reagem a pequenas quantidades de lactose ou têm problemas e limitam o consumo de alimentos que a contêm, a enzima lactase é útil para uso direto. Uma forma é o líquido adicionado em gotas ao leite e, após 24 horas sob

refrigeração, a lactose contida se reduz 70%. O processo é mais rápido se o leite é aquecido primeiro e adicionado de uma dupla quantidade da lactase líquida, produzindo um leite que é 90% livre de lactose. Uma revelação mais recente é um tablete mastigável da enzima lactase que ajuda as pessoas a digerirem alimentos sólidos que contêm lactose. Três a seis tabletes são tomados imediatamente antes de uma refeição ou um lanche. Leite e outros produtos com teores reduzidos de lactose são encontrados em muitos supermercados.

Outras alternativas que a tecnologia de laticínios oferece são produtos com teores reduzidos de lactose, como aqueles obtidos por ultrafiltração ou após tratamento enzimático com lactase. A enzima lactase é produzida por fermentação de cepas de fungos *Kluyveromyces fragilis*, *Saccharomyces lactis*, *Kluyveromyces lactis*, *Aspergillus niger* ou *Aspergillus oryzae*. O controle da taxa de hidrólise no leite pode ser realizado por meio da determinação do ponto de congelamento antes e depois do tratamento com a enzima.

Uma alternativa já exaustivamente estudada é o consumo de leites fermentados, sendo o iogurte o que apresenta maior efeito em pessoas com má-digestão da lactose. São propostos alguns mecanismos para explicar tal comportamento:

\* efeitos indiretos da fermentação: a textura espessa e a viscosidade do iogurte atrasa o esvaziamento gástrico e aumenta o tempo de trânsito intestinal, permitindo maior ação das bactérias do iogurte sobre a lactose residual;

\* efeitos diretos da fermentação: as bactérias lácticas do iogurte produzem lactase, aumentando o nível desta enzima no intestino delgado. Entretanto, é provável que células bacterianas intactas são necessárias no produto, pela proteção que a parede celular confere às enzimas durante o trânsito pelo sistema digestório;

\* adaptação ao longo do tempo: o consumo prolongado de leites fermentados podem levar a uma adaptação da microbiota, aumentando a tolerância à lactose; e

\* má-digestão da lactose em crianças: o iogurte pode exibir um mecanismo diferente do aumento da absorção da lactose em crianças com deficiência de lactase. Testes têm mostrado que os sintomas diminuem, mesmo que o nível de má-digestão não se altere.

## LACTOSE "ESCONDIDA"

Embora o leite e alimentos que o contêm sejam somente de fontes naturais, lactose é

geralmente adicionada no preparo de alimentos. Pessoas com uma tolerância muito baixa à lactose deveriam saber sobre os muitos alimentos que podem conter lactose, justamente em pequenas quantidades. Alimentos que podem conter lactose incluem pão e outros produtos de confeitaria, cereais matinais processados, batatas instantâneas, sopas, bebidas matinais, margarina, molhos para saladas, doces e outros lanches, misturas para panquecas, biscoitos.

Alguns produtos rotulados erroneamente como não derivados do leite, tais como creme em pó para café e cremes batidos, podem também incluir ingredientes que sejam derivados do leite e, portanto, conter lactose.

Consumidores atentos aprendem a ler os rótulos dos alimentos com cuidado, procurando não somente leite e lactose entre os ingredientes mas também por palavras como soro de leite, coalhadas, derivados do leite, sólidos do leite e leite em pó. Se algum destes está listado no rótulo, o produto contém lactose.

Em acréscimo, lactose é usada como base para mais de 20% dos remédios receitados. Muitos tipos de pílulas anticoncepcionais, por exemplo, contêm lactose, assim como alguns tabletes para acidez e gases estomacais. No entanto, estes produtos particularmente afetam pessoas com alto grau de intolerância à lactose.

## CONSIDERAÇÕES SOBRE O CÁLCIO DO LEITE

O leite e seus derivados são uma importante fonte de nutrientes na dieta. Um dos mais relevantes destes nutrientes é o cálcio. Cálcio é essencial para o crescimento e reparo dos ossos ao longo da vida. Com o passar do tempo, uma insuficiência de cálcio pode resultar em ossos fracos, que se quebram facilmente (uma condição chamada osteoporose). Uma alternativa então, para crianças e adultos intolerantes à lactose, é obterem cálcio suficiente em uma dieta que inclua pouco ou nenhum leite.

As necessidades diárias recomendadas para cálcio, revista em 1989 pelo *Food and Nutrition Board* da *National Academy of Sciences*, varia de acordo com a idade. As necessidades diárias são: crianças acima de 5 meses: 400 mg por dia e de 5 meses a um ano: 600 mg; crianças de 1 a 10 anos: 800 mg e de 11 a 24 anos: 1.200 mg; mulheres grávidas e que amamentam: 1.200 mg e pessoas acima de 25 anos e idosos: 800 mg. No entanto, os resultados de uma conferência em 1984 no Instituto Nacional de Saúde sugere que mulheres que ainda não tenham alcançado a menopausa e mulheres mais idosas que tomam o hormônio

estrogênio depois da menopausa deveriam consumir aproximadamente 1.000 mg de cálcio diariamente.

Recentes pesquisas têm demonstrado que iogurte com culturas ativas pode ser uma boa fonte de cálcio para muitas pessoas intolerantes à lactose, apesar do alto teor de lactose. Evidências mostram que culturas bacterianas empregadas na fabricação de iogurte produzem alguma lactase requerida para uma adequada digestão da lactose.

Muitos produtos não derivados de leite são ricos em cálcio. Vegetais verdes, como brócolis e couve, e peixes, como salmão e sardinhas, são excelentes fontes de cálcio.

### GALACTOSEMIA

A galactosemia é também uma insuficiência enzimática. Difere da intolerância à lactose por ocorrer a hidrólise normal da lactose em galactose e glicose, mas não o aproveitamento da galactose, a qual acumula-se no fígado, por não ser convertida em glicose. Isto em razão da perda da enzima hexose-1-fosfato-uridiltransferase, a qual é responsável pela epimerização da galactose em glicose, forma esta que é absorvida para metabolização. É uma doença rara, mas fatal. A incidência é de um caso em cada 40.000 nascimentos.

### CONCLUSÃO

Desde que se tenha cuidado em observar qualquer desordem fisiológica que ocorra após a ingestão de algum alimento em particular e se procure um médico quando necessário, pode-se com alguma segurança, seguir o antigo provérbio que diz: "um pouco de cada coisa que você gosta é bom para você". Como em muitos outros aspectos da dieta, parece que a natureza deliberadamente escondeu a finalidade de prover a lactose como o açúcar do leite de tantas espécies diferentes. Há que se ter cuidado na maneira de usá-la, de tal modo que se possa estar seguro de que o número de suas aplicações se estenda posteriormente.

### SUMMARY

Lactose intolerance is the inability to digest significant amounts of lactose, the predominant sugar of milk. This inability results from a shortage of the enzyme lactase, which is normally produced by the cells that line the small intestine. Even though lactose intolerance is widespread, it need not pose a serious threat to good health. People who have trouble digesting lactose can learn which dairy products and other foods they can eat without discomfort. It has been suggested different

alternatives to the milk consumption, such as: cheeses, fermented milk, milk enzymatically treated with lactase, use of lactase liquid or tablets to help digest the lactose, and others. All these aspects are discussed at this brief study.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

FERREIRA, C. L. DE L. F. Intolerância à lactose: o problema e as soluções. *Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes*, 33(198):10-4, 1978.

FROEDER, E. *Qualidade microbiológica e físico-química do leite cru da bacia leiteira de Viçosa, MG*. Viçosa, UFV, 1985. 54p. (Tese M.S.).

SALOFF-COSTE, C. J. Fermented milks and lactose maldigestion. *Danone World Newsletter*, (12):2-5, 1996.

VARGAS, O. L. *Como deve ser produzido e transformado o leite para consumo humano*. In: Anais do 2º congresso Brasileiro de Gado Leiteiro - Conceitos Modernos de Exploração Leiteira. FEALQ, Piracicaba, 1995. 270p.

WALSTRA, P. & JENNESS, R. *Dairy chemistry and physics*. John Wiley & Sons, New York, 1984. 423p.

### REFERÊNCIAS INTERNET

<http://www.whymilk.com>  
<http://www.panix.com/~nomilk>  
<http://www.pressenter.com/~shurb>

## ACIDEZ, pH E EFEITO TAMPÃO NO LEITE

Acidity, pH and buffer effect in milk

Paulo Henrique Fonseca da Silva (\*)  
 Késia Ferreira Torres (\*\*)

### RESUMO

O leite apresenta importantes propriedades físicas e químicas, relacionadas com a qualidade e o processamento tecnológico. Estas propriedades são resultantes das contribuições de seus constituintes e das relações entre eles. Neste trabalho, são comentados conceitos de acidez, pH e efeito tampão no leite, apresentando os princípios envolvidos e definindo as contribuições dos constituintes.

### 1. INTRODUÇÃO

O leite tem a sua aptidão para processamento e consumo definida por meio de várias características de qualidade, dentre as quais, a acidez tem destacada importância. Desde a acidez mensurável no leite recém-ordenhado até o monitoramento de processos tecnológicos e de produtos finais, os profissionais do setor laticínista vêm-se envolvidos com o controle da acidez e, em não raros casos, também do pH. As relações entre acidez e pH podem ocasionar interpretações enganosas, principalmente se não for considerada a ação tampão exercida por diversos constituintes do leite. A análise crítica dos resultados deve ser realizada, sob os conhecimentos dos aspectos composicionais, tecnológicos, microbiológicos, bioquímicos e sensoriais, de forma a permitir uma adequada resposta aos problemas comuns em laticínios, com respeito à acidez e ao pH dos produtos.

