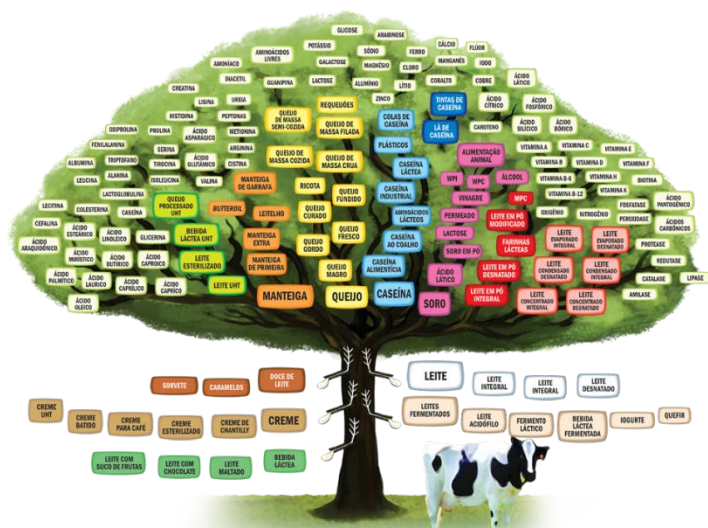




www.arvoredoleite.org

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 342 JUIZ DE FORA JAN/FEV DE 2005 VOL.60

GOVERNO DE MINAS GERAIS

SECRETARIA DE ESTADO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO.

EMPRESA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA DE MINAS GERAIS.

CENTRO TECNOLÓGICO

INSTITUTO DE LATICÍNIOS CÂNDIDO TOSTES.



digitalizado por arvoredeleite.org



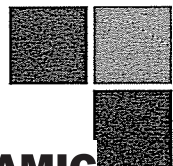
Agregando valor à "vida da gente"

"Temos sempre uma solução inovadora para
oferecer a nossos parceiros."

Aromas
Conservantes
Corantes
Culturas Láticas
Emulsificantes
Especialidades
Espessantes
Estabilizantes
Preparações de Frutas
Sais Fundentes

A ISP do Brasil/Germinal tem sempre uma solução técnica e criativa para auxiliar a indústria de laticínios. Suas combinações de ingredientes agregam valores funcionais aos produtos, como estrutura, textura, consistência, brilho, cor e sabor. Além disso, propicia economia e funcionalidade no Espessamento, Estabilização e Gelificação de seus produtos. Para isso, os profissionais de sua equipe técnica estão sempre à disposição para auxiliar no desenvolvimento de diversos produtos lácteos: iogurtes, requeijão, queijos, manteiga, sorvetes, sobremesas, entre outros.

Conte com nossa expertise e obtenha
Vantagem competitiva no mercado.



ISP do Brasil Ltda
Via das Palmeiras, 3.864 - Bairro Pinhal
Cabeúva - SP CEP 13315-000
11 4529-8622 - www.ispcorp.com.br



REVISTA DO INSTITUTO DE LATICÍNIOS "CÂNDIDO TOSTES"

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

ÍNDICE - CONTENT

- 1 Produtos lácteos com teor reduzido de gordura: importância e estratégias para obtenção e otimização da qualidade sensorial. Adriana Torres Silva, Ariene Gimenes Fernandes Van Dender 3
- 2 Características físico-químicas e sensoriais de requeijão culinário adicionado de goma xantana com aplicação em produtos prontos para o consumo. Juliana Franco, João Vitor Zimmermann, Priscila Possik, Patricia Taha, Evanilda Texeira, Marilde T. Bordignon Luiz 13
- 3 Comportamento do leite de búfala (*bubalus bubalis*) desnatado submetido a microfiltração. Elane S. Prudêncio, Renata B. Magenis, Maria da Conceição L. de Oliveira, Leila D. Falcão, Michel Mahaut, Antônio J. S. Hamad 21
- 4 *Staphylococcus* coagulase positiva em ricota: redução da contaminação pela utilização de luvas e máscaras. Roberta Hilsdorf Piccoli, Daniele Toledo Del Rio, Eliane Mara Cavalcante Alcântara, Luiz Ronaldo de Abreu 25
- 5 Determinação da qualidade microbiológica de queijos ralados obtidos do varejo do município de São José do Rio Preto - SP. Fernando Leite Hoffmann, Alexandre Rodrigo Coelho, Patrícia Hoffmann, Elisa Yoko Hirooka, Tânia Maria Vinturim Gonçalves 31
- 6 Efeito da suplementação com metionina sobre a produção e composição graxa do leite de vacas da raça Holandesa. Juliana Borsari Dourado Sancanari, Jane Maria Bertocco Ezequiel, Expedita Maria de Oliveira Pereira, Luciola de Sá Bertossi, Sérgio do Nascimento Kronka, Makoto Matsushita 41

Rev. Inst. Latic. "Cândido Tostes" - Juiz de Fora - Vol. 60 (342); 1-52 - Jan/Fev de 2005

EMPRESA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA DE MINAS GERAIS
Centro Tecnológico
Instituto de Laticínios "Cândido Tostes"
Revista Bimestral

Endereço: Revista do Instituto de Laticínios "Cândido Tostes"
Rua Tenente Freitas, 116 - Santa Terezinha
36.045-560 - Juiz de Fora - Minas Gerais - Brasil
Tel.: 3224-3116 - DDD: 32 / Fax: 3224-3113 - DDD 32

Governo do Estado de Minas Gerais

Aécio Neves da Cunha

Secretaria de Estado de Agricultura, Pecuária e Abastecimento Gerais
Silas Brasileiro

Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais

Baldonado Arthur Napoleão - Presidente

Luiz Carlos Gomes Guerra - Diretor de Administração e Finanças

Manuel Duarte Xavier - Diretor de Operações Técnicas

Centro Tecnológico - Instituto de Laticínios Cândido Tostes

Comitê Gerencial

Gerson Occhi - Chefe do CT/ILCT

Fernando Antônio Resplande Magalhães - Ger. Estadual do Programa de Pesquisa Processamento Agroindustrial

Danielle Braga Chelini Pereira - Coord. do Programa Ensino Leite e Derivados

José Lourenço Pereira Russi - Supervisor do Núcleo de Administração e Finanças

Nelson Tenchini Macedo - Supervisor do Núcleo de Indústria e Comércio

Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes

Luiza Carvalhaes Albuquerque

Coordenadora de Transferência e Difusão de Tecnologia

Especialista em Marketing e Qualidade Total

Jornalista Responsável

Vania Lucia Alves Lacerda

Reg. Prof. 4.729/MG

Corpo Revisor da Revista do ILCT

Adaauto de Matos Lemos

Célia Lucia Luces Fortes Ferreira

Daise Aparecida Rossi

Braz dos Santos Neves

Fernando Antônio Resplande Magalhães

Luiz Ronaldo de Abreu

Luiza Carvalhaes de Albuquerque

Paulo Henrique Fonseca da Silva

Os trabalhos apresentados são de inteira responsabilidade de seus autores.

Juiz de Fora, novembro de 2005

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. ilustr. 23 cm

n. 1-19 (1946-48), 27 cm, com nome de Felctiano, n. 20-73 (1948-57), 23 cm, com o 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)

PRODUTOS LÁCTEOS COM TEOR REDUZIDO DE GORDURA: IMPORTÂNCIA E ESTRATÉGIAS PARA OBTENÇÃO E OTIMIZAÇÃO DA QUALIDADE SENSORIAL¹

Importance of reduced fat dairy products and strategies for developing and optimizing sensory quality

Adriana Torres Silva¹

Ariene Gimenes Fernandes Van Dender²

RESUMO

Apesar da crescente preocupação do consumidor com a saúde e conseqüentemente com uma alimentação saudável, a demanda por produtos com teor reduzido de gordura não aumentou na mesma proporção devido principalmente às restrições quanto à qualidade organoléptica destes produtos quando comparados aos similares com teor integral de gordura. Para resolver este problema, diversas estratégias passaram a ser exploradas com o objetivo principal de otimizar a qualidade sensorial dos produtos light. De modo geral, a opção por produtos lácteos se destaca dentro da categoria de alimentos com teor reduzido de gordura, com ênfase para os queijos light, devido à sua versatilidade de aplicação tanto para consumo direto como em culinária. Este trabalho discute a importância destes produtos e apresenta uma revisão das principais técnicas potencialmente capazes de melhorar o flavour, a textura e a funcionalidade de queijos com teor reduzido de gordura. Assim, são discutidas algumas possíveis modificações na tecnologia de fabricação, o emprego de culturas adjuntas e o uso de substitutos de gordura, com ênfase na aplicação dos produtos miméticos de gordura.

Palavras-chave: Produtos com teor reduzido de gordura; culturas adjuntas; miméticos de gordura; textura; tecnologia de fabricação; qualidade sensorial.

1. INTRODUÇÃO

Organizações governamentais, científicas e de saúde têm alertado para a necessidade de se reduzir o consumo de gorduras e calorias. A relação entre a dieta e o desenvolvimento de doenças cardiovasculares e câncer tem resultado em guias alimentares que recomendam reduzir as calorias e o consumo de gorduras a 30% do total de consumo calórico. Conseqüentemente, vem aumentando o número de consumidores interessados em uma dieta saudável e os mesmos estão tentando reduzir tanto calorias como o conteúdo de gorduras. Os produtos com teor de gordura reduzido mais populares são os queijos/produtos lácteos, bebidas, sorvetes/sobremesas congeladas, batatas fritas e snacks (BANKS, 2004; SETSER; RACETTE, 1992).

Produtos obtidos pela redução ou substituição de gorduras ("low fat", "light", "lite", etc) encontram um mercado promissor, atendendo a pessoas sensíveis aos apelos de "marketing" e em especial àquelas preocupadas com melhores condições de saúde, manutenção ou redução do

peso e manutenção de aparência atraente. O incentivo proporcionado pela demanda crescente desse tipo de produto tem permitido a melhoria da tecnologia e o desenvolvimento de ingredientes e métodos de produção mais adequados para sua fabricação (BANKS, 2004; BARR, 1990; BRUHN, 1992; BUSS, 1993; GELARDI, 1993; CÂNDIDO; CAMPOS, 1996).

A atração por produtos lácteos com baixo teor de gordura nos Estados Unidos levou à publicação de um decreto de Rotulagem Nutricional e Educação em 1990 (MISTRY, 2002). Ao mesmo tempo que o interesse por estes produtos está aumentando, os consumidores também esperam que eles mantenham a textura e as características funcionais similares às dos produtos tradicionais. Apesar de muitos anos de pesquisa isto não foi satisfatoriamente alcançado. Quanto maior a quantidade de gordura removida, mais difícil se torna a manutenção das características sensoriais e funcionais. Com reduções menores no teor de gordura, as mudanças nas características funcionais dos produtos são menos dramáticas, porém grandes o suficiente para serem detectadas pelos consumidores (MISTRY, 2002).

¹ Trabalho extraído da Tese de Doutorado da primeira autora e apoiado pela FAPESP.

² Pesquisador Científico, Centro de Pesquisa e Desenvolvimento em Laticínios-TECNOLAT-ITAL, Av. Brasil, 2880, Campinas - SP, CEP 13073-001; email: atorres@ital.sp.gov.br; * a quem enviar a correspondência.

Um estudo conduzido pelo Calorie Control Council (CCC) em 1991 revelou que 124 milhões de americanos adultos (2/3 da população adulta, representada por 72% das mulheres e 61% dos homens), consumiam produtos com baixo teor de gorduras. Os mais consumidos eram produtos lácteos (49%), bebidas e sorvetes (43%), sobremesas (34%), batatas fritas e aperitivos (31%) (GELARDI, 1993; CÂNDIDO; CAMPOS, 1996).

Dados provenientes de um levantamento realizado pela Pfizer Food Science Group e pelo CCC em novembro e dezembro de 1991 revelaram que, no Reino Unido, 74% dos consumidores utilizavam produtos com baixas calorias contra 81% nos Estados Unidos e 74% no Canadá. Os alemães aparecem em terceiro lugar com 69% e os franceses com 48%.