Há que se ressaltar a necessidade da adoção de nomenclatura atualizada em relação às unidades químicas usuais, além da revisão de conceitos e formas de expressão que não representam, com veracidade, o comportamento químico observado. Os procedimentos analíticos, incluindo-se preparo de soluções e calibração de equipamentos, não podem ter sua execução desfavorecida em razão da rapidez que determinações de rotina costumam requerer.

O presente trabalho tem como objetivo apresentar os conceitos fundamentais sobre acidez, pH e efeito tampão, visando contribuir para um melhor entendimento das propriedades físico-químicas do leite.

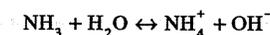
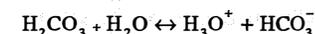
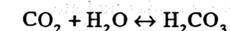
### 2. ACIDEZ

#### 2.1. CONCEITOS DE ÁCIDO E DE BASE

A concentração de ácidos e de bases tem experimentado uma constante evolução no seu campo de abrangência. Isto é motivado por se tratar de um dos fundamentos mais importantes e úteis na físico-química e na química analítica.

A escolha do conceito de ácido e de base que se deseja usar em uma situação específica dependerá das condições químicas em que eles serão estudados. Dentre os diversos conceitos (Arrhenius, Brownsted-Lowry, Lewis, sistema solvente), o conceito de Arrhenius é satisfatório para interpretar as reações em solução aquosa, usualmente aplicáveis em laticínios.

Segundo Arrhenius, ácido é qualquer substância capaz de aumentar a concentração do íon hidroxônio ou hidrônio ( $H_3O^+$ ) em solução aquosa; enquanto base é qualquer substância capaz de aumentar a concentração de íons hidroxila ( $OH^-$ ). Como exemplos, podemos verificar os comportamentos do dióxido de carbono (ácido) e da amônia(base) em água:

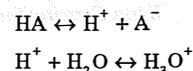


\* Técnico em Laticínios, Bioquímico, M.S. Ciência e Tecnologia de Alimentos. EPAMIG/CEPE/Instituto de Laticínios Cândido Tostes, R. Tenente Freitas, 116, Juiz de Fora, MG, 36045-560, Tel.: (032) 224-3116, fax: (032) 224-3113.

\*\* Estudante, Curso Técnico em Laticínios. EPAMIG/CEPE/Instituto de Laticínios Cândido Tostes, R. Tenente Freitas, 116, Juiz de Fora, MG, 36045-560, Tel.: (032) 224-3116, fax: (032) 224-3113.

## 2.2. ACIDEZ NATURAL E DESENVOLVIDA

Define-se acidez como sendo a determinação do teor ácido numa solução, representado pela concentração de íons H<sup>+</sup> ou H<sub>3</sub>O<sup>+</sup>.



Logo após a ordenha, o leite mostra uma reação ácida com a fenoltaleína, mesmo sem que nenhuma acidez, como ácido láctico produzido por fermentações, tenha se desenvolvido. Esta acidez do leite fresco é devido à presença de caseína, fosfatos, albumina, gás carbônico e citratos. O Quadro 1 apresenta a contribuição destes componentes.

**QUADRO 1 -** Constituintes do leite que afetam a acidez natural

Constituinte	Acidez como ácido láctico (mmol/L)
Caseínas	≈ 5,7
Proteínas do soro	≈ 0,9
Fosfato inorgânico coloidal	≈ 1,0
Fosfato inorgânico solúvel	≈ 7,8
Outros constituintes (citratos, CO <sub>2</sub> )	≈ 1,7
Total	≈ 17,1

Fonte: adaptado de Walstra & Jenness, 1984.

A acidez natural do leite varia entre 0,13 a 0,17 %, apesar de que o ácido láctico, no leite fresco e recentemente ordenhado, não ultrapassa a faixa de 0,002%.

A elevação da acidez reflete o desdobramento microbiano da lactose, com formação de ácido láctico, caracterizando a acidez desenvolvida do leite.

Os dois tipos de acidez, natural e desenvolvida, são quantificadas, simultaneamente, nas titulações por soluções alcalinas, expressando o valor total das espécies ácidas do leite.

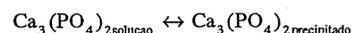
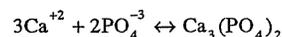
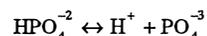
## 2.3. FATORES QUE AFETAM A ACIDEZ DO LEITE

A acidez do leite encontra-se na dependência de fatores bioquímicos, fisiológicos, tecnológicos e ao método empregado para titulação. Alguns deles serão comentados na sequência.

### 2.3.1. FOSFATO DE CÁLCIO

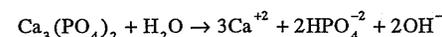
A acidez titulável do leite é afetada por

quaisquer condições que alterem as formas de ocorrência dos fosfatos no leite. À medida que se adiciona hidróxido de sódio, ocorre precipitação do fosfato de cálcio e aumenta a ionização, gerando H<sup>+</sup> e elevação da acidez, segundo as reações abaixo:



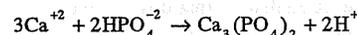
### 2.3.2. DILUIÇÃO

A diluição ocasiona abaixamento da acidez titulável, em razão da solubilização do fosfato de cálcio, segundo reação abaixo:



### 2.3.3. CONCENTRAÇÃO

A concentração ocasiona elevação da acidez titulável, em razão da insolubilização do fosfato de cálcio, segundo reação abaixo:



### 2.3.4. AQUECIMENTO

As alterações na acidez titulável do leite em razão do tratamento térmico variam de acordo com o tempo e com a temperatura empregados. São efeitos decorrentes do aquecimento:

- liberação de dióxido de carbono que estava dissolvido, levando à redução na acidez;
- insolubilização do fosfato de cálcio, com consequente elevação da acidez;
- degradação térmica da lactose (>100 °C), com consequente elevação da acidez; e
- desnaturação de soro-proteínas, expondo grupos com caráter ácido, com consequente elevação da acidez.

### 2.3.5. ESTÁGIO DE LACTAÇÃO

O estágio de lactação exibe maior influência sobre a acidez do leite no início e final, ocorrendo elevação e uma pequena redução nos dois períodos, respectivamente. A maior acidez do colostro deve-se ao maior teor de proteínas e sais que o mesmo apresenta.

## 2.3.6. MAMITE

Leite proveniente de animais com infecções no úbere apresenta redução na acidez titulável, em razão da passagem de componentes do sangue (pH entre 7,3 e 7,5) para o leite, via rota paracelular.

## 2.3.7. LIPÓLISE

A liberação de ácidos graxos dos triacilgliceróis por ação de enzimas lipolíticas ocasiona aumento na acidez titulável do leite lipolisado. A determinação do teor de ácidos graxos livres é uma técnica útil para estimar o grau de lipólise que o leite apresenta, favorecendo o controle de qualidade da matéria-prima.

## 2.3.8. ALIMENTAÇÃO

Compostos ácidos presentes ou intencionalmente adicionados à ração são eliminados, preferencialmente, pela urina do animal, exercendo pequena influência na acidez titulável do leite. Entretanto, uma adequada alimentação pode favorecer a secreção de leites com maior teor de extrato seco desengordurado e, conseqüentemente, maior acidez.

## 2.3.9. COMPOSIÇÃO DO LEITE

Em razão do comportamento ácido das proteínas no pH normal do leite e da influência do teor e da distribuição dos sais, leites com maior teor de extrato seco desengordurado tendem a apresentar maior acidez titulável.

## 2.3.10. QUANTIDADE E CONCENTRAÇÃO DO INDICADOR

Os indicadores ácido-base são empregados para favorecer a detecção do ponto final em

**QUADRO 3 -** Principais métodos para determinação da acidez em leite

	AOAC	Dornic	Soxlet-Henkel	Thorner
Amostra	20ml/g	10 ml	50 ml	10 ml
Diluição	2:1	-	-	-
Fenoltaleína	1%, 2 ml	1%, 1 gota	2%, 2 ml	5%, 5 ml
NaOH	0,1 mol/L	0,111 mol/L	0,25 mol/L	0,1 mol/L
Resultado	% Ácido láctico/100g	°D	°SH	°Th

Fonte: adaptado de Jenness & Patton, 1959.

reações de neutralização. A visualização da viragem de cor, no caso do leite, é dificultada pela presença de compostos coloidais e pela cor branca opalescente do produto. No Quadro 2 é mostrada a influência do uso do indicador sobre a acidez do leite.

**QUADRO 2 -** Influência da quantidade de indicador sobre a acidez do leite

Fenoltaleína 0,5% m/v	acidez (% ácido láctico)	pH no ponto inicial
1 gota	0,192	8,87
0,10 ml	0,177	8,71
0,50 ml	0,163	8,48
1,00 ml	0,153	8,28
2,00 ml	0,148	8,20
3,00 ml	0,143	8,10
4,00 ml	0,138	8,06

Fonte: adaptado de Ling, 1949.

## 2.4. DETERMINAÇÃO DA ACIDEZ EM LEITE

No Brasil emprega-se o método Dornic para determinar a acidez do leite, mas outros métodos estão disponíveis, segundo o Quadro 3. Na sequência, o método Dornic é apresentado em detalhes.

### Método Dornic

#### Fundamento

A determinação da acidez consiste na titulação de determinado volume de leite por uma solução alcalina de concentração conhecida (hidróxido de sódio 0,111 mol/L), utilizando como indicador a fenoltaleína. O resultado pode ser expresso em graus Dornic (°D) ou porcentagem de compostos com caráter ácido expressa como ácido láctico.

#### Soluções e Reagentes

- Hidróxido de sódio 0,111 mol/L S.V.

- Fenolftaleína 1% (m/v) alcoólica neutralizada S.I.

**Vidrarias**

- Frasco erlenmeyer, boca estreita, capacidade de 125 ml.
- Pipeta volumétrica, capacidade de 10 ml.
- Bureta, capacidade de 10 ml, intervalo de graduação de 0,05 ml ou acidímetro Dornic.

**Utensílio**

- Suporte para bureta.

**Técnica**

- Transferir para um erlenmeyer de 125 ml, com auxílio de pipeta volumétrica, 10 ml de leite;
- adicionar 3 gotas de fenolftaleína S.I.; e
- titular por uma solução de hidróxido de sódio 0,1111 mol/L S.V. (Dornic) até coloração rósea persistente por 30 s.

**Resultado**

- Cada 0,1 ml corresponde a 1 °D e cada 1 °D corresponde a 0,01 % de acidez expressa como ácido láctico.

**Preparo da solução de hidróxido de sódio 0,111 mol/L (Dornic)**

- Preparar uma solução concentrada de hidróxido de sódio (NaOH, M igual a 40,01 g/mol), por dissolução cuidadosa de 80,3 g de hidróxido de sódio p.a. em 73,6 ml de água destilada, com auxílio de um banho de gelo;
- estocar a solução concentrada em frasco de plástico, podendo haver a formação de precipitado de carbonato de sódio durante o período de estocagem;
- transferir, aproximadamente, 200 ml de água destilada para um balão volumétrico de 1000 ml, com auxílio de béquer e funil;
- pipetar, com auxílio de pipetador de borracha, aproximadamente 5,8 ml do sobrenadante da solução concentrada de hidróxido de sódio e transferir para o balão volumétrico;
- agitar e, se houver aquecimento da solução, resfriar o balão volumétrico em água corrente;
- adicionar água destilada, com auxílio de béquer e funil, até próximo à marca de referência do balão volumétrico;
- completar o volume com água destilada, empregando uma pisseta ou pipeta graduada de 1 ml; e
- tampar o balão volumétrico; e
- misturar, cuidadosamente, por inversões do balão volumétrico.

**Padronização da solução de hidróxido de sódio 0,111 mol/L (Dornic)**

Desidratar, em estufa a 105 °C por 1 hora, aproximadamente 5 g de biftalato de potássio [HK(C<sub>8</sub>H<sub>4</sub>O<sub>4</sub>); M igual a 204,22 g/mol] p.a., pesados em uma placa de Petri;

- retirar da estufa e deixar esfriar em um dessecador;
- pesar, em um pedaço de papel impermeável, empregando balança analítica, aproximadamente, 204 mg do reagente desidratado;
- transferir, quantitativamente, para um erlenmeyer de 250 ml;
- transferir, aproximadamente, 25ml de água destilada para o elenmeyer, fazendo lavagens no papel impermeável;
- adicionar 2 gotas do indicador fenolftaleína;
- titular pela solução de hidróxido de sódio preparada até ponto final detectável pelo aparecimento e permanência de coloração levemente rósea;
- anotar o volume gasto na titulação;
- calcular o fator de correção para a solução de hidróxido de sódio, por meio da fórmula:

$$FC = \frac{m}{ml \times c_i \times 204,22}$$

Sendo:

- FC: fator de correção para a solução de hidróxido de sódio;
- m: massa (mg) de biftalato de potássio;
- ml: volume da solução de hidróxido de sódio gasto na titulação;
- c<sub>i</sub>: concentração em quantidade de matéria (mol/L) da solução de hidróxido de sódio; e
- 204,22: massa de biftalato de potássio (mg) equivalente a 1 ml de solução de hidróxido de sódio 1 mol/L

**Observações:**

1. fazer, pelo menos, três repetições da técnica de padronização e considerar a média das repetições como fator de correção para a solução de hidróxido de sódio;
2. a solução de hidróxido de sódio deverá ser estocada em frasco de plástico e o fator de correção deverá ser citado no rótulo principal ou, preferencialmente, em um rótulo auxiliar; e

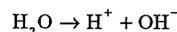
3. para preparar o indicador fenolftaleína, dissolver 5 g de fenolftaleína em 500 ml de etanol p.a., adicionar 500 ml de água destilada. Filtrar, se necessário, e neutralizar com uma solução de hidróxido de sódio 0,1 mol/L. Estocar em frasco âmbar, ao abrigo da luz.

**3. pH**

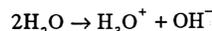
**3.1. POTENCIAL HIDROGENIÔNICO**

**3.1.1. CONSTANTE DE IONIZAÇÃO**

A água, mesmo altamente purificada, apresenta uma pequena condutividade elétrica. Ela deve, portanto, ficar levemente ionizada, segundo a reação:



Verdadeiramente, o íon H<sup>+</sup> se encontra hidratado, sob a forma de H<sub>3</sub>O<sup>+</sup> (íon hidroxônio ou hidrônio). Assim, a ionização da água deve ser representada por:



O H<sub>3</sub>O<sup>+</sup> e a OH<sup>-</sup> são, respectivamente, ácido e base; não podendo existir em grandes quantidades em conjunto. Pode-se representar o equilíbrio da reação pela constante de ionização:

$$K = \frac{[H_3O^+] \times [OH^-]}{[H_2O]^2}$$

**3.1.2. PRODUTO IÔNICO DA ÁGUA**

Em água pura ou em soluções aquosas diluídas, a concentração da água não dissociada é considerada constante (aproximadamente 55,6 mols/L), portanto:

$$[H_2O]^2 = K'$$

$$K \times K' = [H_3O^+] \times [OH^-]$$

$$K_w = [H_3O^+] \times [OH^-]$$

Sendo Kw o produto iônico da água, o qual varia com a temperatura, segundo o Quadro 4.

**QUADRO 4 - Produto iônico da água**

Temperatura °C	Kw × 10 <sup>-14</sup> mols/L
0	0,1300
10	0,2730
25	1,008
30	1,468
40	2,917
50	5,474

Fonte: Crockford, 1977.

Fixando-se a temperatura em 25°C e considerando-se que, na água pura, a concentração de [H<sub>3</sub>O<sup>+</sup>] é igual à de OH<sup>-</sup>, temos que:

$$K_w = [H_3O^+] \times [OH^-]$$

$$[H_3O^+] = [OH^-] = x$$

$$\text{Assim: } K_w = x \times x = x^2$$

$$\text{Como } K_w = 1 \times 10^{-14}, \text{ portanto } x^2 = 1 \times 10^{-14}$$

Extraindo a raiz quadrada, tem-se que:

$$x = 1 \times 10^{-7}$$

Isto significa que as concentrações de [H<sub>3</sub>O<sup>+</sup>] e de [OH<sup>-</sup>], na água pura, são:

$$[H_3O^+] = [OH^-] = 1 \times 10^{-7} \text{ mol/L}$$

**3.1.3. POTENCIAL HIDROGENIÔNICO**

Uma solução é considerada como ácida ou básica, em razão do íon que está presente em maior concentração. É usual descrever-se a acidez ou a alcalinidade da solução por meio da atividade de [H<sub>3</sub>O<sup>+</sup>], embora a solução possa ser básica.

A atividade de [H<sub>3</sub>O<sup>+</sup>] pode ser expressa em mols/L ou em unidades de pH. O pH é usado rotineiramente em trabalhos biológicos e industriais, e é muito mais conveniente que a expressão da concentração em quantidade de matéria (mol/L).

A escala de pH, para medir a atividade de [H<sub>3</sub>O<sup>+</sup>], foi proposta por Sorensen, em 1909. Por definição, pH é o logaritmo decimal do inverso da atividade hidrogeniônica em mols/L

$$pH = \log \frac{1}{a_{H_3O^+}}$$

**3.1.4. ESCALA DE pH**

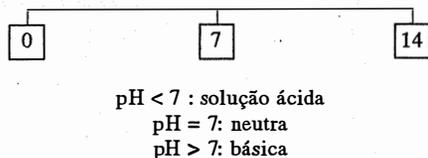
Considerando-se a água, temos que:

$$pH = \log \frac{1}{1 \times 10^{-7}} = \log 1 \times 10^7 = \log 10 = 7$$

$$pOH = \log \frac{1}{1 \times 10^{-7}} = \log 1 \times 10^7 = 7 \times \log 10 = 7$$

$$pH + pOH = 7 + 7 = 14$$

Assim, o pH da água pura é dito pH neutro (pH = 7,0) e o pH de ácidos e bases baseia-se na escala:



### 3.2. ACIDEZ E pH

Em leite de conjunto, o pH costuma variar entre 6,6 e 6,8, com média de 6,7 a 20 °C ou 6,6 a 25 °C. No caso de colostro, o pH pode variar de 6,24 no primeiro dia a 6,46 no terceiro dia. Leites provenientes de animais com mamite apresentam-se com comportamento alcalino, podendo atingir valores de pH em torno de 7,5 e 7,6.

Os valores de pH e acidez do leite não são proporcionais, embora haja uma relação inversa; ou seja, à medida que a acidez se eleva, ocorre abaixamento do pH. A dificuldade na obtenção de uma boa correlação está ligada ao fato de que na determinação da acidez são quantificados os H<sup>+</sup> livres (íons) e acessíveis (ionizáveis/dissociáveis); por outro lado, apenas os H<sup>+</sup> livres (íons) são quantificados na determinação do pH.

Como simples indicação, sujeita às limitações anteriormente descritas, são apresentadas, no Quadro 5, algumas interpretações dos valores de acidez e pH.

### 3.3. DETERMINAÇÃO DO pH EM LEITE

#### Fundamento

O método eletroanalítico (potenciométrico) é uma aplicação da determinação de concentrações iônicas por meio de células eletroquímicas compostas por dois eletrodos: um de referência e outro de medição sensível ao íon a ser determinado. A diferença de potencial desenvolvida quando se insere o eletrodo indicador na solução em análise será proporcional à concentração em quantidade

QUADRO 5 - Interpretação dos valores de acidez e pH

pH	Acidez	Interpretação
6,6 a 6,8	15 a 18	leite normal
6,9	15	leite alcalino, mamite, final de lactação, leite de retenção, água
6,5 a 6,6	≈ 20	leite sem resistência a 110°C
6,3	≈ 22	leite sem resistência a 100°C
6,1	24	leite que começa a coagular a temperatura ambiente

Fonte: adaptado de Santos e Rodrigues, 1983.

de matéria (mol/L) de íons H<sup>+</sup> (H<sub>3</sub>O<sup>+</sup>), podendo ser convertida diretamente em unidades de pH. O sistema deve, previamente, ser padronizado por meio de calibração com soluções tampão de pH adequado e ajuste de temperatura.