BRUHN (1992) realizou uma pesquisa para verificar o interesse de consumidores norte-americanos (897 entrevistados) em produtos com baixo teor de gordura. Metade dos entrevistados demonstrou interesse em produtos como queijo, maionese e manteiga contendo substitutos de gorduras, principalmente por considerá-los mais saudáveis. Os fatores mais importantes na seleção de alimentos, na opinião dos entrevistados, eram: sabor (85%), segurança do produto (72%) e nutrição (69%). Os fatores nutricionais mais importantes considerados na escolha do alimento incluíam lipídeos totais (62%), ácidos graxos saturados/insaturados (61%), colesterol (58%), sódio (46%) e calorias (38%). Um aspecto importante é que apesar de desejar reduzir gorduras na dieta, os consumidores também estavam preocupados com seus atributos organolépticos. Estes resultados diferem um pouco dos obtidos pelo CCC, nos quais 82% dos entrevistados usavam produtos com baixo teor de gorduras por serem mais saudáveis, 80% para reduzir o colesterol, 73% para reduzir gorduras e 64% para reduzir calorias. Somente 43% afirmaram consumir tais produtos por considerá-los saborosos.

Segundo dados do Ministério da Saúde (MS) o sobrepeso, a obesidade e os hábitos alimentares inadequados estão entre os fatores subjacentes mais importantes das doenças cardiovasculares, diabetes e vários tipos de câncer. As doenças cardiovasculares são a primeira causa de óbito no Brasil com 300 mil mortes anuais, representando 17% do total de gastos do Sistema Único de Saúde com internações. Estima-se que a prevenção do excesso de peso/obesidade reduziria a incidência destas patologias em no mínimo, 30%. Baseando-se nesses dados, foi implementada a rotulagem nutricional no Brasil com o intuito de: aperfeiçoar as ações de controle sanitário na área de alimentos, visando a saúde da população, auxiliar o combate às doenças nutricionais e auxiliar no estabelecimento

de ações para orientar o consumo de alimentos com vistas à alimentação saudável. A rotulagem nutricional obrigatória foi implementada em 1994 nos EUA e em 2001 no Canadá. No Brasil ela tornou-se obrigatória no início de 2001 (Resolução RDC Anvisa nº 40, de 21 de março de 2001) sendo necessária a declaração dos seguintes nutrientes: valor calórico, carboidratos, proteínas, gorduras totais, gorduras saturadas, colesterol, fibra alimentar, cálcio, ferro e sódio. Uma pesquisa realizada nos Estados Unidos mostrou que 56% dos consumidores estão preocupados com o teor de gordura, 23% com o sal e 20% com o colesterol dos alimentos e ainda que o uso dos rótulos auxilia a manter uma alimentação pobre em gordura. Outra pesquisa feita no Canadá mostrou que 89% dos consumidores afirmam ser a rotulagem nutricional o fator de escolha mais importante para compra (perde somente para o sabor dos alimentos - 93%). No Brasil, de 6000 usuários consultados pelo Disque Saúde/MS em agosto 2000, 80% consultam o rótulo antes das compras (AQUINO, 2002). Considerando esses dados estima-se que no Brasil, após a implementação e utilização pelos consumidores da rotulagem nutricional obrigatória, o consumo de produtos com teores de gordura reduzidos irá aumentar.

Na Europa, entre os produtos "low fat" a área mais procurada é a de lácteos, à semelhança do que ocorre nos Estados Unidos. Os produtos com os quais os consumidores do Reino Unido se preocupam com o teor de gordura incluem: 42% correspondem a produtos para passar no pão ("spreads"), 37% a iogurtes, 28% a bolos, e 25% a biscoitos (GELARDI, (1993; MERMELSTEIN, 1994; CÂNDIDO; CAMPOS, 1996).

JONES (1992) relatou resultados de estudos utilizando sete categorias de alimentos a saber: requeijão, queijo cremoso, queijos processados, coalhada, molhos para saladas e maionese, sobremesas congeladas e produtos de panificação, que foram considerados isentos de gordura para efeito de cálculo. Neste estudo, a substituição dos alimentos convencionais citados por produtos na versão "low fat", implicaria na redução de 14% da ingestão calórica diária referente a estes produtos. O teor de ácidos graxos saturados diminuiria 12% e o de colesterol, 5%. A ingestão de calorias provenientes de gorduras na dieta respeitaria os 30% recomendados.

2. ESTRATÉGIAS PARA REDUÇÃO DO TEOR DE GORDURA EM QUEIJOS

Os consumidores têm aumentado a demanda por queijos com reduzidos e baixos teores de gordura. Entretanto, a remoção ou redução da gordura afeta tanto o sabor como a textura. Muitas pesquisas estão focadas na otimização das qualidades sensoriais desses queijos. Geralmente três estratégias

estão sendo empregadas na redução da gordura, ao mesmo tempo que se procura otimizar a qualidade sensorial: modificações na tecnologia de fabricação; uso de culturas adjuntas e substitutos de gordura. Nenhuma delas pode substituir completamente todas as propriedades e funções da gordura. No entanto, avanços nas pesquisas dentro dessas três áreas continuam a melhorar o sabor e a textura dos queijos com teores baixo e reduzido de gordura (BANKS, 2004; DRAKE; SWANSON, 1995).

2.1 Modificações na tecnologia de fabricação

Potencialmente, a forma mais simples e econômica de se melhorar o sabor e a textura dos queijos com teor de gordura reduzido consiste em introduzir modificações na tecnologia de fabricação empregada. Muitas dessas modificações estão focadas em um ou dois parâmetros críticos: a umidade ou a concentração de ácido láctico. O aumento da umidade promove uma pequena melhora na textura e na lubrificação ou sensação de cremosidade na boca, proporcionadas pela gordura. Queijos com redução na concentração de gordura apresentam também menor rendimento porque a gordura constitui normalmente 50% ou mais do extrato seco total. Aumentando-se a umidade aumenta-se também o rendimento nesses queijos. Muitas modificações na tecnologia de fabricação visam o aumento da retenção de umidade na coalhada. Entre elas, podem ser citadas a temperatura mais baixa de cozimento da massa, o menor tempo de cozimento, a lavagem da massa com água fria e o menor tempo de "cheddarização". O aumento da acidez é também um parâmetro crítico nos queijos com teores de gordura baixo ou reduzido. Isto se deve ao fato desses queijos possuírem um conteúdo maior de umidade e geralmente serem produzidos usando-se temperaturas mais baixas no cozimento da massa, o que pode acarretar maior propagação das bactérias lácticas "starters" no queijo, produzindo um excesso de ácido e sabor amargo. Algumas modificações no processo de fabricação, como o uso de menor quantidade de culturas "starters" produtoras de ácido láctico, o uso de tipos especiais de culturas "starters", diminuição no tempo de maturação e lavagem da massa são métodos empregados para controlar a produção de ácido láctico (BANKS, 2004; DRAKE; SWANSON, 1995).

Assim como as modificações na tecnologia de fabricação são as soluções mais simples e econômicas para se produzir queijos com teor de gordura reduzido, são também as mais antigas. Em 1957, IRVINE et al. citado por DRAKE; SWANSON (1995) recomendaram a diminuição da temperatura de cozimento e lavagem da massa para otimizar o sabor de queijos com baixo teor de gordura ao passo

que HARGROVE et al. (1966) recomendaram uma combinação de diminuição no tempo de maturação e lavagem da massa também com o objetivo de melhorar o sabor deste tipo de queijo.

Várias modificações, incluindo elevação da temperatura de pasteurização para aumentar a desnaturação das proteínas do soro e aumentar a sua capacidade de retenção de água no queijo, pré-acidificação do leite antes da adição de renina, e redução no tempo de cozimento são recomendadas para melhorar as características de derretimento ("stretch" e "melt") do queijo mussarela com teor reduzido de gordura (MERRILL et al., 1994).

TUNICK et al. (1993) e METZGER; MISTRY (1994) recomendaram a homogeneização do leite ou creme para melhorar tanto a textura como a retenção de umidade de queijos "Baby Edam", mussarela e Cheddar com teores de gordura baixo e reduzido.

MCGREGOR; WHITE (1990) propuseram que a ultrafiltração do leite desnatado poderia melhorar a textura e o sabor do queijo Cheddar com baixo teor de gordura, primeiramente por diminuir a quantidade de lactose, controlando assim a taxa de acidez, e segundo por aumentar o conteúdo de proteína do queijo, facilitando a ligação adicional de umidade. Em trabalho preliminar realizado pelos autores, foi observada uma melhora significativa na textura, corpo e sabor dos queijos obtidos por ultrafiltração, com acidificação e diafiltração. No entanto, neste trabalho só foi observado um aumento no conteúdo de umidade. Não houve melhora na textura e sabor quando os queijos foram comparados com os queijos controle.

A adição de sólidos do leite é recomendada para aumentar a capacidade tampão no queijo e para controlar a taxa de acidez. ANDERSON et al. (1993) determinaram que o uso de leite desnatado condensado padronizado a 15,40% de sólidos totais melhora o sabor do queijo Cheddar com teor de gordura reduzido.

Com tantas recomendações diferentes, é difícil determinar qual a tecnologia mais adequada para melhorar os queijos com teor de gordura reduzido. DRAKE et al. (1995) apud DRAKE; SWANSON (1995) compararam técnicas como diminuição na temperatura de cozimento, diminuição no tempo de maturação, diminuição nas quantidades de cultura "starters", homogeneização do leite, adição de sólidos de leite, adição de culturas adjuntas e lavagem da massa. Os autores determinaram que a lavagem da massa produziu queijos com teor de gordura reduzido em 33%, de ótima qualidade sensorial.

2.2 Emprego de culturas adjuntas

As culturas adjuntas são tradicionalmente usadas para melhorar ou acelerar o desenvolvimento

do flavour em queijos com baixo teor de gordura. Pesquisas no início dos anos 80 começaram a esclarecer este papel. Essas culturas podem melhorar o flavour por meio do aumento da proteólise, especificamente pela atividade da aminopeptidase, a qual reduz o sabor amargo e aumenta as concentrações de peptídeos desejáveis e precursores de compostos voláteis aromáticos (FERNANDES; STEELE, 1993).

As culturas adjuntas mais comumente usadas são *Lactobacillus* spp. Os primeiros a serem selecionados foram *Lactobacillus casei* (mesófilo), *Lactobacillus helveticus* e *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (termófilos). Algumas pesquisas reportam que uma concentração de sal ótima e o uso de cultura adjunta melhoram o flavour de queijo Cheddar com baixo teor de gordura. ARDO et al. (1989) apud DRAKE; SWANSON (1995) empregaram *L. helveticus* como cultura adjunta na fabricação de queijos semi-duros com baixo teor de gordura e constataram aumento da proteólise, diminuição do sabor amargo e intensificação do flavour. Similarmente, o emprego de uma cultura adjunta de *L. helveticus* melhorou as qualidades sensoriais em queijo Gouda com baixo teor de gordura (SKEIE et al., 1995) apud DRAKE; SWANSON (1995).

Outras culturas adjuntas vêm sendo estudadas, como é o caso por exemplo de *Micrococcus* sp. LL3, usada como cultura adjunta em alguns trabalhos com queijo Cheddar. Nesses trabalhos, foram observados aumento da proteólise, produção intensa de flavour de Cheddar, diminuição do sabor amargo e melhora na textura. *Brevibacterium* spp também foi utilizado, obtendo-se melhora no flavour e na textura (LEE et al (1992) apud DRAKE; SWANSON (1995).

2.3 Uso de substitutos de gordura

A produção de alimentos com baixo teor de gorduras requer a utilização de produtos com atributos dos lipídeos, mas com conteúdo calórico reduzido. Incluem além dos aditivos normalmente utilizados na tecnologia de alimentos como estabilizantes, emulsificantes e espessantes, outros com propriedades específicas. São de difícil produção e nem sempre se consegue expressiva redução calórica, em função da manutenção das propriedades organolépticas (CÂNDIDO; CAMPOS, 1996).

De acordo com o Calorie Countrol Council (1994), o substituto de gordura ideal deve ser um composto de reconhecida segurança para a saúde e que apresente todas as propriedades funcionais e organolépticas das gorduras com quantidade significativamente menor de calorias. Para o Conselho, as propriedades mais importantes das gorduras são: estabilidade térmica, emulsificação e

aeração, lubricidade, além de contribuírem com sabor, cor e a capacidade de espalhamento.

Uma vez que este substituto ideal não existe, estão disponíveis diversos produtos que apresentam algumas destas propriedades e que, na correta combinação e proporção, permitem o desenvolvimento de um número muito grande de produtos alimentícios (CÂNDIDO; CAMPOS, 1996).

Estes produtos decorrem de um dos seguintes processos: criação de moléculas novas, aplicação de novas tecnologias a moléculas conhecidas para atender ao novo propósito ou simplesmente, a expansão do uso de processos conhecidos a moléculas conhecidas (THOMPSON, 1992).