#### Vidraria

Béquer, capacidade 100ml.

#### Equipamento

Medidor de pH, calibrado com soluções-tampão entre pH 3 e 8.

#### Utensílio

Termômetro com escala de 0 a 100 °C, intervalo de gradação de 1 °C.

#### Técnica

- transferir, para um béquer de 100 ml, aproximadamente 50 ml de leite na mesma temperatura de aferição do medidor de pH com as soluções-tampão;
- inserir o bulbo do eletrodo de medição (ou do eletrodo conjugado) na amostra;
- acionar o botão de leitura de pH do aparelho; e
- fazer a leitura após estabilização.

#### Resultado

- Resultado direto em unidades de pH.

### 4. EFEITO TAMPÃO NO LEITE

#### 4.1. SOLUÇÃO-TAMPÃO

Em muitos processos biológicos, químicos e tecnológicos, é necessário que o pH de um sistema seja mantido dentro de limites muito estreitos, o que é conseguido com o emprego de soluções-tampão. Uma solução-tampão é definida como sendo aquela que resiste à modificação na concentração de H<sup>+</sup>, após adição de quantidades determinadas de ácido ou de base.

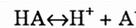
A água purificada não apresenta resistência à modificação do pH, quando adicionada de ácido

ou de base. A adição de uma gota de ácido clorídrico a um litro de água, a 25 °C, ocasiona abaixamento do pH de 7 para, aproximadamente, 3,2. Uma gota de solução concentrada de hidróxido de sódio provoca uma reação análoga, no sentido da alcalinização. Soluções de sais neutros, como o cloreto de sódio, também não exibem efeito tampão.

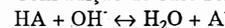
Para que uma solução comporte-se como tampão, deverá apresentar acidez e alcalinidade de reserva, o que ocorre em soluções de ácido fraco e seu sal de base forte e em soluções de base fraca e seu sal de ácido forte, conforme descrito abaixo.

#### Ácido fraco e seu sal de base forte

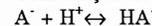
O ácido fraco dissocia pouco, conferindo acidez de reserva:



Com adição de base forte, tem-se que:



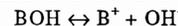
Com adição de ácido forte, tem-se que:



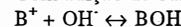
Nos dois casos, o pH permanece inalterado.

#### Base fraca e seu sal de ácido forte

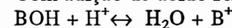
A base fraca dissocia pouco, conferindo alcalinidade de reserva:



Com adição de base forte, tem-se que:



Com adição de ácido forte, tem-se que:



Nos dois casos, o pH permanece inalterado.

#### 4.2. Efeito tampão no leite

O leite fresco apresenta-se como uma solução-tampão complexa, em razão da presença de dióxido de carbono, proteínas, fosfato, citrato, constituintes menores, além de compostos formados pelo desenvolvimento de microrganismos, como o lactato.

A medição da capacidade tampão é baseada na curva de titulação (pH versus mols de base adicionados) e o intercepto da curva é expresso como  $dB/dpH$ , como abaixo:

$$\frac{dB}{dpH} = \frac{\Delta E}{\Delta pH}$$

Sendo:

$\Delta E$ : mols de base requeridos para variar entre dois valores de pH; e

$\Delta pH$ : variação infinitesimalmente pequena do pH

O interesse no efeito tampão que ocorre no leite tem sido concentrado na faixa de pH entre a coagulação ácida (aproximadamente 4,8) e o ponto final detectável pela fenolftaleína (aproximadamente 8,3). Na Figura 1 é apresentada uma curva demonstrando o efeito tampão no leite.

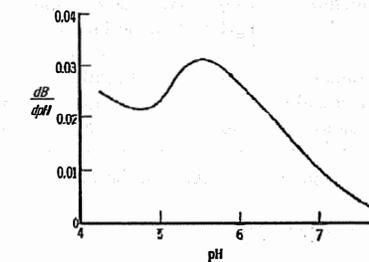


FIGURA 1 - Curva de efeito tampão no leite.

Fonte: adaptada de Jenness e Patton, 1959.

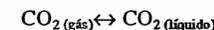
### 4.3. CONSTITUINTES DO LEITE COM EFEITO TAMPÃO

Na sequência, serão descritos os comportamentos dos principais constituintes do leite responsáveis pelo efeito tampão.

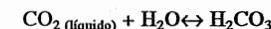
#### 4.3.1 - DIÓXIDO DE CARBONO

O leite recém-secretado contém aproximadamente 20 mg de CO<sub>2</sub> por 100 ml. Entretanto, ocorre rápida perda sob a forma de gás, acelerada por agitação, aquecimento ou tratamento do leite a vácuo.

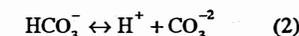
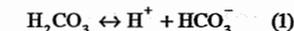
Existe um equilíbrio de CO<sub>2</sub> entre as fases gasosa e líquida, dado por:



O CO<sub>2</sub> líquido se dissolve na água, formando ácido carbônico:



O ácido carbônico se ioniza segundo as reações:



As constantes de ionização, dados por valores de pKa, para as reações (1) e (2) são 6,37

e 10,25, respectivamente. Assim, o ácido carbônico exibe o máximo da sua ação tampão em pH próximo a 6,5.

No Quadro 6 é mostrado o efeito de vários tratamentos no leite, alterações no teor de CO<sub>2</sub> e os efeitos no pH e na acidez do leite.

**QUADRO 6** - Efeito das variações no CO<sub>2</sub> sobre o pH e a acidez titulável do leite

Tratamento	CO <sub>2</sub> (mg/L)	Acidez(% como ácido láctico)	pH
Não tratado	108	0,150	6,48
Descarbonado	-	0,133	6,60
Carbonado	240	0,185	6,30

Fonte: adaptado de Jenness & Patton, 1953.

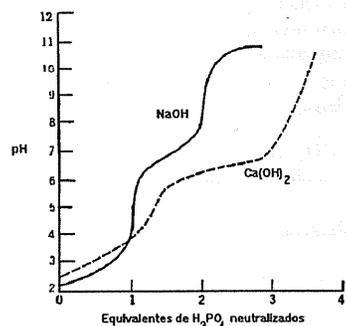
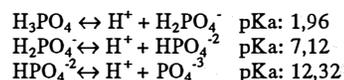
### 4.3.2. PROTEÍNAS

Os grupos ionizáveis das proteínas têm apreciável efeito tampão em pH entre 4,6 e 8,3. Particularmente, a caseína possui grupos tituláveis como ácido, como os grupos - amino, ácido da fosfoserina e imidazol da histidina.

### 4.3.3. FOSFATOS

O ácido ortofosfórico (H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>) é um ácido triprótico com três faixas distintas de ação tampão. A curva de titulação mostrada na Figura 2 ilustra o comportamento.

As ionizações do H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, com os respectivos pKa, são as seguintes:



**FIGURA 2** - Curva de titulação do ácido ortofosfórico.

Fonte: adaptada de Jenness e Patton, 1959.

Desta forma, o efeito no leite responderá ao segundo íon hidrogênio ionizável.

O ácido fosfórico, entretanto, exibe uma curva de titulação um pouco diferente, se o cálcio está presente no sistema durante a titulação. Esta peculiaridade decorre da precipitação do fosfato de cálcio e é idêntica àquela obtida na ausência do mesmo, até que o primeiro hidrogênio seja neutralizado, conforme Figura 2, curva com Ca(OH)<sub>2</sub>. Quando mais solução alcalina é adicionada, lentamente o pH se mantém próximo a 6 e o fosfato de cálcio precipita até que todos os três hidrogênios sejam neutralizados. De fato, parece que, na presença de cálcio, o terceiro hidrogênio é neutralizado próximo do pH 6.

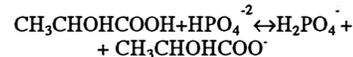
Deve-se considerar também que a precipitação do fosfato de cálcio não é instantânea, mas requer um certo tempo. Assim, um título mais alto poderá ocorrer se a titulação em presença de cálcio for demorada, ao passo que um a titulação rápida exibirá uma curva não muito diferente daquela sem a presença do cálcio. Inquestionavelmente, a precipitação do fosfato de cálcio durante a titulação é um dos mais importantes fatores envolvidos na titulação do leite.

### 4.3.4. CITRATOS

O ácido cítrico é um ácido triprótico com pKa de 3,08; 4,74 e 5,40. Assim, em leite a pH 6,6 ele existe, predominantemente, como um íon trivalente e apresenta pequena contribuição para o efeito tampão no leite. Esta se faz mostrar, pois na presença do cálcio, o citrato é completamente neutralizado em pH abaixo de 4,8.

### 4.3.5. LACTATOS

O ácido láctico é um ácido monoprótico com pKa de 3,86. Mesmo em leite ácido a pH 4,86, ele ocorrerá na forma de íon lactado em torno de 90%. Assim, a titulação do leite ácido não envolve a neutralização do ácido láctico, em um grau muito alto. O ácido láctico produzido por fermentação bacteriana de lactose é titulado em conjunto com outros tampões, como fosfatos e proteínas, a pH mais baixo. Por exemplo:



Estes então são titulados, para seu pH original, com a adição de mais solução alcalina. A acidificação pelo desenvolvimento de ácido láctico também dissolve o fosfato de cálcio coloidal associado à caseína. Isto também aumenta o título

não somente pela adição de mais fosfato titulável, mas também pelo aumento no tamanho do efeito do cálcio.

Embora seja comum em laticínios a expressão *1 °Dornic equivale a 0,1 g ácido láctico por litro*, a mesma não representa o real comportamento durante a titulação da acidez do leite. De uma forma mais correta, pode-se dizer que *1 °Dornic equivale a 0,1 g de compostos com comportamento ácido, expressos como ácido láctico, por litro*.

### CONCLUSÃO

O estudo da química do leite permite ao profissional da área de laticínios entender os fundamentos dos processos tecnológicos e as implicações na qualidade dos produtos. A complexidade composicional do leite e as inúmeras interações entre os seus constituintes são um desafio constante e motivador. Rotineiramente, os laticínios se deparam com problemas relacionados com a acidez e o pH de produtos lácteos, muitas vezes só explicáveis pelo efeito tampão manifestado. Os conceitos apresentados neste artigo poderão ser empregados como uma ferramenta útil para o desenvolvimento dos produtos com elevação do padrão de qualidade, além da redução das perdas operacionais.

### SUMMARY

The most important chemical and physical properties of milk have relation with quality and technological processing. These properties are resultant by the contributions of milk constituents and their relations. It was the aim of this present study to coment about acidity, pH and buffer behaviour of milk, to describe the principles involved, and to define the the contributions of constituents.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ATHERTON, H. V. & NEWLANDER, J. A. **Chemistry and testing of dairy products**. 4.ed. AVI Publish. Company, Westport, 1977. 398p.
- BRADY, J. E. & HUMISTON, G. E. **Química geral**. Livros Técnicos e Científicos, Rio de Janeiro, 1981. 572p.
- CROCKFORD, H. D. & KNIGHT, S. B. **Fundamentos de físico-química**. Livros Técnicos e Científicos, São Paulo, 1977. 398p.

JENNESS, R. & PATTON, S. **Principles of dairy chemistry**. John Wiley & Sons, New York, 1959. 446p.

SANTOS, E. C. DOS & RODRIGUES, R. Acidez do leite. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, 38(230):9-17, 1983.

WEBB, B. & JOHNSON, A. H. **Fundamentals of dairy chemistry**. AVI, Westport, 1936. 827p.

## QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE QUEIJOS COMERCIALIZADOS NA REGIÃO DE SÃO JOSÉ DO RIO PRETO - SP\*

Microbiological quality of cheeses commercialized in the area of São José do Rio Preto - SP

Fernando Leite Hoffmann ( \*\* )  
Crispin Humberto Garcia-Cruz ( \*\* )  
Tânia Maria Vinturim ( \*\* )

### RESUMO

Foram submetidas a análises microbiológicas dez amostras de queijos diferentes ( 100% ) todas elas obtidas de um hipermercado da região de São José do Rio Preto - SP. Os resultados obtidos demonstraram que todas as dez amostras analisadas ( 100% ) situaram-se fora dos padrões microbiológicos vigentes. Tais achados sugerem a qualidade inadequada das matérias primas utilizadas e/ou condições impróprias de processamento e estocagem.

### INTRODUÇÃO

O queijo pode ser conceituado como sendo um concentrado protéico-gorduroso constituído por caseína em forma de gel, matéria-graxa, ácido láctico e substâncias minerais, resultante da coagulação do leite ( Behmer, 1984 ). Atualmente as técnicas de fabricação de queijos estão mais desenvolvidas existindo no mercado produtos com diferentes valores nutritivos e sabores variados ( Behmer, 1984 ).

Apesar disso, existem ainda várias indústrias, principalmente aquelas de pequeno porte, que produzem queijos, dentre eles o queijo "Minas-Frescal", de fabricação relativamente simples e de baixo custo, que representa a maioria dos queijos comercializados em feiras livres, bares e mercearias. São também de fabricação caseira, existindo a tendência de comercializá-los em sacos plásticos comuns, amarrados ou fechados com um fecho metálico, porém sem usar vácuo. Durante a comercialização, esse saco plástico apresenta-se geralmente com um depósito de soro exsudado pelo produto. Essa dessora, que ocorre devido ao excesso de umidade nos queijos, além de proporcionar um aspecto pouco atraente ao produto, favorece o crescimento microbiano causando odores desagradáveis. Por essas razões, o queijo tipo "Minas-Frescal" apresenta,

geralmente, uma vida de prateleira muito curta, no máximo duas semanas, mesmo em temperaturas adequadas de refrigeração (Oliveira, 1986).

A maioria dos queijos frescos tipo "Minas-Frescal" consumidos pela população brasileira, são provenientes de fazendas onde o acesso ao leite recém ordenhado é fácil e onde podem também ser fabricados. Esse leite geralmente não recebe nenhum tratamento para reduzir sua carga bacteriana. Esta condição se agrava se não houver higiene durante a elaboração do queijo e se este for transportado ou armazenado sem refrigeração (Behmer, 1984).

A legislação estadual conceitua este produto da seguinte forma:

Queijo Minas Frescal - é o produto obtido de leite pasteurizado, integral ou parcialmente desnatado, comprimido, prensado levemente ou não, e geralmente de massa crua, devidamente maturado, variando a maturação. O queijo de minas frescal deverá apresentar, de preferência, formato cilíndrico baixo, de 4 a 7 cm de altura, tamanho médio com peso variando de 500 a 1.500 g, aproximadamente, com bordos retos e faces planas, formando ângulo vivo. A crosta deverá ser mal formada. A consistência deverá ser macia de untura manteigosa. A textura deverá apresentar buracos mecânicos, pequenos, com ou sem olhaduras em cabeça de alfinete, pouco numerosas.

( \* ) Trabalho desenvolvido no Departamento de Engenharia e Tecnologia de Alimentos - UNESP - Rua: Cristóvão Colombo, 2265 - 15.054.000 - São José do Rio Preto - SP.

( \*\* ) Professores e auxiliar acadêmico do Depto. de Engenharia e Tecnologia de Alimentos - UNESP - Campus de S. J. Rio Preto - SP.

Características organolépticas: aspecto - massa mole, cor - branco ou branco-creme, homogênea, cheiro - próprio, sabor - próprio (levemente ácido). Características físicas e químicas: umidade, máximo 57% p/p, lipídios de leite (calculados sobre a matéria seca), mínimo 40% p/p (São Paulo, 1978).

Como já citado, além do "Minas Frescal" existem ainda no mercado consumidor, dentre outros produtos, queijos tais como: condimentados, Cottage, Estepe, Gouda, Itálico, Mussarela, Prato, Provolone e Ricota.

A legislação define alguns destes produtos da seguinte maneira:

Queijo Estepe - é o produto obtido do leite pasteurizado, de massa semicozida, prensado e maturado pelo espaço de 2 a 3 (dois a três) meses. Deve apresentar: formato - retangular, com ângulos vivos, peso - 5.500 a 6.500 g (cinco mil e quinhentos a seis mil e quinhentos gramas), crosta - grossa, bem formada, lisa, amarelada, preferentemente revestida de parafina, consistência, textura, cor e odor semelhante aos queijos Prato, com sabor mais pronunciado (Brasil, 1952).

Queijo Gouda - é o produto preparado com leite pasteurizado ou não, de massa semicozida, prensado e maturado no mínimo, por 20 (vinte) dias. O produto deverá apresentar, de preferência, formato cilíndrico, baixo, com faces planas e ângulos arredondados ou formato de esfera comprimida. As faces comprimidas são paralelas e planas. Sua crosta deverá ser bem formada e lisa. A consistência deverá ser semidura, elástica, de untura semimanteigosa. A textura deverá ser semi-aberta, com poucos olhos ovalados ou arredondados, tolerando-se alguns em cabeça de alfinete ou mecânicos. A crosta poderá ser ou não revestida de parafina ou outra substância aderente. Será tolerado colorir a crosta de amarelo ou vermelho, com corantes naturais ou artificiais permitidos. Características organolépticas: aspecto - massa semidura, cor - amarela ou amarelada, homogênea, cheiro - próprio, sabor - próprio (suave, tendente a picante e adocicado). Características físicas e químicas: umidade, máximo 46% p/p, lipídios de leite (calculados sobre a matéria seca), mínimo 40% p/p (São Paulo, 1978).

Queijo Mussarela - é o produto elaborado com leite de vaca, de cabra, de ovelha, de búfala ou com qualquer combinação de dois ou mais destes leites, de massa filada, não prensado e exposto ao consumo até 5 (cinco) dias depois da fabricação. O produto elaborado unicamente com leite de vaca, será designado "mussarela", seguido da classe a que pertence. Quando for elaborado com leite que não seja o de vaca, ou com a mistura de dois ou mais leites, o produto deverá trazer,

também, o nome dos leites empregados. Ex.: "mussarela de leite de búfala, 1ª qualidade". O produto deverá ter, de preferência, formato cilíndrico-chato, com peso variável de 15 a 30 g, ou então, formato de paralelepípedo, com peso variável de 500 a 2.000 g. A crosta deverá ser fina ou não formada; a consistência semidura, rígida, e a textura fechada, indicando pouco ou nenhuma fermentação. Características organolépticas: aspecto - massa semidura, cor - branco-creme, homogênea, cheiro - próprio, sabor - suave, levemente salgado, próprio. Características físicas e químicas: umidade, máximo 58% p/p, lipídios de leite (calculados sobre a matéria seca), mínimo 28% p/p (São Paulo, 1978).