Os produtos existentes enquadram-se em dois grupos principais, de acordo com seu mecanismo de ação: a) combinação de água com lipídeos ou não-lipídeos (carboidratos ou proteínas modificados), com propriedades emulsificantes ou capazes de formar géis especiais; e b) compostos não calóricos com propriedades semelhantes às dos lipídeos, cujas ligações ésteres são modificadas (ésteres, ésteres de lipídeos com açúcares, com poliglicerol, com polietilenoglicol, ou com ácidos policarboxílicos-análogos de lipídeos) (CÂNDIDO; CAMPOS, 1996).

Os produtos do primeiro grupo são também chamados extensores ou miméticos. Os extensores incluem produtos convencionais como amidos, gomas e maltodextrinas associados a pequenas concentrações de gordura, que normalmente atuam como agentes de corpo. Os miméticos são carboidratos ou proteínas que podem simular algumas das propriedades das gorduras nos alimentos. Os do segundo grupo são também chamados de gorduras sintéticas, constituindo-se em substâncias com as propriedades funcionais das gorduras, mas que o organismo não consegue metabolizar, e que seriam o que se pode chamar literalmente de substitutos de gorduras (CÂNDIDO; CAMPOS, 1996).

Os substitutos de gordura (análogos de lipídeos) são macromoléculas química e fisicamente similares aos triglicerídeos, as quais podem teoricamente substituir gorduras em base 1 para 1 (1g:1g). São lipídios modificados química e/ou fisicamente. Já os miméticos de gordura são substâncias que imitam as propriedades organolépticas e físicas dos triglicerídeos, porém não podem substituir a gordura na proporção de 1 para 1 (1g: 1g). Consistem principalmente de carboidratos ou de proteínas química e/ou fisicamente modificados como por exemplo proteínas de soro microparticuladas (BANKS, 2004; ROLLER; JONES, 1996).

Os miméticos de gordura são substâncias polares, solúveis em água, capazes de imitar as propriedades da gordura pela ligação de água e sensação de lubrificação e cremosidade na boca.

No entanto, não podem substituir totalmente as propriedades funcionais relacionadas à não-polaridade da gordura como sua capacidade de carrear compostos de flavour, por exemplo. Entretanto, a natureza polar dos miméticos de gordura é uma vantagem na capacidade de ligação de água. Aumentar o conteúdo de umidade dos queijos com baixo teor de gordura é importante para se melhorar a textura e o rendimento. Muitos dos trabalhos que relatam a aplicação dos miméticos de gordura em queijos com teor de gordura baixo ou reduzido são patentes ou não foram publicados (BANKS, 2004; DRAKE; SWANSON, 1995).

2.3.1 Miméticos de Gordura (Base proteína)

Os produtos compostos principalmente de proteínas ou de carboidratos são, em sua maioria, utilizados convencionalmente e apresentam segurança estabelecida. São produtos que se apresentam na forma hidratada e têm aplicação seletiva em alimentos. O elemento comum nos sistemas de substituição de gorduras é a água. O sucesso depende do controle desta água, de forma que o substituto proporcione a funcionalidade da gordura que falta (CÂNDIDO; CAMPOS, 1996).

Proteínas são utilizadas em função de suas propriedades de fluxo. Apesar de menos efetivas na interação com a água do que os carboidratos, o caráter hidrofóbico, especialmente das proteínas desnaturadas, acentua a sua habilidade em imitar gorduras emulsionadas em sua interação com aromas e outros componentes dos alimentos. Proteínas microparticuladas proporcionam a fase dispersa, a qual distribui água uniformemente ao longo da matriz alimentar (CLARK, 1994).

As proteínas do leite consistem de duas frações principais: caseína (80%) e as proteínas do soro (20%). Das proteínas do soro, 25% corresponde à α -lactalbumina e 55% à β -lactoglobulina. Estas diferem da caseína porque são menores, globulares, compactas, solúveis em ampla faixa de pH, termolábeis e não coaguláveis pela renina. Após sofrer processo de concentração, o soro pode originar substitutos de gordura com diferentes propriedades. O efeito da concentração, associado ao controle de pH e temperatura, origina propriedades como formação de géis, estabilização de espumas e de emulsões. Os géis formados sob condições ácidas são macios, elásticos e opacos. Acima de pH 7,0 formam-se géis mais transparentes e elásticos. Além do pH, componentes do alimento podem alterar as características dos géis, como sais e outras proteínas. Devido à sua natureza protéica, derivados do soro não podem ser empregados em produtos que serão processados em temperaturas elevadas. MORR (1992) e LUCCA; TEPPER (1994), discutiram em seus

trabalhos o benefício adicional que representa o alto valor nutricional do soro do leite bem como suas propriedades funcionais.

Em estruturas globulares, que caracterizam as proteínas do soro, os grupos hidrofóbicos encontram-se internamente na molécula e os hidrofílicos no exterior. As propriedades funcionais de tais proteínas dependem de fatores físico-químicos intrínsecos, como composição e sequência de aminoácidos, flexibilidade, tamanho, conformação e distribuição de cargas na estrutura da molécula; e de fatores extrínsecos como pH, temperatura, concentração de proteína, e tipos de íons (BRYANT; McCLEMENTS, 1998).

As proteínas são os principais componentes funcionais, sendo importante entender algumas das suas propriedades físico-químicas básicas para que se possa manipular mais efetivamente suas propriedades funcionais e desenvolver produtos protéicos com ótimas propriedades para aplicações específicas (KINSELLA, 1984).

As proteínas do leite possuem vantagens intrínsecas tais como a sua capacidade de formar variadas estruturas, sabor suave e poderem ainda conferir uma série de texturas atrativas aos produtos formulados. A matéria-prima, o leite, é facilmente processável e está disponível com uma substancial uniformidade na composição básica durante o ano. As proteínas do leite oferecem individualmente uma grande diversidade de propriedades físico-químicas, fato que lhes confere propriedades funcionais potenciais (PEARCE, 1995).

O número, o tipo e a sequência dos aminoácidos das proteínas do leite afetam profundamente suas propriedades físico-químicas e funcionais. Existem seis classes principais de cadeias de aminoácidos, agrupadas de acordo com as cadeias laterais comuns: alifáticas (alanina, leucina, isoleucina, valina); aromáticas (fenilalanina, tirosina, triptofano); ácidos (aspártico, glutâmico); básicos (lisina, arginina, histidina); polares (asparagina, glutamina, serina, treonina); sulfurados (metionina, cisteína) e o iminoácido, prolina. A Tabela 1 mostra algumas características das proteínas do leite (KINSELLA et al., 1988).

A presença dos grupos SH e dissulfeto contribui para intercâmbio dissulfeto e formação de complexos entre as proteínas do soro, quando estas são submetidas ao aquecimento, e para as interações das proteínas do soro com a k-caseína, que contém dois grupos SH. Grupos sulfidril podem ser ativos no estado nativo mas, sob desnaturação protéica, o polipeptídeo se abre e esses grupos são expostos, podendo participar de intercâmbio dissulfeto e, sob certas condições formar gel protéico (MODLER, 1985).

Uma proporção alta (> 30%) de resíduos de aminoácidos apolares (cadeias laterais aromáticas

Tabela 1. Características estruturais e químicas das proteínas do leite (KINSELLA et al., 1988).

	Proteínas do soro					Caseínas	
	β -Lg	α -La	BSA	α_1 -	α_2 -	β -	κ -
Peso molecular (D)	18362	14194	65000	23612	25228	23980	19005
Nº total resíduos aminoácidos	162	123	581	199	207	209	169
Resíduos apolares (%)	34,6	36	28	36	40	33	33
Ponto isoelétrico	5,2	4,2-4,5	5,3	4,96	5,27	5,20	5,54
Nº resíduos de prolina	8	2	28	17	10	35	20
Nº resíduos de lisina	15	12	59	14	24	11	9
Nº grupos fosfoserina	0	0	0	8-9	10-13	5	1
Nº pontes dissulfídicas	2	4	17	0	1	0	1
Nº grupos tiol	1	0	1	0	0	0	0
Estrutura secundária (%)							
α -hélice	15	26	54	-	-	9	23
β -sheet	50	14	18	-	-	25	31
β -turns	18	-	20	-	-	-	24
Não ordenada	-	60	-	-	-	66	-
Conformação nativa	Globular			Linear			

e alifáticas) afeta as interações hidrofóbicas, as interações interpeptídicas, a solubilidade e propriedades de hidratação e superfície das proteínas. Uma proporção crítica (aprox. 30%) de resíduos apolares nas proteínas promove uma auto-associação. Isto é ilustrado pelas caseínas, as quais possuem um alto conteúdo de resíduos apolares e têm uma forte tendência de auto-associação dentro das micelas. A capacidade da β -caseína de adsorver rapidamente nas interfaces reflete uma natureza altamente anfipática (KINSELLA et al., 1988).

Tanto os grupos laterais ácidos como os básicos estão envolvidos nas interações eletrostáticas estabilizando as proteínas globulares. Eles também são importantes na hidratação da proteína; os resíduos aspartil e glutamil podem ligar 6-7 moléculas de água por resíduo. Os resíduos de lisil sofrem facilmente reações de acilação, alquilação, arilação e guanilação. As modificações químicas dos grupos lisil podem proporcionar informações a respeito das correlações entre a estrutura e funcionalidade das proteínas e podem ser exploradas para melhorar as propriedades desejáveis das proteínas dos alimentos (KINSELLA et al., 1988).

Os grupos laterais polares de asparagina, glutamina, serina e treonina servem como doadores ou receptores nas ligações de hidrogênio, que são importantes em proteínas globulares como a β -lg e a α -la. Os grupos hidroxil da serina e treonina atuam como sítios de ligação para outros grupos, tais como os resíduos de fosfato e carboidrato. Estes são particularmente relevantes na estrutura e no comportamento funcional das caseínas. Os grupos fosfato contribuem significativamente para a estrutura micelar e para as propriedades físico-químicas das caseínas do leite, como a solubilidade,

a sensibilidade ao cálcio e a capacidade de ligação com a água (KINSELLA et al., 1988).

As caseínas (α_1 -, α_2 -, β -, κ -) possuem um alto conteúdo de resíduos de prolina quando comparadas às proteínas do soro (Tabela 1). A distribuição desses resíduos ao longo da cadeia peptídica impede a formação de estruturas organizadas nas caseínas, as quais contêm pouca ou nenhuma estrutura terciária. A κ -caseína contém carboidrato em sua estrutura, e parece que esta fração é a responsável pela estabilização estérica da micela de caseína (KINSELLA et al., 1988).

A β -lg nativa possui duas pontes dissulfídicas e um grupo tiol livre e estes grupos estão envolvidos nas características de estabilidade ao calor das proteínas do soro (KINSELLA et al., 1988).

Algumas características físico-químicas básicas permitem entender diferenças observadas na funcionalidade dos concentrados protéicos de soro e dos caseinatos nas aplicações em alimentos. A segregação de grupos polares ácidos dos grupos apolares dentro das unidades monoméricas de caseinato é, sem dúvida, o fator que permite a eles serem melhores do que as demais proteínas em aplicações que requerem atividade de superfície. A conformação global das proteínas do soro, que resulta da distribuição uniforme de grupos apolares e polares ao longo da cadeia polipeptídica, e o número relativamente alto de bandas dissulfídicas, explicam a susceptibilidade destas proteínas à desnaturação e interações intermoleculares, fatores que controlam a sua funcionalidade (MORR, 1979).

As proteínas do soro são as únicas usadas na sua forma nativa em aplicações alimentícias. Em baixa força iônica, elas são solúveis em larga faixa de pH, característica requerida para aplicações

alimentícias. Entretanto, sendo proteínas globulares, sua solubilidade decresce em altas concentrações de sal, devido ao fenômeno de "salting out," e são susceptíveis à desnaturação térmica em temperaturas maiores que 70°C. A solubilidade em pH 4,6 é largamente usada como índice de extensão de desnaturação causada pelo processamento e estocagem em produtos ricos em proteínas do soro. O nível de desnaturação e subsequente insolubilidade em pH 4,6 depende do tempo/temperatura de aquecimento, pH do soro e concentração de cálcio iônico (MULVIHILL, 1991).

A capacidade de formação de gel, a correta viscosidade, o poder emulsificante, a capacidade de retenção de água e a capacidade espumante estão entre as propriedades dos concentrados do soro de leite que os tornam úteis na elaboração de produtos com baixo teor de gorduras (DUXBURY, 1992; LUCCA; TEPPER, 1994; MORR, 1992).