Queijo Prato e suas variedades - é o produto preparado com leite integral pasteurizado, de massa semicozida, prensado e maturado, no mínimo, 20 (vinte) dias. As variedades lanche, cobocó e esférico ou bola, cabem nesta definição apresentando as mesmas características com variação somente no formato. O produto será designado "queijo prato" seguido da variedade e classe. Ex.: "queijo prato, cobocó, 1ª. qualidade". O queijo prato deverá, de preferência, apresentar formato cilíndrico baixo de 8 a 10 cm de altura por 25 a 28 cm de diâmetro, faces planas e bordos arredondados; é permitido, também, formato cilíndrico, baixo, em diâmetro menor (cobocó), paralelepípedo, pequeno ou grande (lanche) e esférico (bola ou esférico). Seu peso poderá variar de 2.000 a 6.000 g no padrão e nas variedades cobocó, lanche e esférico ou bola de 1.000 a 4.000 g. Sua crosta deverá ser lisa, fina, bem formada, e preferivelmente, revestida de parafina. A textura deverá apresentar olhos redondos ou ovais, regularmente distribuídos, pouco numerosos bem formados. A consistência poderá ser macia e compacta. Será tolerada a coloração da crosta, de preferência de amarelo com corantes permitidos. Características organolépticas: aspecto - pasta semidura, elástica, tendente a macia, de untura manteigosa, cor - amarelo-palha, tolerando-se a tonalidade ligeiramente rósea, cheiro - próprio, sabor - próprio (suave, não picante e quando tiver maturação prolongada, deverá ter sabor mais pronunciado). Características físicas e químicas: umidade, máximo 45% p/p, lipídios de leite (calculados sobre a matéria seca), mínimo 40% p/p (São Paulo, 1978).

Queijo Provolone - é o produto preparado com leite cru ou pasteurizado, de pasta filada, enformado ou não, prensado ou não e devidamente maturado pelo espaço mínimo de dois meses. O produto deverá ter, de preferência, formato cilíndrico, alongado ou esférico. Sua crosta deverá ser lisa, firme, resistente, destacável, parafinada,

encerada ou oleada, com as características ranhuras do barbante. A consistência deverá ser semidura, pouco elástica, quebradiça, de untura as vezes meio seca, outras tendente a manteigosa. A textura deverá ser compacta ou apresentar poucos olhos em formato de cabeça de alfinete. O queijo provolone poderá ser defumado ou não, devendo tal circunstância ser declarada no rótulo. Características organolépticas: aspecto - massa semidura, cor - marfim ou creme, homogênea, cheiro - próprio - sabor - picante, suave, tolerando-se o picante forte. Características físicas e químicas: umidade, máximo 45% p/p, lipídios de leite (calculados sobre a matéria seca), mínimo 30% p/p (São Paulo, 1978).

Ricota fresca - é o produto obtido da albumina do soro de queijo, adicionado de leite (integral, parcial ou totalmente desnatado) até 20% do seu volume, por processos tecnológicos adequados. O produto deverá apresentar crosta rugosa, não formada ou pouco nítida; consistência mole, tendente a friável, as vezes dessorada, textura fechada ou com alguns olhos mecânicos. O formato deverá ser, de preferência, cilíndrico alto, pesando mais ou menos de 500 a 1.000 g. Deverá ser dado ao consumo, no máximo até o terceiro dia após a fabricação. Quando a ricota for elaborada com leite desnatado, tal circunstância deverá constar da rotulagem. Características físicas e químicas: umidade, máximo 80% p/p (São Paulo, 1978).

A comercialização do queijo "Minas Frescal", fabricado artesanalmente, tem sido indiscriminada, assim como a fabricação de diferentes produtos derivados do leite por pequenos estabelecimentos; este fato pode acarretar prejuízos à saúde da população tornando-se então necessário um monitoramento microbiológico dos produtos por ela consumidos.

Portanto, no presente trabalho queijos obtidos de um hipermercado da região de São José do Rio Preto-SP, foram submetidos as seguintes análises microbiológicas: contagem de *Staphylococcus aureus*, determinação do número mais provável de coliformes totais e de coliformes fecais, pesquisa de *Escherichia coli* e de *Salmonella sp.*

## MATERIAL E MÉTODOS

### Obtenção das amostras

As dez amostras (100%) de queijos diferentes (condimentado com cebola, Cottage, Estepe, Gouda, Itálico, Minas Frescal, Mussarela, Prato, Provolone e Ricota) foram coletadas com assepsia e transportadas adequadamente ao laboratório para análise imediata.

### Preparo das amostras

Foram trituradas, em almofariz esterilizado, 10 gramas de cada amostra com areia estéril, seguida de diluição em 90 ml de água destilada esterilizada. A partir desta diluição ( $10^{-1}$ ) obtiveram-se as outras diluições decimais seriadas até  $10^{-8}$ .

### Contagem de *Staphylococcus aureus*

Semeou-se, em duplicata, sobre a superfície do ágar telurito-gema de ovo, contido nas placas de Petri, 0,1 ml de cada diluição com o auxílio da alça de Drigalsky. O inóculo (0,1 ml) foi cuidadosamente espalhado por toda a superfície do meio até a sua total absorção. A seguir, as placas de Petri foram incubadas a 37°C por 24 - 48 horas. Calculou-se, de acordo com as diluições, as unidades formadoras de colônias, que se apresentavam negras, brilhantes, convexas e rodeadas por zonas claras de 2 a 5 mm de diâmetro, submetendo-as também, evidentemente, aos testes bioquímicos de confirmação, principalmente termonuclease e coagulase (ICMSF, 1978; Speck, 1984).

Determinação do número mais provável (NMP) de coliformes totais e de coliformes fecais

Foi utilizada a técnica dos tubos múltiplos, com três séries de três tubos de cada diluição ( $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$  e  $10^{-3}$ ). Empregou-se, como meio de cultura, o caldo lauril sulfato triptose e foram adicionados também, evidentemente, os tubos de Durham para coletar o gás produzido durante a fermentação. A incubação foi realizada a 37°C durante 48 horas e a determinação do NMP de coliformes totais, foi realizada empregando-se a tabela de Hoskins. Já para a determinação do NMP de coliformes fecais foi usado o caldo EC, com incubação a 44,5°C, em banho-maria, por 24 horas. A determinação do NMP de coliformes fecais, também foi efetuada com o auxílio da tabela de Hoskins (Brasil, 1981).

### Pesquisa de *Escherichia coli*

A partir dos tubos contendo caldo EC, que apresentaram turvação, com ou sem gás no interior dos tubos de Durham, foram semeadas por esgotamento placas de Petri contendo o ágar eosina azul de metileno. As colônias típicas de *Escherichia coli* apresentaram então coloração preta com brilho verde-metálico (Brasil, 1981). As colônias foram submetidas também aos testes bioquímicos recomendados.

### Pesquisa de *Salmonella sp.*

Foram homogeneizados 25 g de cada queijo em 225 ml de caldo lactosado e de água peptonada

a 1%. Após a incubação a 35°C, por 24 horas, 1 ml de cada uma dessas suspensões foi transferido para 10 ml de caldo selenito-cistina e também para 10 ml de caldo tetrationato de Kauffmann seguido de incubação a 35°C e 43°C. Depois de 24 horas, 48 horas e 5 dias foram realizadas semeaduras por esgotamento em placas de Petri contendo ágar *Salmonella Shigella* e ágar verde brilhante (Brasil, 1981). As colônias suspeitas foram identificadas com o uso de testes bioquímicos e sorológicos rotineiros.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos, após a realização das análises microbiológicas efetuadas nas dez amostras de queijos diferentes (100%) demonstrados na Tabela 1.

Nesta Tabela 1, e de acordo com o padrão da legislação em vigor (Brasil, 1987), pode-se observar que das dez amostras analisadas (100%) nove (90%) as amostras ns. 1,2,3,4,5,6,7,8 e 9 (queijos respectivamente, condimentado com cebola, Cottage, Estepe, Gouda, Itálico, Minas Frescal, Mussarela, Prato e Provolone) apresentaram contagens de *Staphylococcus aureus* fora

deste mesmo padrão estabelecido, destas nove, oito (88,9%) amostras números 1,2,3,4,5,6,7 e 8 (condimentado com cebola, Cottage, Estepe, Gouda, Itálico, Minas Frescal, Mussarela e Prato) foram então classificadas pela mesma legislação como "produtos potencialmente capazes de causar toxinfecções alimentares "e portanto" produtos impróprios para o consumo "e a outra (11,1%) amostra número 9 (Provolone) como "produto em condição higiênico-sanitária insatisfatória". Dentre as dez (100%) amostras analisadas, a única amostra (10%) que se apresentou de acordo com o padrão estabelecido foi a de número 10 (Ricota).

Comparando esses resultados com os encontrados na literatura, verificou-se que de sessenta amostras de queijo tipo "Minas" examinadas na cidade do Rio de Janeiro 38,4% apresentaram contagens de *Staphylococcus aureus* superiores a  $10^3$  UFC/g (Silva, 1980). Encontrou-se também 20,3% de amostras contaminadas com esse microorganismo na cidade de Lavras (Carvalho et al., 1981). Foram constatadas que 67% das amostras analisadas no município de Belo Horizonte estavam contaminadas com essa bactéria em níveis variando entre  $10^1$  e  $10^5$  UFC/g (Mandil et al., 1982). Encontrou-se também contagens de

TABELA 1. Representação dos resultados obtidos após as diferentes análises microbiológicas.