O aumento da temperatura e o pH levam ao desdobramento parcial das moléculas dos concentrados protéicos de soro (WPC), deixando-as livres para associarem-se ou agregarem-se a outras moléculas. O pH, concentração de proteína e temperatura exercem um papel importante no tipo de estrutura que será formada durante a reação. Temperaturas moderadas (60-90°C) e baixos níveis de proteína (< 10%) favorecem a formação de moléculas pequenas que se ligam à água e aumentam a viscosidade de alimentos, dando corpo e melhorando a textura. Concentrações de WPC entre 10-12% e temperaturas de 70-90°C favorecem a formação de géis (LUCCA; TEPPER, 1994).

Substitutos de gordura à base de proteína têm aplicações limitadas a produtos que não serão submetidos a altas temperaturas ou aquecimento prolongado, por causar desnaturação e coagulação, que resulta na perda da cremosidade. Além disso, interagem com componentes do sabor, diminuindo-lhes a intensidade ou tornando-os desagradáveis (LUCCA; TEPPER, 1994).

O concentrado de proteína de soro (WPC) é obtido pelo processo de ultrafiltração e por um tratamento térmico que inicia a desnaturação das proteínas. A desnaturação térmica controlada tem como resultado o "desenovelamento" da proteína, expondo regiões hidrofóbicas da cadeia polipeptídica, e conferindo caráter anfifílico ou seja, a estrutura das proteínas é alterada "abrindo-se" e expondo as ligações químicas que estavam voltadas para o interior da molécula. A área exposta aumenta, possibilitando maior contato - e portanto maior interação - com outras proteínas, água, gorduras e ar. Ocorrem modificações a nível de ligações dissulfeto, favorecendo a interação proteína-proteína. O aumento do caráter anfifílico melhora a capacidade de emulsificação da proteína. A auto-agregação e desenovelamento da proteína aumenta

a interação com a água, o que melhora a textura de alimentos com baixo teor de gordura. Devido à formação de agregados protéicos, suas soluções ácidas ou neutras são opacas, o que confere aparência cremosa ao alimento. Por ser derivado do soro de leite, possui características de cor e sabor totalmente compatíveis com produtos lácteos, inclusive não interferindo na rotulagem, pois aparece como "concentrado protéico de soro de leite" (MOPPETT, 1993).

Os ingredientes disponíveis como substitutos de gorduras atuam como modificadores de textura para simular a sensação bucal de alimentos ricos em gorduras. A importância maior das proteínas como substitutos de gordura reside em sua habilidade de originar micropartículas. O tamanho da partícula, o volume de hidratação e as propriedades de superfície afetam a habilidade das proteínas de simular gorduras (LUCCA; TEPPER, 1994).

O tamanho das partículas é uma característica importante a ser considerada no contexto da textura. As proteínas quando aquecidas coagulam formando grandes partículas de gel, que conferem sensação rugosa à língua. Partículas menores que 0,1 μ m, tais como as micelas de caseína, apresentam-se gelatinosas à língua. Sendo maiores que 3,0 μ m conferem sensação pulverulenta ou arenosa (SUMMER KAMP; HESSER, 1990).

Proteínas de vários alimentos podem originar micropartículas, mas as mais utilizadas são as do leite e dos ovos. No processo de microparticulação, a proteína é aquecida à temperatura de pasteurização e simultaneamente homogeneizada. A mistura é rapidamente resfriada. Criam-se partículas redondas, uniformes, de aproximadamente 0,1 a 2,0 μ m de diâmetro. Este diâmetro pequeno é muito importante porque partículas menores que 3 mm em diâmetro são muito pequenas para serem distinguidas pela língua humana como partículas individuais. Em vez disso, elas são percebidas como um creme. Como a partícula é inferior ao limiar de percepção da língua, substitutos de gordura em que as proteínas são microparticuladas, têm a cremosidade normalmente associada à gordura e podem mascarar algum sabor residual, que é mais pronunciado em produtos com baixo teor de gordura. Os miméticos de gordura são considerados proteínas modificadas fisicamente e não devido a interações químicas. Como são mantidas sua sequência de aminoácidos e sua conformação tridimensional, sua integridade química é preservada assim como suas qualidades nutricionais. São classificadas como GRAS pelo FDA (LUCCA; TEPPER, 1994).

SALEM et al. (1987) estudaram os efeitos da adição de proteínas de soro desnaturadas em queijo processado com baixo teor de gordura e concluíram que as proteínas do soro desnaturadas melhoraram as qualidades sensoriais do produto.

SILVA; VAN DENDER (2002, 2004) desenvolveram a formulação e padronizaram a técnica de fabricação de requeijão cremoso light utilizando WPC 34% como substituto parcial de gordura e o produto obtido apresentou excelentes características sensoriais incluindo textura, consistência, formação de fios, brilho e sabor.

O uso de ingredientes derivados do soro na fabricação de queijos processados melhora as características de moldagem, laminação, fatiabilidade, untabilidade, potencializa as características de derretibilidade, produz boas propriedades de flavour e corpo, fornece proteínas de alta qualidade e cálcio. A Tabela 2 mostra alguns dos benefícios da utilização de produtos de soro em queijos processados (USDEC, 2002).

3. CONCLUSÕES

Apesar das diversas estratégias já disponíveis para obtenção e otimização da qualidade sensorial dos produtos lácteos com teor reduzido de gordura, com ênfase para os queijos light, ainda existem muitas oportunidades para o desenvolvimento de novos produtos para o consumidor preocupado com saúde e alimentação. Tais produtos podem ser versões, com teor reduzido de gordura ou sem gordura, de produtos tradicionais como também podem ser produtos novos, desvinculados de um padrão e que,

portanto, serão julgados e apreciados como tal. É o caso, por exemplo, de queijos light ou sem gordura, com adição de fibra alimentar, dando origem a produtos que apresentam ao mesmo tempo redução calórica e propriedades funcionais importantes para o funcionamento do organismo humano.

ABSTRACT

Despite growing consumer awareness about health and the potential benefits of a healthy diet, the demand for low- and reduced fat products has not increased in the same proportion, mainly as a result of restrictions as to the sensory quality characteristics of these food products compared to their full fat counterparts. To solve this problem, a series of different strategies have been explored with the objective of improving the overall sensory quality of "light" food products. In general, dairy products stand out as one of the most popular and promising options among the reduced fat food categories considered for inclusion in healthy diets, especially "light" cheese, a highly versatile food that allows for both direct consumption and numerous applications as a culinary ingredient. This study discusses the importance of no/low/reduced fat dairy products and provides a general overview of the most promising technologies developed to improve the flavor, texture and functional properties of

Tabela 2. Benefícios funcionais gerais do uso de produtos de soro em queijos processados. (USDEC, 2002)

PROPRIEDADE GERAL	IMPACTO ESPECÍFICO	IMPACTO ESPECÍFICO SOBRE QUEIJO PROCESSADO E PRODUTOS AFINS
Solubilidade	Textura lisa na maioria dos níveis de uso	Textura cremosa Reduz granulosidade
Solubilidade em ampla faixa de pH	Altamente solúvel em uma ampla faixa de pH	Formação de solúveis estáveis capazes de suportar a adição de ácidos
Retenção de água	Ligar e reter água	Confere corpo e textura
Viscosidade	Espessamento	Confere corpo e textura
Gelificação	Formação de gel durante o processamento a quente	Substituição da gordura do leite
Emulsificação	Formação de emulsões estáveis de gordura/óleo	Substituição de caseínas Evita a separação de óleo
Opacidade	Confere opacidade a alimentos com teor reduzido de gordura	Melhora cor e aparência
Flavour, aroma	Levemente lácteo ou neutro	Compatibilidade com outros "flavours" lácteos. Influencia pouco o "flavour" do produto final.
Nutrição	Contém aminoácidos de proteínas de alta qualidade e cálcio	Excelente para fins de enriquecimento

reduced fat cheeses. Within this general framework, this study discusses in more detail some of the modifications that can be made to traditional manufacturing technologies, the use of adjunct cultures and fat substitutes, with special emphasis on fat mimetics.

Key words: Reduced fat foods; adjunct cultures; fat mimetics; texture; manufacturing technology; sensory quality

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDERSON, D. L.; MISTRY, V. V.; BRANDSMA, R. L.; BALDWIN, K. A. Reduced fat Cheddar cheese from condensed milk. I. Manufacture, composition, and ripening. *Journal of Dairy Science*, Champaign, v. 76, n. 10, p. 2833-2844, 1993.

AQUINO, A. M. Rotulagem nutricional. In: SEMINÁRIO: NOVOS ASPECTOS DE LEGISLAÇÃO SOBRE ROTULAGEM DE ALIMENTOS. FUNCIONAIS, TRANSGÊNICOS, MEIO AMBIENTE E COMÉRCIO EXTERIOR, FUNCIONAIS, 2002, Campinas. ITAL, 2002, p. 1-14.

BANKS, J. M. The technology of low-fat cheese manufacture. *International Journal of Dairy Technology*, v. 57, nº 4, p. 199-207, Nov., 2004.

BARR, A. Consumer motivacional forces affecting the sale of light dairy products. *Food Technology*, Chicago, v. 44, n. 10, p. 97-98, 1990.

BUSS, D. D. Trimming the fact from fat replacer expectations. *Food Processing*, Chicago, v. 55, n. 2, p. 63, 65, 1993.

BRUHN, C. Consumer attitudes and market potencial for foods using fat substitutes. *Food Technology*, Chicago, v. 46, n. 4, p. 81-86, 1992.

BRYANT, C. M.; McCLEMENTS, D. J. Molecular basis of protein functionality with special consideration of cold-set gels derived from heat-denatured whey. *Trends in Food Science and Technology*, Cambridge, v. 9, n. 1, p. 143-151, 1998.

CALORIE Control Council seeks improved petition process. *Food Chemical News*, Washington, v. 35, n. 45, p. 54-56, 1994.

CÂNDIDO, L. M. B.; CAMPOS, A. M. Alimentos para fins especiais dietéticos. São Paulo, Livraria Varela, 1996. 423p.

CLARK, D. Fat replacers and fat substitutes. *Food Technology*, Chicago, v. 48, n. 12, p. 86, 1994.

DRAKE, M. A.; SWANSON, B. G. Reduced and low fat cheese technology: A review. *Trends in Food Science & Technology*, Cambridge, v. 6, n. 11, p. 366-369, 1995.

DUXBURY, D. D. (Ed.). Emulsifiers alter fat functionalities. *Food Processing*, Chicago, v. 53, n.5, p. 86-88, 1992.

FERNÁNDES, L.; STEELE, J. L. Glutathione content of lactic acid bacteria. *Journal of Dairy Science*, Champaign, v. 76, n. 5, p. 1233-1242, 1993.

GELARDI, R. C. A bright future for light? *Food Processing*, Chicago, v. 54, n. 11, p. 133-134, 1993.

HARGROVE, R. E.; McDONOUGH, F. E.; TITSLER, R. P. New type of ripened low-fat cheese. *Journal of Dairy Science*, Champaign, v. 49, n. 7, p. 796-799, 1966.

JONES, J. M. Nutritional impact of replacing dietary fat. *Cereal Foods World*, St. Paul, v. 37, n.6, p. 454, 1992.

KINSELLA, J. E. Milk Proteins: physico-chemical and functional properties. *CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, Washington, v. 21, p. 197-262, 1984.

KINSELLA, J. E.; WHITEHEAD, D. M.; BRADY, J.; BRINGE, N. A. Milk Proteins: possible relationships of structure and function. In: FOX, P. F. (Ed.). *Developments in Dairy Chemistry - Functional Milk Proteins*. New York: Elsevier Applied Science, 1988. v. 4. chap. 2, p. 55-95.

LUCCA, P. A.; TEPPER, B. J. Fat replacers and the functionality of fat in foods. *Trends in Food Science and Technology*, Cambridge, v. 5, n. 1, p. 12-19, 1994..

MERMELSTEIN, N. H. Nutrition labeling. Regulatory update. *Food Technology*, Chicago, v. 48, n. 7, p. 62-71, 1994.

MERRILL, R. K.; OBERG, C. J.; McMAHON, D. J. A method for manufacturing reduced fat Mozzarella cheese. *Journal of Dairy Science*, Champaign, v. 77, n. 7, p. 1783-1789, 1994.

MCGREGOR, J. U.; WHITE, C. H. Effect of enzyme treatment and ultrafiltration on the quality of low fat Cheddar cheese. *Journal of Dairy Science*, Champaign, v. 73, n. 3, p. 571-579, 1990.

METZGER, L. E.; MISTRY, V. V. A new approach using homogenization of cream in the

manufacture of reduced fat Cheddar cheese. I. Manufacture, composition, and yield. *Journal of Dairy Science*, Champaign, v. 77, n. 12, p. 3507-3515, 1994.

MISTRY, V. V. Low fat fermented milk products. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 13., 2002, Porto Alegre. *Anais...* Porto Alegre, 2002.

MODLER, H. W. Funcional properties of nonfat dairy ingredients-a review. Modification of lactose and products containing whey proteins. *Journal of Food Science*, Chicago, v. 68, n. 9, p. 2206-2214, 1985.

MOPPET, F. H. Whey protein-based ingredients has application in low- and non-fat dairy products. *Food Technology*, Chicago, v. 47, n. 6, p. 204, 1993.

MORR, C. V. Improving the texture and functionality of whey protein concentrate. *Food Technology*, Chicago, v. 46, n. 1, p. 110-113, 1992.

MORR, C. V. Functionality of whey protein products. *New Zealand Journal of Dairy Science and Technology*, Palmerston North, v. 14, p. 185-194, 1979.

MULVIHILL, D. M. Trends in the production & utilization of dairy protein products: functional properties & utilization. *Food Research Quarterly*, Cork, v. 51, n. 1/2, p. 65-73, 1991.

PEARCE, R. J. Food functionality: success or failure for dairy based ingredients. *Australian Journal of Dairy Technology*, Victoria, v. 50, n. 1, p. 15-23, 1995.

ROLLER, S.; JONES, S. A. *Handbook of fat replacers*, Florida, CRC Press, 1996.

SALEM, S. A.; SALAM, A. E.; GOODA, E. Improvement of chemical, rheological and organoleptic properties for local low fat processed cheese. *Egyptian Journal of Dairy Science*, Alexandria, v. 15, n. 2, p. 263-271, 1987.

SETSER, C.; RACETTE, W. Macromolecule replacers in food products. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, Boca Raton, v. 32, n. 3, p. 275-297, 1992.

SILVA, A T.; VAN DENDER. Utilização de concentrado protéico de soro na fabricação de requeijão cremoso com teor reduzido de gordura. *Anais do XVIII Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Porto Alegre - RS - Brasil, p. 3051-3054 (Cd Rom), 2002.

SILVA, A T.; VAN DENDER, A G. F. Utilization of Whey Protein Concentrate in the manufacture of Requeijão cremoso with reduced fat content. In: *Symposium Proceedings of the 4th International Symposium on Recombined Milk and Milk Products*. 2004, Cancun, Mexico, May 9-12, 2004, p.231.

SUMMER KAMP, B.; HESSER, M. Fat substitutes update. *Food Technology*, Chicago, v. 44, n. 3, p. 92-97, 1990.

THOMPSON, M. S. Issues associated with the use and regulation of fat substitutes. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, Boca Raton, v. 32, n. 2, p. 123-126, 1992.

TUNICK, M. H. et al. Proteolysis and reology of low fat and full fat mozzarella- cheeses prepared from homogenized milk. *Journal of Dairy Science*, Champaign, v. 76, n. 12, p. 3621-3629, 1993.

U. S. DAIRY EXPORT COUNCIL - USDEC. *Ingredients News*, São Paulo, v. 4, n. 3, fev., 2002.

ILCT

CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS E SENSORIAIS DE REQUEIJÃO CULINÁRIO ADICIONADO DE GOMA XANTANA COM APLICAÇÃO EM PRODUTOS PRONTOS PARA O CONSUMO

Juliana Franco¹
João Vitor Zinnermann²
Priscila Possik¹
Patricia Taha³
Evanilda Texeira⁴
Marilde T. Bordignon Luiz^{4*}

RESUMO

Requeijão culinário foi elaborado utilizando como substitutos de gordura a goma xantana e concentrado protéico do soro lácteo. Três diferentes formulações foram utilizadas para a avaliação sensorial: formulação A (15% de creme de leite, 1% de goma xantana e 2% de concentrado protéico), formulação B (17,5% de creme de leite, 1% de goma xantana e 2% de concentrado protéico) e formulação C (20% de creme de leite, 1% de goma xantana e 2% de concentrado protéico). O resultado do Teste de Comparação Múltipla mostrou que as formulações A e C obtiveram as melhores notas. A avaliação sensorial das formulações de requeijão culinário mostrou um índice de aceitabilidade superior a 70%, indicando boa aceitabilidade. A análise físico-química das formulações A e C quando comparadas ao padrão mostrou que houve redução significativa no teor de lipídios 28,56 e 41,00%, respectivamente e o valor energético das formulações apresentou redução de 24,10 e 35,94%, respectivamente. A formulação C apresentou redução de 49,57% no teor de gordura saturada quando comparada com a formulação do requeijão comercial tradicional. O teste de derretimento mostrou que o congelamento e o descongelamento não afetaram a estabilidade das formulações desenvolvidas. Os resultados obtidos mostraram que as formulações testadas utilizando goma xantana e concentrado protéico do soro de queijo em substituição ao creme de leite na elaboração de requeijão culinário mantiveram características sensoriais similares do produto tradicional.

Palavras-chave: Requeijão culinário, goma xantana, produtos light, derretimento.

1. INTRODUÇÃO

As mudanças nos hábitos alimentares, decorrentes principalmente das necessidades da vida moderna e alterações no sistema social, fizeram com que as refeições fora do lar tivessem um aumento significativo na última década. Observa-se que a alimentação tornou-se um ótimo mercado de consumo, isto se deve à industrialização e à distribuição de alimentos em grande escala. Como conseqüências temos o elevado consumo de gordura e baixa ingestão de frutas e hortaliças. Assim, tornou-se cada vez mais difícil realizar refeições nutricionalmente equilibradas (CINTRA et al., 2001).

A ingestão excessiva de gordura dietética está relacionada ao alto risco de doenças coronarianas e inúmeras formas de câncer. O maior problema de saúde pública no Brasil é a obesidade e grande percentual dessa população desenvolve-a na infância. Mundialmente segundo

a Organização Mundial da Saúde a obesidade é uma grande epidemia.

Uma dieta adequada deve incluir alimentos que reduzam a densidade energética da mesma, sem promoção do consumo alimentar. Assim, a substituição de lipídios é uma conduta favorável para redução do valor energético da dieta, além de influenciar substancialmente os níveis de saciedade do indivíduo (ROSADO e MONTEIRO, 2001).

Alimentos com baixo teor de gordura e valor calórico reduzido desempenham um papel importante na manutenção do peso corporal e na promoção da saúde (WYLIE-ROSETT, 2002). Como exemplo destes alimentos encontramos o leite e seus derivados com baixo teor de gordura.

O requeijão possui elevado consumo e grande valor comercial, com um aumento de 5 a 10% na produção anual no período de 1995 a 2000. No Brasil, em 1992, foram comercializadas 9.836 toneladas de requeijão cremoso e em 2001

- 1 Aluna do curso de pós-graduação em Ciência dos Alimentos.
- 2 Aluno de Iniciação Científica PIBIC/CNPq.
- 3 Farmacêutica - Tecnóloga de Alimentos.
- 4 Prof. Dr.º do Programa de Pós-graduação em Ciência dos Alimentos CAL/CCA/UFSC.
- *4 A quem a correspondência deve ser enviada bordignon@cca.ufsc.br

este valor passou para 28.035 toneladas, representando um aumento de 185% na produção num período de 10 anos (PRODUÇÃO, 2002).

Uma alternativa tecnológica importante para o requeijão é a fabricação de produtos com teor de gordura reduzido, pois a procura por este tipo de produto tem aumentado cada vez mais (VAN DENDER, 2001). Em requeijão podem ser utilizados hidrocolóides e/ou concentrados protéicos de soro como substitutos de gordura, dentre eles a goma xantana (RABÊLO et. al., 2002).

A goma xantana é um polissacarídeo microbiano estável a temperatura entre 0° e 100°C e a valores de pH entre 1 e 13, a ciclo de gelo-degelo e ao cisalhamento prolongado, sem a ocorrência de sinerese (MARCOTTE et al., 2001). É solúvel em água quente e fria e é estabilizada pelo sal (BRYANT e MCCLEMENTS, 2000).

O objetivo deste trabalho foi elaborar requeijão culinário utilizando goma xantana e concentrado protéico do soro como substitutos parciais do creme de leite, avaliar as características físico-químicas do requeijão e sensoriais em produtos elaborados com requeijão prontos para o consumo como massas e pizzas, e a influência do congelamento e descongelamento no derretimento.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Material

Para a fabricação do requeijão culinário com goma xantana foi utilizado leite pasteurizado tipo C, fermento láctico DVS cultura tipo O (C. Hansen ®), coelho líquido (Bela Vista ®), creme de leite, citrato de sódio, cloreto de cálcio anidro, goma xantana (Rhodia ®), concentrado protéico de soro (AMP-8000-PROLIANT ®) e cloreto de sódio. Para as análises físico-químicas foram utilizados reagentes de qualidade analítica p.a.

2.2 Métodos

2.2.1 Elaboração do requeijão culinário

A elaboração da massa fermentada, matéria-prima para a produção do requeijão e as formulações de requeijão culinário foram produzidas adaptando-se as metodologias propostas por MUNK (1997) e RODRIGUES (2001), utilizando tacho aberto com aquecimento indireto, conforme descrito na Figura 01.

2.2.2 Comparação das formulações selecionadas com a formulação padrão

Foram realizados testes preliminares usando-se a técnica de fabricação de requeijão

tradicional (que utiliza 100% de adição de creme de leite em relação ao peso da massa fermentada), avaliando-se: sabor, aparência, corpo, textura e derretimento adequados. Destes testes preliminares foram selecionadas as 3 melhores formulações, ou seja: formulação A (15% de creme de leite, 1 % de goma xantana e 2% de concentrado protéico); formulação B (17,5% de creme de leite, 1 % de goma xantana e 2% de concentrado protéico) e formulação C (20% de creme de leite, 1% de goma xantana e 2% de concentrado protéico).

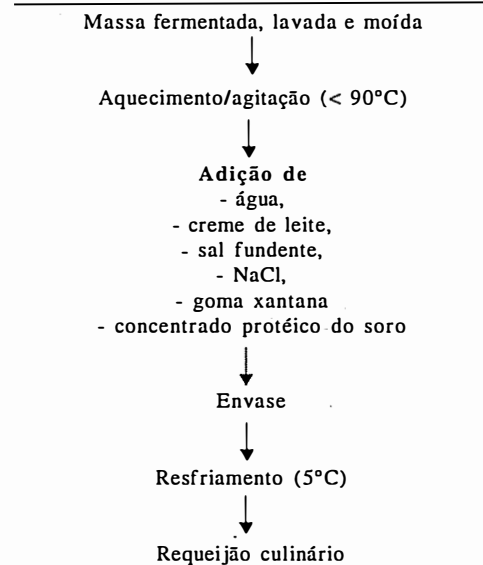


Figura 1 Fluxograma de elaboração de requeijão culinário com goma xantana.

Estas três formulações foram submetidas ao Teste de Comparação Múltipla, onde foram julgadas por uma equipe sensorial treinada do Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos (UFSC), composta por 6 julgadores, em 4 sessões de avaliação. Foi apresentada uma amostra padrão P (requeijão comercial light) e outras quatro codificadas utilizando-se 3 dígitos da tabela de números aleatórios (TEIXEIRA, MEINERT e BARBETA, 1987), sendo uma delas igual ao padrão. Para este teste as notas mais próximas de 9 são consideradas as melhores e as mais próximas de 5 são consideradas iguais ao padrão.

As amostras foram colocadas sobre massas para canapé tipo mini-pizza, e congeladas a temperatura de $18 \pm 2^\circ\text{C}$ e armazenadas durante 60 dias. As amostras congeladas foram levadas diretamente ao forno à temperatura de $250 \pm 8^\circ\text{C}$ e, imediatamente servidas após o derretimento. Foi oferecido água mineral a temperatura ambiente para enxágue da boca dos julgadores entre uma amostra e outra.

A análise estatística foi feita através do programa SAS System, versão 8.1. Quando se detectou diferença significativa entre as médias utilizou-se o teste de Dunnett para comparar as médias ao nível de 5% de significância. Este teste permite a comparação dos tratamentos com um padrão preestabelecido (Montgomery, 1996).

2.2.3 Aceitabilidade das formulações de requeijão culinário em alimentos prontos para o consumo

As formulações selecionadas no item 2.2.2 foram submetidas ao Teste da Escala Hedônica de 9 pontos (1 = desgostei muitíssimo e 9 = gostei muitíssimo) com 46 julgadores não treinados da comunidade universitária. Estas foram testadas em preparações culinárias em três etapas, observando que para avaliar a aceitabilidade é recomendável testar as formulações na forma que são apresentadas aos consumidores. Na primeira etapa as formulações de requeijão foram testadas como recheio em massas de croissant aquecidas em forno elétrico. Na segunda etapa as formulações foram testadas (gratinadas) como cobertura em macarrão tipo pene e na terceira etapa, como cobertura em massa para canapé tipo mini-pizza.