Amostra n.	Queijo	<i>Staphylococcus aureus</i> (UFC/g)	Coliformes totais (NMP/g)	Coliformes fecais (NMP/g)	<i>Escherichia coli</i> (confirmativo)	<i>Salmonella sp.</i> (+/-)
1	Condimentado com cebola	$2,4 \times 10^4$	< 3	< 3	-	+
2	Cottage	$2,5 \times 10^3$	> 1100	240	+	-
3	Estepe	$1,0 \times 10^5$	4	< 3	-	-
4	Gouda	$1,1 \times 10^6$	< 3	< 3	-	-
5	Itálico	$1,5 \times 10^7$	< 3	< 3	-	-
6	Minas Frescal	$1,6 \times 10^4$	23	23	+	+
7	Mussarela	$2,0 \times 10^4$	< 3	< 3	-	+
8	Prato	$1,8 \times 10^3$	150	150	+	+
9	Provolone	$8,0 \times 10^2$	< 3	< 3	-	-
10	Ricota	< 100	< 3	< 3	-	+
Variação		< 100	< 3	< 3	-	-
		a	a	a	a	a
		$1,5 \times 10^7$	> 1100	240	+	+
Padrão Federal (Brasil, 1987)		máximo $10^2$ /g		máximo $5 \times 10$ /g		ausência em 25 g
Padrão Federal (Brasil, 1987)		máximo $10^3$ /g		máximo $10^2$ /g		ausência em 25 g

*Staphylococcus aureus* variando entre  $1,5 \times 10^2$  e  $1,2 \times 10^5$  UFC/g na cidade de São Paulo (Furlanetto et al., 1983). Foram encontradas 62,75% de amostras contaminadas por essa mesma bactéria na cidade de Ouro Preto (Nascimento et al., 1985). Alguns autores acreditam que este elevado número de bactérias do gênero *Staphylococcus*, são decorrentes das más condições higiênicas do leite cru destinado à produção do queijo tipo "Minas-Frescal" (Nascimento et al., 1985; Santos et al., 1981; Wilson, 1977).

Quanto a determinação de coliformes totais, sem padrão para estes produtos na legislação, pode ser verificada a presença deste grupo de microrganismos nas amostras números 2,3,6 e 8 (Cottage, Estepe, Minas Frescal e Prato) isto é, em quatro (40%) das dez (100%) amostras analisadas.

Com relação a determinação de coliformes fecais, três (30%) das dez amostras analisadas (100%) apresentaram e confirmaram *Escherichia coli*, entretanto só duas (66,7%) dessas três (100%) amostras números 2 e 8 (Cottage e Prato) estavam em desacordo com o padrão estabelecido na legislação federal (Brasil, 1987) podendo ser então classificadas, por essa mesma legislação, como "produtos em condições higiênico-sanitárias insatisfatórias". Algumas pesquisas similares já demonstraram altos resultados para estes microrganismos (Carvalho et al., 1981; Silva, 1980).

De acordo com pesquisa realizada sobre o leite tipo "C", uma das matérias primas que podem ser utilizadas para produção de queijos, verificou-se que se o mesmo não apresentar qualidade higiênico-sanitária satisfatória, poderá ser veículo de contaminação bacteriana, principalmente se não for adequadamente pasteurizado (Hoffmann et al., 1994a.; Hoffmann et al., 1994b.; Garcia-Cruz et al., 1994).

Já com relação a presença de *Salmonella sp.*, excetuando-se as seis amostras números 1,5,6,7,8 e 10, respectivamente condimentado com cebola, Itálico, Minas Frescal, Mussarela, Prato e Ricota (60%), que se apresentaram em desacordo com o padrão da legislação federal (Brasil, 1987) sendo então classificadas pela mesma como "produtos potencialmente capazes de causar toxinfecções alimentares" e portanto "produtos impróprios para o consumo", todas as outras quatro, amostras números 2,3,4 e 9, respectivamente Cottage, Estepe, Gouda e Provolone (40%) não apresentaram e nem confirmaram *Salmonella sp.*

Pode ser verificado ainda que, das dez amostras analisadas (100%) três (30%) amostras ns. 3,4 e 9 (Estepe, Gouda e Provolone) não

atenderam somente ao padrão estabelecido na legislação em vigor (Brasil, 1987) para *Staphylococcus aureus* e uma amostra (10%), a de número 10 (Ricota) não atendeu ao padrão para *Salmonella sp.*

Já as quatro amostras (40%), números 1,5,6 e 7 (condimentado com cebola, Itálico, Minas Frescal e Mussarela) não atenderam simultaneamente ao padrão para *Staphylococcus aureus* e para *Salmonella sp.* e uma amostra (10%) a de número 2 (Cottage) não atendeu ao para *Staphylococcus aureus* e para coliformes fecais.

Por sua vez, uma amostra (10%) a de número 8 (Prato) não atendeu a nenhum padrão, ou seja, para *Staphylococcus aureus*, coliformes fecais e *Salmonella sp.*

### CONCLUSÃO

Os resultados obtidos demonstraram enfim, que todas as dez amostras analisadas (100%) situaram-se fora de um ou mais dos padrões microbiológicos vigentes, sendo que tais achados sugerem a qualidade inadequada das matérias primas e/ou condições impróprias de processamento e estocagem.

### ABSTRACT

Ten samples of different cheeses (100%) were submitted to microbiological analysis; all samples were got from a hypermarket in the region of São José do Rio Preto-SP. The results showed that the whole of the ten analysed samples (100%) set out of present microbiological standards. These results suggest an inadequate quality of raw material and/or unappropriate conditions of processing and storage.

### BIBLIOGRAFIA

- Behmer, M.L.A. *Tecnologia do leite*. 13a. ed., São Paulo, Nobel, 1984, p.155-156.
- Brasil. Leis, decretos, etc. Decreto n. 30.691 de 29 de março de 1952. Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária dos Produtos de Origem Animal. *Diário Oficial*, Rio de Janeiro, 07 de julho de 1952.
- Brasil. Ministério da Agricultura. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. *Métodos analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes*. I. Métodos microbiológicos. Brasília, 1981.

Brasil. Leis, decretos, etc. Portaria n. 001 de 28 de janeiro de 1987. *Diário Oficial*, Brasília, 25 de fevereiro de 1987. Aprova padrões microbiológicos para alimentos. p.2197-2200.

Carvalho, E.P.; Gomes, R.C. & Costa, L.C.G. Condições microbiológicas de queijo "Minas-Frescal" comercializado em Lavras, MG. In: Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos 5. Viçosa, 1981, p.147.

Furlanetto, S.M.P.; Cerqueira-Campos, M.L. & Iara, S.T. Pesquisa de *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens* e *Salmonella* em queijo Minas Frescal, vendido em supermercados do município de São Paulo. In: Congresso Latinoamericano de Microbiologia, 9. Congresso Brasileiro de Microbiologia, 12. São Paulo, 1983, p.144.

Garcia-Cruz, C.H.; Hoffmann, F.L. & Vinturim, T.M. Estudo microbiológico de queijo tipo Minas-Frescal de produção artesanal, comercializado na cidade de São José do Rio Preto-SP. *Revista do Instituto Adolfo Lutz*, São Paulo, v. 54, n. 2, p. 78-82, 1994.

Hoffmann, F.L.; Garcia-Cruz, C.H. & Vinturim, T.M. Avaliação das características microbiológicas do leite tipo "C" vendido na região de São José do Rio Preto-SP. *B. CEPPA*, Curitiba, v. 12, n. 1, p. 17-24, jan./jun., 1994a.

Hoffmann, F.L.; Garcia-Cruz, C.H.; Vinturim, T.M. & Possebon, A. Qualidade microbiológica de queijo tipo "Minas Frescal" e queijos condimentados comercializados na região de São José do Rio Preto-SP. *Anais do XII Congresso Nacional de Laticínios* (Instituto de Laticínios Cândido Tostes), p. 61-65, 1994b.

International Commission on Microbiological Specifications for Foods (ICMSF). *Microorganisms in foods: their significance and methods of enumeration*. 2. ed. Toronto: University of Toronto Press, 1978. v.1. 434 p.

Mandil, A.; Morais, V.A.D.; Pereira, M.L.; Fagundes, J.M.S.; Carmo, L.S.; Correia, M.G.; Castro, E.P. & Gomez, M.J.V.M. *Staphylococcus aureus* em queijos tipo "Minas". *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, v. 2, n. 2, p. 233-241, 1982.

Nascimento, D.; Sabioni, J.G.; Pimenta, N. & Xandó, S.R. Avaliação microbiológica de queijos tipo Minas-Frescal da cidade de Ouro Preto (MG). *Bol. SBCTA*, v. 19, n. 2, p. 120-129, 1985.

Oliveira, J.S. *Queijo: fundamentos tecnológicos*. São Paulo, Ícone/Campinas/UNICAMP, 1986, p.105-114.

Santos, E.S.; Genigeorgis, C. & Faver, T.B. Prevalence of *Staphylococcus aureus* raw and pasteurized milk used for commercial manufacturing of brazilian minas cheese. *Journal of Food Protection*, v.44, n. 3, p. 172-176, 1981.

São Paulo (Estado). Decreto n. 12.486 de 20 de outubro de 1978. Aprova normas técnicas especiais relativas a alimentos e bebidas. *Diário Oficial*, São Paulo, 21 de out. 1978. p. 1-42.

Silva, C.A.M. Avaliação da qualidade microbiológica de queijos tipo Minas-Frescal consumido na cidade do Rio de Janeiro. In: Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos, 4. Rio de Janeiro, 1980, p.202.

Speck, M.L. *Compendium of methods for the microbiological examination of foods*. APHA, 2a. ed., 1984.

Wilson, D. Pesquisa de *Staphylococcus aureus* em leite a ser pasteurizado. *Revista de Saúde Pública*, São Paulo, v.11, n. 1, p. 1-11, 1977.