Para interpretação dos resultados foi utilizada análise de variância (ANOVA) utilizando-se o teste de Tukey para verificação de diferenças ao nível de 5% de probabilidade, através do programa STATÍSTICA versão 5.1.

Para avaliar a frequência de consumo de alimentos light (incluindo requeijão) foi aplicado um questionário nas três etapas do Teste de Escala Hedônica. Foram tabulados os resultados de 46 questionários.

2.2.4 Composição físico-química

As análises físico-químicas do requeijão comercial tradicional, do requeijão comercial light e das duas melhores formulações selecionadas na análise sensorial, foram realizadas em triplicata e foram determinadas conforme os métodos descritos: umidade, proteínas, utilizando 6,38 como fator de conversão e cinzas (AOAC, 1999); lipídios: (AOAC, 1984); fibra bruta (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 1985) e carboidratos por diferença de acordo (BRASIL, 2001). O valor calórico total foi calculado multiplicando-se os valores em gramas de proteínas, carboidratos e lipídios por 4, 4 e 9, respectivamente e somando os resultados, de acordo com a resolução RDC nº 360 de 26/12/2003 (BRASIL, 2003). As determinações de gorduras saturadas e insaturadas foram realizadas em cromatógrafo a gás modelo CG17A marca Shimadzu, utilizando o método 99.606 (AOAC, 1999).

A análise estatística foi realizada utilizando-se o software STATISTICA versão 5.1 (1998). Testou-se a hipótese de existir diferença entre as médias através da Análise de Variância (ANOVA) e, quando se detectou diferença, comparou-se às médias pelo teste de Tukey.

2.2.5 Testes de Derretimento

Para a determinação da porcentagem de derretimento foi utilizado o método de Schreiber para queijo mussarela modificado de acordo com YUN (1993) e CORTEZ et. al., (1999). Amostras de requeijão (2g) selecionadas na análise sensorial foram transferidas para placas de Petri as quais apresentavam o centro determinado por uma circunferência e seus quatro quadrantes delimitados por uma escala milimétrica. Estas foram congeladas em freezer doméstico ($-18 \pm 2^\circ\text{C}$) e as análises foram realizadas após 15, 21 e 28 dias.

As amostras foram retiradas do freezer e mantidas a temperatura ambiente ($25^\circ\text{C} \pm 1$) por 15 minutos e posteriormente colocadas em estufa marca Quimis ($120 \pm 8^\circ\text{C}$) por 12 minutos.

O percentual de derretimento obtido pela variação do diâmetro foi determinado a partir das medições em quatro diferentes pontos, definidos por quatro diâmetros traçados nas placas, calculando-se a porcentagem do derretimento do diâmetro antes e depois do aquecimento.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Comparação dos requeijões formulados com o requeijão comercial light

As notas médias, máximas e mínimas atribuídas às amostras de requeijão servidas sobre massa de canapé tipo mini-pizza no teste de comparação múltipla estão apresentadas na Tabela 1, onde as formulações B (17,5% de creme de leite, 1% de goma xantana e 2% de concentrado protéico) e C (20% de creme de leite, 1% de goma xantana e 2% de concentrado protéico) apresentaram diferença significativa ($p \leq 0,05$) quando comparadas ao padrão pelo teste de Dunnett. Porém a formulação A (15% de creme de leite, 1% de goma xantana e 2% de concentrado protéico) não apresentou diferença significativa quando comparada com o padrão.

3.2 Aceitabilidade das formulações de requeijão culinário em alimentos prontos para o consumo

Foram selecionadas a partir dos resultados dos testes de comparação múltipla as formulações

que obtiveram as melhores médias para serem submetidas ao teste de aceitabilidade.

Os resultados da análise sensorial das formulações A e C de requeijão servidos em 3 produtos (*croissant*) recheado com requeijão, macarrão e massa para canapé com cobertura de requeijão) estão descritos na Tabela 2.

As médias das notas obtidas não apresentaram diferenças significativas nos testes realizados utilizando as formulações em *croissant* e macarrão tipo pene.

Já nos testes realizados em canapés, detectou-se diferença significativa entre as Formulações A e C ($p \leq 0,05$). Isto provavelmente ocorreu porque no canapé o requeijão se comporta como uma cobertura sendo mais fácil a percepção das diferentes formulações, especialmente em relação a cor.

Tabela 1 Notas médias, máxima e mínima das formulações A, B, C e amostra padrão (requeijão comercial light) servidas em massa de canapé tipo mini pizza obtidas no teste de comparação múltipla.

TRATAMENTO	Nota média	Nota mínima	Nota máxima
Padrão Light	4,97 ± 0,11	4,0	6,0
Formulação A ¹	4,13 ± 0,13	2,0	7,0
Formulação B ²	3,83 ± 0,18*	2,0	8,0
Formulação C ³	3,88 ± 0,21*	1,0	8,0

* Apresentam diferença significativa ($p \leq 0,05$) do padrão pelo teste de *Dunnnett*.

¹ formulação A (15% de creme de leite, 1% de goma xantana e 2% de concentrado protéico)

² formulação B (17,5% de creme de leite, 1% de goma xantana e 2% de concentrado protéico)

³ formulação C (20% de creme de leite, 1% de goma xantana e 2% de concentrado protéico)

Tabela 2. Análise sensorial das formulações de requeijão FA e FC servidas em *croissant*, macarrão e canapé elaborados com as formulações de requeijão culinário.

Notas	Amostras					
	Número de Julgadores					
	<i>Croissant</i>		Macarrão		Canapé	
	FA	FC	FA	FC	FA	FC
1	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0	0
4	0	1	0	1	0	1
5	2	1	0	1	0	0
6	7	4	6	4	2	4
7	5	7	7	4	3	5
8	8	8	5	8	11	11
9	4	5	2	2	7	2
Total de Julgadores	26	26	20	20	23	23
Médias das Notas*	7,19±0,12	7,34±0,14	7,15±0,10	7,15±0,13	8,00±0,15	7,35±0,12

FA (15% de creme de leite, 1% de goma xantana e 2% de concentrado protéico)

FC (17,5% de creme de leite, 1% de goma xantana e 2% de concentrado protéico)

* Médias seguidas de letras distintas para cada produto, diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

O índice de aceitabilidade dos três produtos testado pode ser visualizado na Figura 2.

Os canapés, *croissants* e o macarrão tipo pene elaborados com as duas formulações de requeijão culinário apresentaram índices de aceitabilidade superiores a 70%, indicando boa aceitabilidade dos produtos.

A avaliação dos questionários aplicados aos julgadores mostrou que 69,6% consomem produtos light. Destes, 26,5% consomem todos os dias e 14,6% consomem de 3 a 5 vezes na semana. Em relação ao consumo de requeijão, 97,8% consome este produto, dos quais, 46,7% na sua forma tradicional, 31,1% na forma light e 22,2% consomem ambos. A frequência média de consumo de requeijão dos participantes foi de duas a três vezes por semana. Do total de entrevistados 100% consome massas. Os recheios de massas

preferidos são quatro queijos (19,5%), bolognesa (14,3%), frango (9%) e frango e requeijão (7,5%).

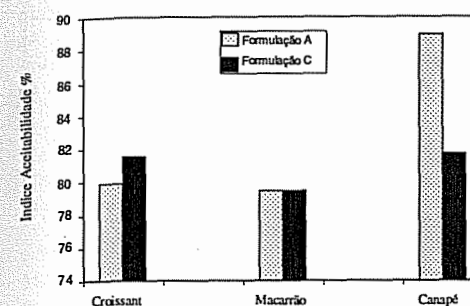


Figura 2 Índice de aceitabilidade das formulações de requeijão A (15% de creme de leite, 1% de goma xantana e 2% de concentrado protéico) e C (20% de creme de leite, 1% de goma xantana e 2% de concentrado protéico) servidas em *croissant*, macarrão e canapé testados sensorialmente.

3.3 Composição físico-química

A análise estatística dos dados apresentados na Tabela 3 constatou que os quatro tipos de requeijão culinário são diferentes quanto aos valores de umidade, RMF, proteína, EST, valor calórico e GES. A formulação C apresentou umidade 6,4% maior que comercial light.

Os valores de umidade estão de acordo com os valores obtidos por RABELO et al. (2002), que

observaram um percentual de 74,89%, na avaliação do requeijão cremoso light. Observou-se que a formulação A em que o percentual de creme de leite adicionado foi menor os substitutos de gordura utilizados apresentaram maior habilidade em reter água.

Avaliando-se os valores de RMF, mesmo mostrando diferença significativa entre todas as amostras analisadas, observa-se que os resultados das formulações e da amostra tradicional comercial são próximos.

Os resultados da concentração de proteínas para todas as amostras analisadas diferiram estatisticamente. Os maiores valores foram observados para o requeijão comercial light, que utilizou em sua formulação como substituto de gordura somente o concentrado protéico do soro. Os valores obtidos para as formulações A e C foram menores do que o comercial light, pois estas foram formuladas utilizando como substitutos de gordura a goma xantana e o concentrado protéico do soro lácteo.

Os valores de carboidratos não diferiram estatisticamente para as formulações A, formulação C e requeijão comercial tradicional, a amostra de requeijão comercial light apresentou maior concentração pois com a adição do concentrado protéico do soro, rico em lactose pode ocorrer um aumento do teor de carboidratos.

A análise estatística não detectou diferença significativa quanto ao teor de lipídios quando comparados as formulações C e requeijão comercial light. Quando comparamos as formulações A e C com o requeijão comercial tradicional observamos uma redução de 28,56% e 41,00%, respectivamente. Observa-se que a redução do percentual lipídico não influenciou a aceitabilidade das formulações, o índice

Tabela 3. Determinação físico-química das formulações A (15% de creme de leite, 1% de goma xantana e 2% de concentrado protéico); formulação C (20% de creme de leite, 1% de goma xantana e 2% de concentrado protéico), requeijão comercial light e requeijão comercial tradicional.

ANÁLISES	Formulação A	Formulação C	Requeijão comercial Light	Requeijão comercial tradicional
Umidade (g/100g)	76,42 ± 0,12 ^a	72,84 ± 0,04 ^b	71,55 ± 0,06 ^c	65,88 ± 0,11 ^d
RMF (g/100g)	1,20 ± 0,01 ^a	1,26 ± 0,17 ^b	1,75 ± 0,01 ^c	1,33 ± 0,00 ^d
Gordura (g/100g)	12,99 ± 0,12 ^a	15,73 ± 0,11 ^b	12,69 ± 0,08 ^b	22,02 ± 0,06 ^c
Proteína (g/100g)	8,45 ± 0,01 ^a	9,17 ± 0,15 ^b	11,85 ± 0,07 ^c	9,94 ± 0,00 ^d
Carboidrato	0,98 ± 0,29 ^a	0,98 ± 0,08 ^a	2,12 ± 0,17 ^b	0,85 ± 0,09 ^a
EST	23,61 ± 0,16 ^a	27,14 ± 0,04 ^b	28,42 ± 0,02 ^c	34,13 ± 0,16 ^d
Valor calórico	154,55 ± 0,05 ^a	183,11 ± 2,11 ^b	170,09 ± 0,37 ^c	241,28 ± 0,94 ^d
GES	55,01 ± 0,89 ^a	57,94 ± 0,30 ^b	44,66 ± 0,33 ^c	64,50 ± 0,10 ^d

* Resultado médio de três repetições

^{a, b, c, d} Médias seguidas com a mesma letra não diferem significativamente a 5% de probabilidade

RMF = resíduo mineral fixo

EST = extrato seco total

GES = gordura no extrato seco

EFAMIG - CTILCT
BIBLIOTECA

de aceitabilidade das amostras superior a 70% indicou uma boa aceitabilidade dos produtos. Estes dados estão de acordo com a literatura que relata sobre a eficácia da goma xantana e concentrado protéico do soro como substitutos de gordura sem diminuição da qualidade sensorial.

O valor energético das amostras formuladas quando comparadas com o padrão apresentou uma redução de 24,10% para a formulação A e 35,94% para a formulação C. Segundo a Portaria n° 29, de 13 de janeiro de 1998, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (BRASIL, 1998), que aprova o regulamento técnico para fixação de identidade e qualidade de alimentos para fins especiais, um alimento pode ser caracterizado como *light* quando apresentar uma diferença relativa mínima de 25%, no valor energético ou conteúdo de nutrientes dos alimentos comparados. As formulações A e C apresentaram reduções de 28,56% e 41,00% quanto ao teor de lipídeo. Assim a formulação C pode ser caracterizada como *light* quanto ao valor energético, já as formulações A e C podem ser consideradas *light* somente quanto ao teor de lipídios.