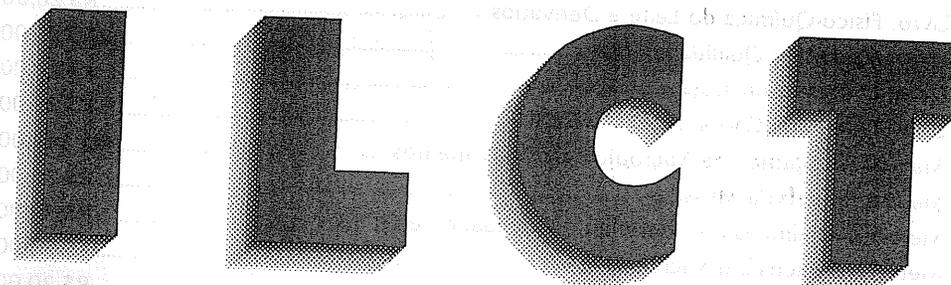
REVISTA DO INSTITUTO DE LATICÍNIOS CÂNDIDO TOSTES

O. L. Vargas

- (i) A revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes (REVILCT) publicada em Juiz de Fora, apresenta-se no tamanho de 230mm por 160mm e, como um órgão do Centro de Pesquisa e Ensino do Instituto de Laticínios Cândido Tostes, da Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais, destina-se à publicação de trabalhos originais de pesquisa e à veiculação de informações relevantes para o setor de leite e laticios derivados. A critério de um Corpo Editorial, constituído por membros especialistas internos e externos à EPAMIG, a revista poderá veicular artigos de revisão bibliográfica exaustiva, pertinente a um tema específico, ou mesmo notícias de interesse geral.
- (ii) Aos autores poderá ser solicitada a provisão institucional de recursos financeiros para publicação de trabalhos originais e/ou impressão de separatas, de acordo com a disponibilidade financeira no período em questão. Neste caso, a Revista poderá orientar os professores e pesquisadores na busca institucional de apoio financeiro, como por exemplo, para pagamento de fotolitos a cores.
- (iii) Os artigos devem ser redigidos em português, inglês ou espanhol. Os autores devem apresentar redações sempre incluindo títulos e resumo em português e inglês. A bibliografia e as normas complementares de citação devem estar de acordo com a última publicação revista da Associação Brasileira de Normas Técnicas - ABNT (NB - 66 revisada ou posterior). Dar-se-á preferência à forma sem destaque, onde o nome dos autores são escritos com apenas as primeiras letras maiúsculas, isto é, dentro da norma culta do português..
- (iv) Os manuscritos e cópias originais devem ser enviados datilografados em papel branco, tamanho A4, 210mm x 297mm de 75 g m<sup>2</sup>, reservando-se as seguintes margens: 1- margem esquerda de 40mm, 2 - margem direita de 25mm, 3 - margem superior de 25mm, 4 - margem inferior de 25mm. Os manuscritos devem ser datilografados em espaço duplo em páginas de aproximadamente 30 linhas (no máximo 34 linhas e 80 espaços ou caracteres por linha). O Corpo Editorial poderá fazer alterações de pequeno porte nos originais. As alterações de grande porte serão sugeridas aos autores juntamente com a devolução do texto a ser reajustado. As correções e os acréscimos encaminhados pelos autores, após protocolo de entrada dos originais poderão ser recusados a critério do Corpo Editorial.
- (v) Todos os pretendentes ao espaço da Revista, dentro do subtítulo "Ciência e Técnica ou Engenharia", deverão apresentar um resumo em português no início do trabalho e um "Summary" em inglês antes da listagem da bibliografia.
- (vi) A bibliografia deve ser listada, em ordem alfabética, pelo último nome do primeiro autor. As referências bibliográficas devem ser citadas no texto em uma das seguintes formas opcionais: Silva (1980); Silva 1980; (Silva 1980); (loc. cit., Silva, 1980); ou (Silva, 1980: 35). As abreviaturas de nomes de periódicos devem seguir as normas da "World List of Scientific Periodicals". Textos que resultam de ensaios devem conter: título, credenciais dos autores, resumo, introdução, material e método, resultados e discussão, conclusão, agradecimentos, summary e bibliografia.
- (vii) As ilustrações devem ser feitas em nanquim preto e branco e em tintas de desenho (Rotrings ou equivalentes) de cores variadas para reproduções em cores. As ilustrações deverão ser planejadas em função das seguintes reduções opcionais: 1) 1,5X; 2) 2,0X; 3) 2,5X; 4) 3,0X ou 5) nX sempre calculadas com base na diagonal de um retângulo. Dar-se-á preferência aos tamanhos impressos de 1) 120mm por 90mm; 2) 60mm por 45mm; 3) 170mm por 127,5mm. As bases das ilustrações deverão ser consideradas como 1) 120mm; 2) 60mm; 3) 170mm. Os gráficos e as tabelas devem ser reduzidos ao mínimo indispensável, apenas de acordo com as exigências de um tratamento estatístico formal. As ilustrações e as tabelas devem vir separadamente em relação ao texto e devem estar de acordo com as normas usuais de tratamento e processamento de dados. As fotografias não deverão ser recortadas, as formas fotográficas originais devem ser mantidas em tamanhos retangulares para espaços impressos preferenciais indicados acima (lado menor dividido pelo lado maior igual a aproximadamente 0,7). O cálculo para previsão da redução das ilustrações deve ser feito de acordo com a orientação de Papavero & Martins (1983:109). As ilustrações e as tabelas deverão ser montadas separadamente do texto, deverão conter indicações da sua localização definitiva em relação à paginação do trabalho, devendo constar uma chamada no texto. Na montagem deverá ser obedecido um rigoroso critério de economia de espaço através da divisão da página em lauda esquerda e lauda direita. Para possibilitar este aproveitamento de espaço, a magnitude da redução poderá ser ajustada. O Corpo Editorial outorga-se o direito de proceder às alterações na montagem dos clichês e das pranchas ou de solicitá-las aos autores. As legendas e os títulos das ilustrações deverão ser datilografados à parte do texto e das pranchas. As ilustrações enviadas pelo correio deverão ser protegidas em forma de pranchas de cartolina com uma proteção externa em cartão duro ou em madeira, de forma a deixá-las sempre planas, nunca dobradas. A CE não pode responsabilizar-se pelas perdas e danos com serviços de postagem.
- (viii) Em nenhum caso (subtítulo, nomes de autores, etc) deverão ser usadas palavras escritas só com maiúsculas. No corpo do texto serão grifados apenas nomes genéricos e específicos e palavras estrangeiras eventualmente usadas nas referências bibliográficas; grifar apenas os nomes de livros e periódicos e seus respectivos volumes.
- (ix) Estas normas se aplicam à produção de textos por meio dos múltiplos instrumentos da informática e os artigos podem ser apresentados empregando-se qualquer recurso de gravação reproduzível e visualizável. As credenciais dos autores e as notas de rodapé podem ser organizadas dentro dos critérios "Winword 6.0" (ou versão posterior).
- (x) Todos os artigos publicados poderão ser impressos em tiragem de 10 separatas. As separatas acima desse número serão cobradas dos autores a preço de custo. Os autores não receberão provas para exame e correção, os originais serão considerados definitivos.

Revista que há 56 anos vem se especializando na pesquisa e difusão do setor de leite e derivados. Para assinar a Revista do ILCT, basta preencher o cupom abaixo e enviar o cheque no valor de R\$ 40,00 em nome da EPAMIG Rua Tenente Freitas, 116 • Cx. Postal 183 CEP 36045-560 • Juiz de Fora • MG

ASSINE A REVISTA



Desejo assinar a Revista do ILCT

Nome: \_\_\_\_\_

Endereço: \_\_\_\_\_

Nº \_\_\_\_\_ Complemento: \_\_\_\_\_ Bairro: \_\_\_\_\_

Cidade: \_\_\_\_\_ UF: \_\_\_\_\_ CEP: \_\_\_\_\_ Tel: \_\_\_\_\_

## APOSTILAS DO CEPE/ILCT/ EPAMIG VALOR

Análise Sensorial de Produtos Lácteos .....	R\$ 15,00
Apostila de Informática .....	R\$ 20,00
Controle de Qualidade de Leite Pasteurizado .....	R\$ 20,00
Dicionário Laticinista - Vols. 1, 2, 3 - cada .....	R\$ 20,00
Doce de Leite .....	R\$ 5,00
Fabricação de Iogurte e Bebidas Lácteas .....	R\$ 20,00
Fabricação de Queijos .....	R\$ 20,00
Fabricação de Queijos - DENACCOOP .....	R\$ 10,00
Fundamentos Básicos da Tecnologia de Queijos .....	R\$ 20,00
Gerência em Tempos de Concorrência .....	R\$ 15,00
Higiene e Sanitização na Indústria de Laticínios .....	R\$ 10,00
Higienização na Indústria de Alimentos .....	R\$ 20,00
Interação da Salga na Fabricação de Queijos .....	R\$ 10,00
Leites Fermentados e Técnicas de Processamento .....	R\$ 20,00
Livro: Físico-Química do Leite e Derivados .....	R\$ 20,00
Livro: Marketing Qualidade Total .....	R\$ 25,00
Livro: O Brasil Laticinista .....	R\$ 20,00
Livro: Queijo de Cabra .....	R\$ 20,00
Manual Fotográfico de Microbiologia de Alimentos .....	R\$ 140,00
Manual Prático da Mussarela .....	R\$ 20,00
Métodos Analíticos de Controle de Qualidade de Queijos .....	R\$ 20,00
Métodos Básicos em Microbiologia .....	R\$ 15,00
Microbiologia e Métodos para Exame .....	R\$ 20,00
Monitoramento da Qualidade .....	R\$ 20,00
O Leite em suas mãos - Vols. 1, 2, 3 - cada .....	R\$ 20,00
Princípios de Marketing Aplicados em Laticínios .....	R\$ 15,00
Reciclagem em Leite e Derivados (cada módulo) .....	R\$ 15,00
Regulamentos dos Produtos Lácteos .....	R\$ 15,00
Soluções para Laboratórios .....	R\$ 10,00
Sorvete .....	R\$ 10,00
Técnicas para Análise de Físico-Química .....	R\$ 20,00
Tecnologia da Produção Industrial de Iogurte .....	R\$ 15,00
Tecnologia de Concentrados e Controle de Leite em Pó .....	R\$ 10,00
Tecnologia Fabricação de Queijos Finos .....	R\$ 20,00

Informações: Caixa Escolar do **Instituto de Laticínios Cândido Tostes**

A/C Rita ou Maurício

Fone: (032) 224-3116 / Fax: (032) 224-3113