Os valores obtidos de gorduras saturadas e insaturadas estão listados na Tabela 4. Observou-se uma redução de 49,57% do valor de gordura saturada quando comparadas a formulação C e a formulação de requeijão comercial tradicional. Estes dados são significativos pois como os produtos lácteos são alimentos com alto teor de ácidos graxos saturados busca-se através da elaboração de novos produtos a redução dos mesmos, o que vem a contribuir na diminuição dos riscos potenciais de doenças coronarianas e diabetes tipo 2 (MANN, 2002).

3.4 Testes de derretimento

O percentual de derretimento das amostras de requeijão (formulação A, formulação C, tradicional comercial e *light* comercial) variou de 1,2% a 3,9%, conforme mostra a Figura 3, durante o período de estocagem (15 a 30 dias), à $-18 \pm 2^\circ\text{C}$ demonstrando que não houveram variações relevantes nos valores obtidos.

Tabela 4. Valores de gorduras saturadas e insaturadas das Formulações A (15% de creme de leite, 1 % de goma xantana e 2% de concentrado protéico); C (20% de creme de leite, 1% de goma xantana e 2% de concentrado protéico), requeijão comercial *light* e requeijão comercial tradicional.

ANÁLISES	Formulação A	Formulação C	Requeijão comercial Light	Requeijão comercial tradicional
Gorduras saturadas (g/100g)	9,23	7,10	8,38	14,08
Gorduras insaturadas (g/100g)	5,8	4,4	4,32	7,92

Estes dados estão de acordo com os de APOSTOLOPOULOS e MARSHALL (1991) *opud* APOSTOLOPOULOS et al., (1994) que demonstraram que o congelamento e o descongelamento não afetam significativamente o derretimento. As amostras não apresentaram sinerese no descongelamento e não houve diferenças relevantes na aparência das mesmas.

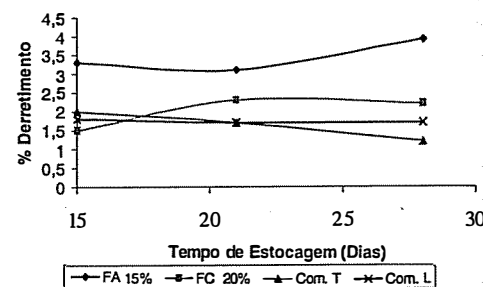


Figura 3. Percentual de derretimento observado nas amostras de requeijão Formulações FA (15% de creme de leite, 1 % de goma xantana e 2% de concentrado protéico); FC (20% de creme de leite, 1% de goma xantana e 2% de concentrado protéico), requeijão comercial *light* e requeijão comercial tradicional após 15, 20, 25, 30, dias de estocagem a $-18 \pm 2^\circ\text{C}$.

4. CONCLUSÃO

A substituição de 80 a 85% do creme de leite adicionado à massa fermentada por goma xantana e concentrado protéico do soro lácteo na elaboração de requeijão culinário promoveu uma redução de 28,56 e 41,00% no teor de lipídeos; 24,10 e 35,94% do valor energético e 34,44 e 49,57% no teor de gordura saturada, resultando num produto com um índice de aceitabilidade superior a 70%, podendo assim ser uma nova alternativa para elaboração de requeijão.

5. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMIST – AOAC. Official Methods of Analysis of the Association Analytical Chemists. Washington: AOAC International Method, 14 ed., 1999.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMIST – AOAC. Official Methods of Analysis of the Association Analytical Chemists. Washington: AOAC International Method, 16 ed., 1984.

APOSTOLOPOULOS, C., BINES, V.E., MARSHALL, R.J. Effect of post-cheddaring manufacturing parameters on meltability and free oil of mozzarella cheese. *Journal of the Society of Dairy Technology*, London, v. 47, n. 3, p. 84-87, 1994.

BRASIL. Ministério da Saúde. ANVISA (Agência Nacional da Vigilância Sanitária). Regulamento Técnico sobre rotulagem nutricional de alimentos embalados. Resolução RDC n° 360 de 26/12/2003. Diário Oficial da República Federativa do Brasil. Brasília, 2003.

BRASIL. Ministério da Saúde. ANVISA (Agência Nacional da Vigilância Sanitária). Aprova o Regulamento Técnico referente a Alimentos para Fins Especiais. RDC n° 29 de 13/01/1998. Diário Oficial da República Federativa do Brasil. Brasília, 1998.

BRYANT, C. M. and MCCLEMENTS, D. J. Influence of xanthan gum on physical characteristics of heat-denatured whey protein solutions and gels, *Food Hydrocolloids*, Volume 14, Issue 4, July 2000, Pages 383-390.

CINTRA, I.P., OLIVEIRA, C.L., FISBERG, M. Obesidade na infância e na adolescência. *Revista Nutrição em Pauta*. n. 50, p. 10-12. 2001.

CORTEZ, M.A. S.; FURTADO, M.M.; MOSQUIM, M.C.A.V.; MARTINS, J.M. Métodos de avaliação da qualidade das propriedades funcionais do queijo mussarela. Anais do XVI Congresso Nacional de Laticínios. Revista do Instituto de Laticínios "Cândido Tostes", n° 309, v. 54. Juiz de Fora, jul/ago de 1999.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Normas Analíticas. São Paulo, 3 ed., 1985.

MARCOTTE, M., HASHAHILI, A.R.T., ROMASWAMY, H.S. Rheological properties of

selected hydrocolloids as a function of concentration and temperature. *Food Research International*. n. 34, p. 695-703, 2001.

MONTGOMERY, D. Design and Analysis of Experiments. EUA, 704 p, 1996.

MUNK, A.V. Produção de queijos - módulo V: queijo fundido e requeijão. Viçosa, 1997. (Manual técnico e vídeo elaborados pelo Centro de Produções Técnicas e Centro de Ensino e Pesquisa do Instituto de Laticínios Cândido Tostes – EPAMIG).

PRODUÇÃO no Brasil de produtos lácteos em estabelecimentos sob inspeção federal, São Paulo. 2002. Associação Brasileira das Indústrias de Queijo. Disponível em: <<http://www.abiq.com.br>> Acesso em 27 jan. 2003.

RABÊLO, A. M.S.; RABÊLO, D.S., MOURA, C.J. et al. Avaliação das características físico-químicas e viscosidade de requeijão cremoso tradicional e *light* comercializados em Goiânia, GO. Anais do XIX Congresso Nacional de Laticínios. Revista do Instituto de Laticínios "Cândido Tostes". n. 327, v. 57, p. 242-245, jul/ago de 2002.

RODRIGUES, F. Requeijão culinário – desenvolvimento de formulação padrão. Anais do XVIII Congresso Nacional de Laticínios. Revista do Instituto de Laticínios "Cândido Tostes". n. 321, v. 56, p. 330-333, jul / ago de 2001.

ROSADO, E.L.; MONTEIRO, J.B.R. Obesidade e substituição de macronutrientes da dieta. *Revista de Nutrição*, Campinas, n. 14, v. 2, mai/ago, 2001.

TEIXEIRA, E.; MEINERT, E.M.; BARBETTA, P. A. Análise Sensorial de Alimentos. Florianópolis: Editora da UFSC, 180 p, 1987.

VAN DENDER, A .G.F. Fabricação de queijos fundidos e de requeijão cremoso: princípios básicos, definição, tipos e aspectos legais. In: VAN DENDER, A. G.F.; MORENO, I.; VIEIRA, M.C.; VIALTA, A.; GRAEL, E.T. Requeijão cremoso e outros queijos fundidos: aspectos de qualidade, processamento, rotulagem, legislação e mercado. Campinas, ITAL, cap. 1, p. 1-11. 2001.

WYLIE – ROSSET, J. Fat substitutes and health. *Circulation*, n. 105, p. 2800-2804, 2002.

YUN, J.J.; KIELY, L.J.; KINDESTEDT, P.S.; BARBANO, D.M. Mozzarella cheese: impact of coagulant type on functional properties. *Journal of Dairy Science*, Champaign, v. 76, n. 12, p. 3657-3663, 1993.



DISTRIBUIDOR DOS PRODUTOS

DANISCO
First you add knowledge...

 **norpacific**

A nova campanha da Fermentech valoriza o leite, que representa o amor e a vida, por ser materno e alimento base de todo ser humano. Além disso, é do leite que surgem vários derivados que utilizam produtos carinhosamente comercializados por nós.

Nesse sentido, temos o prazer de anunciar a ampliação do nosso portfólio de produtos, em função da consolidação de uma forte parceria com a DANISCO, líder mundial no desenvolvimento e produção de insumos para a indústria alimentícia, inclusive com as linhas de cultura TEXEL®, além dos estabilizantes da linha de MEYPROGEN®.

Comercializamos todas as linhas de culturas (CHOOZIT™, YO-MIX™, PROBAT™ e HOLDBAC™), estabilizantes da linha RECODAN™ e GRINDSTED® e a linha de bioprotetores NATAMAX™, Nisaplin®, Novasin™, GUARDIAN™, e AROMAS, dentre outros.

Consulte também nossa linha adicional o fumígeno e fungicida FUMISPORE™ da NORPACIFIC, COALHO, CLORETO DE CÁLCIO, CORANTES e outros.

 **fermentech**

Central de Atendimento

11 6193 4900 | www.fermentech.com.br

COMPORTAMENTO DO LEITE DE BÚFALA (*BUBALUS BUBALIS*) DESNATADO SUBMETIDO A MICROFILTRAÇÃO

Elane S. Prudêncio^{1*}
Renata B. Magenis²
Maria da Conceição L. de Oliveira²
Leila D. Falcão³
Michel Mahaut⁴
Antônio J. S. Hamad⁵

RESUMO

A aplicação da filtração tangencial ao leite bubalino não ocorre com a mesma frequência como para o leite bovino. O presente trabalho retrata o tratamento de leite de búfala desnatado e microfiltrado. Partindo-se do que a literatura propõe como parâmetros da dinâmica de microfiltração (MF) para o leite bovino, foram determinadas inicialmente a vazão (Q), a pressão de entrada (P_e) e de saída (P_s), a temperatura (T), a velocidade (v) e o tempo (t). Utilizou-se um equipamento piloto e membrana mineral (SCT - P 1940 GL, porosidade de 1,4 μm e área filtrante útil de 0,24m²). As P_e e P_s empregadas foram de 4-2, 3-1 e 2-0 bar. A T e a Q utilizadas variaram de 40 $\pm$ 10 °C e 500-600 L/h, respectivamente. A melhor dinâmica de filtração para o leite de búfala desnatado foi com P_e igual a 2 bar e P_s igual a 0 bar, cujo FRV (fator de redução volumétrico) e J (fluxo do permeado) foram maiores. Nas demais P_e e P_s obteve-se valores menores de FRV e J, devido a um maior "fouling" durante a MF.

Palavras-chave: Leite de búfala, microfiltração.

1. INTRODUÇÃO

A microfiltração (MF) começou a ser empregada no início dos anos 80, quando outros processos que utilizam membranas já eram conhecidos (VAN DER HORST e HANEMAAIJER, 1990). A MF é utilizada na indústria farmacêutica, na biotecnologia (HO e ZYDNEY, 2000) e na indústria de alimentos (VAN DER HORST e HANEMAAIJER, 1990). Na indústria de leite e derivados um equipamento-processo que emprega a microfiltração foi desenvolvido pela Alfa-Laval (Aarhus, Dinamarca) (ROSENBERG, 1995). A MF resulta em um retentado ou concentrado (líquido retido pela membrana) e em um permeado ou filtrado (líquido que ultrapassa a membrana) com características próprias.

O leite a ser submetido à MF deve apresentar baixa quantidade de lipídios, pois os glóbulos de gordura do leite (15-0,2 μm) tendem a colmatar (entupir) os poros da membrana (HONER, 1991), além de apresentarem tamanhos similares aos das bactérias (6-0,2 μm) (SABOYA e MAUBOIS, 2000). O entupimento, também conhecido por "fouling", é responsável pela redução do fluxo do permeado (J).

Denominada por alguns autores (ECKNER e ZOTTOLA, 1991; HONER, 1991) como "pasteurização a frio", a MF poderia ser empregada comercialmente na remoção de esporos (VAN DER HORST e HANEMAAIJER, 1990), sem utilizar temperaturas elevadas (geralmente $\leq$ 50°C) (ECKNER e ZOTTOLA, 1991). Por outro lado, a MF permitiria a passagem de outros constituintes do leite através da membrana como, por exemplo, as micelas de caseína, que apresentam um diâmetro em torno de 0,3 μm (AL-AKOUM, DING e JAFFRIN, 2002). Membranas com poros de 1,4 μm podem gerar um equilíbrio entre a retirada de bactérias e a manutenção de certos componentes do leite no microfiltrado (PAFYLIAS et al., 1996).

O resultado final do processo de MF pode variar com os seguintes parâmetros: vazão de entrada (Q) (L/h), pressões de entrada e saída (P_e e P_s) (bar), temperatura (T) (°C), velocidade (v) (m/s), tempo (t) (min), tipo de membrana e matéria-prima (SAMUELSSON et al., 1997), entre outros. Para evolução e viabilidade econômica da aplicação do processo de filtração a membranas, a estabilidade do J é importante e deve ser levada em consideração (AL-MALACK e ANDERSON, 1997).

^{1*} Doutoranda em Ciência dos Alimentos – CAL/CCA UFSC.

² Mestranda em Ciência dos Alimentos – CAL/CCA UFSC.

³ Mestre em Ciência dos Alimentos – CAL/CCA UFSC.

⁴ Doutor do INRA, Rennes/França.

⁵ Prof^{Dr.} do Curso de Pós-Graduação de Ciência dos Alimentos – CAL/CCA UFSC.

O objetivo deste trabalho foi o de retratar o comportamento do leite de búfala desnatado submetido à MF, partindo de parâmetros estabelecidos pela literatura para o leite bovino.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Material

O leite de búfala cru, obtido de animais mestiços de criadores da Grande Florianópolis/SC, foi pré-aquecido aproximadamente a 42 °C e submetido ao desnatado utilizando centrífuga manual. Todos os reagentes utilizados foram de qualidade P. A.

2.2 Análise físico-química do leite de búfala desnatado

As análises físico-químicas aplicadas ao leite desnatado foram: lipídios (%p/v), cinzas (%p/v), sólidos totais (ST) (%p/v), proteínas (%p/v), determinação de densidade a 15°C, umidade (%p/v) e acidez (°D) (AOAC, 1998). Os valores de carboidratos totais foram obtidos por diferença (BRASIL, 2002) e as medidas de pH foram realizadas utilizando pH metro (MP220, Mettler-Toledo). Todas as análises foram realizadas em duplicata.

2.3 Microfiltração (MF)

O leite foi submetido ao processo de MF usando um piloto de escala semi-industrial e membrana mineral (SCT - P1940 GL, porosidade de 1,4 µm e área filtrante útil de 0,24 m²). Partindo-se do que a literatura propõe como parâmetros e dinâmica de MF para o leite bovino, chegou-se a uma Q entre 500 - 600 L/h, T variando de 40 ± 10 °C (PAFYLIAS et al., 1996) e empregando 3 etapas com diferentes pressões: (a) $P_E = 4$ bar e $P_S = 2$ bar; (b) $P_E = 3$ bar e $P_S = 1$ bar; (c) $P_E = 2$ bar e $P_S = 0$ bar (GÉSAN-GUIZIOU, BOYAAVAL e DAUFIN, 1999), para a determinação dos melhores fluxo do permeado (J) ($L \cdot h^{-1} \cdot m^{-2}$) e fator de redução volumétrico (FRV), com v em torno de 0,65 m/s. A cada 10 minutos foram realizadas medições de J e ao final, determinado FRV. O tempo médio dos experimentos ficou em torno de 1 hora. Todas as etapas do experimento foram realizadas em triplicata. Após cada etapa, o equipamento foi higienizado conforme instruções do fabricante.

2.4 Análise estatística

Médias, desvio padrão, análise de variância e teste de Tukey foram realizados com auxílio do software STATISTICA versão 5.1 (1984-1998).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados das análises físico-químicas do leite cru, posteriormente submetido à MF, encontram-se na Tabela 1.

O processo MF aplicado ao leite de búfala obteve melhor comportamento quando foram utilizadas $P_E = 2$ bar e $P_S = 0$ bar. Os valores de J nessa etapa diferiram significativamente ($p < 0,05$) dos demais. Após 50 minutos no regime $P_E = 2$ bar e $P_S = 0$ bar o "fouling" passou a ser significativo ($p < 0,05$), mas não foi tão evidente como nas outras pressões utilizadas, cujos processos já iniciaram com baixo J (Figura 1).

Tabela 1. Composição físico-química média do leite de búfala desnatado

ANÁLISES	RESULTADOS
Umidade (%p/v)	89,59±0,04
Proteína (%p/v)	4,33±0,04
Cinzas (%p/v)	0,87±0,06
Carboidratos (%p/v)	5,03±0,04
Lipídios (%p/v)	0,18±0,04
Sólidos Totais (%p/v)	10,41±0,04
pH	6,63±0,07
Acidez (°D)	16±2
Densidade a 15 °C	1,037±0,005

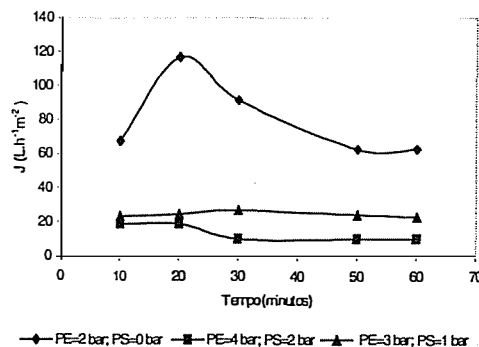


Figura 1 Fluxo do permeado do leite de búfala desnatado submetido à MF nas 3 diferentes etapas: (a) $P_E = 4$ bar e $P_S = 2$ bar; (b) $P_E = 3$ bar e $P_S = 1$ bar; (c) $P_E = 2$ bar e $P_S = 0$ bar.

Nas etapas onde foram empregadas (a) $P_E = 4$ bar e $P_S = 2$ bar e (b) $P_E = 3$ bar e $P_S = 1$ bar, não existiram diferenças significativas ($p > 0,05$) entre os valores de J, após 1 hora de MF. Segundo GÉSAN-GUIZIOU, DAUFIN e BOYAAVAL (2000) a performance (permeabilidade e seletividade) é considerada satisfatória quando após um

determinado período ocorra um certo "fouling", mas o processo deve ainda continuar acontecendo por um certo tempo. AL-MALACK e ANDERSON (1997) e KRISTIC et al. (2002) atribuem o declínio de J devido à contínua infiltração de partículas junto à camada de polarização e/ou pela compactação desta camada. Porém, o comportamento pode variar devido aos parâmetros da MF e a matéria-prima empregada. LE BERRE e DAUFIN (1996) conferem ao J e a v, a responsabilidade pela separação via membrana, onde J controla o transporte de massa através da membrana e v evita o depósito de partículas na membrana.

O melhor J para o leite de búfala desnatado foi de 117 $L \cdot h^{-1} \cdot m^{-2}$ (20 minutos após o início do processo) nas $P_E = 2$ bar e $P_S = 0$ bar, mas a média de J durante todo o experimento ficou em torno de 80 $L \cdot h^{-1} \cdot m^{-2}$. KRISTIC et al. (2002) utilizando fluxo turbulento chegaram a valores aproximados de 35 $L \cdot h^{-1} \cdot m^{-2}$ para o leite desnatado (<0,1% de lipídios), usando membrana mineral de 0,1 µm, T de 50 ± 0,2 °C e pressão transmembrana entre 0,3 e 1 bar. Logo, o fluxo do permeado para o leite de búfala desnatado foi maior do que o observado por KRISTIC et al. (2002), principalmente devido à diferença na porosidade da membrana (1,4 µm) e pressões empregadas.

Para (a) $P_E = 4$ bar e $P_S = 2$ bar, (b) $P_E = 3$ bar e $P_S = 1$ bar e (c) $P_E = 2$ bar e $P_S = 0$ bar, conseguiu-se FRV iguais a 2, 2 e 4, respectivamente. Sendo que para $P_E = 2$ bar e $P_S = 0$ bar, um maior J em um mesmo espaço de tempo (1 hora) foi observado.

4. CONCLUSÃO

Os resultados obtidos confirmam que a dinâmica de MF empregada para o leite bovino pode ser adaptada ao leite bubalino. Trabalhos posteriores utilizando este tipo de matéria-prima podem ser desenvolvidos a partir dos parâmetros empregados neste estudo.

5. LISTA DE SÍMBOLOS

MF	Microfiltração
Q	Vazão (L/h)
P_E	Pressão de entrada (bar)
P_S	Pressão de saída (bar)
T	Temperatura (°C)
v	Velocidade tangencial (m/s)
t	Tempo (min)
FRV	Fator de redução volumétrico
J	Fluxo do permeado ($L \cdot h^{-1} \cdot m^{-2}$)
ST	Sólidos totais (%)

ABSTRACT

The application of tangential filtration to the buffalo milk is less frequent than to the cow milk. This work relates the microfiltration (MF) treatment to buffalo skim milk. Based in studies proposed by the literature in relation to cow milk, the following parameters were determined: flux (Q), inlet pressure (P_E), outlet pressure (P_S), temperature (T), velocity (v) and time (t). A pilot unit was used with a mineral membrane (SCT - P 1940 GL, pore diameter 1,4 µm and filterable surface 0,24m²). The P_E and P_S employed were 4-2, 3-1 and 2-0 bar, whereas the temperature and flux were about 40 ± 10°C and 500-600 L/h, respectively. The best dynamic filtration was obtained when the $P_E = 2$ bar and $P_S = 0$ bar were used, because the FRV (reduction volumetric factor) and the J (permeate flux) were the highest. On the other hand, the FRV and J values were inferior to the others pressures measurements (inlet and outlet), due to the fouling membrane pores during the MF.

Keywords: buffalo milk, microfiltration.

6. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

AL-AKOUM, O.; DING, L. H.; JAFFRIN, M. Y. Microfiltration and ultrafiltration of UHT skim milk with a vibrating membrane module. *Separation and Purification Technology*, v. 28, p. 219-234, 2002.

AL-MALACK, M. H.; ANDERSON, G. K. Crossflow microfiltration with dynamic membranes, *Wat. Res.*, v. 31, p. 1969-1979, 1997.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. Official methods of analysis of the association analytical chemists. 14 ed. Washington, DC. AOAC, 1998.

BRASIL. Ministério da Saúde Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC no. 40, de 08 de Fevereiro de 2002. Diário Oficial da República do Brasil, Brasília, DF. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br>. Acesso em: 19 de Fevereiro de 2003.

ECKNER, K. F.; ZOTTOLA, E. A. Potential for the low-temperature pasteurization of dairy fluids using membrane processing. *Journal of Food Protection*, v. 54, n. 10, p. 793-797, 1991.

GÉSAN-GUIZIOU, G.; BOYAAVAL, E.; DAUFIN, G. Critical stability conditions in crossflow microfiltration of skimmed milk: transition to irreversible deposition. *Journal of Membrane Science*, v. 158, p. 211-222, 1999.

HO, C. C.; ZYDNEY, A. L. A combined pore blockage and cake filtration model for protein fouling during microfiltration. *Journal of Colloid and Interface Science*, v. 232, p. 389-399, 2000.

HONER, C. "Pasteurization" by membrane technology. *Dairy Field*, v. 174, n. 17, p. 28, 1991.

KRSTIC, D. M.; TEKIC, M. N.; CARIC, M. D.; MILANIVIC, S. D. The effect of turbulence promoter on cross-flow microfiltration of skim milk. *Journal of Membrane Science*, v. 208, p. 303-314, 2002.

LE BERRE; DAUFIN, G. Skimmilk crossflow microfiltration performance versus permeation flux to wall shear stress ratio. *Journal of Membrane Science*, v. 117, p. 261-270, 1996.

PAFYLIAS, I.; CHERYAN, M.; MEHAIA, M. A.; SAGLAM, N. Microfiltration of milk with ceramic membranes. *Food Research International*, v. 29, n. 2, p. 141-146, 1996.

ROSENBERG, M. Current and future applications for membrane processes in the dairy industry. *Trends in Food Science & Technology*, v. 6, p. 12-19, 1995.

SABOYA, L. V.; MAUBOIS, J. L. Current developments of microfiltration technology in the dairy industry. *Lait*, v. 80, p. 541-553, 2000.

SAMUELSSON, G.; HUISMAN, I. H.; TRAGARDH, G.; PAULSSON, M. Predicting limiting flux of skim milk in crossflow microfiltration. *Journal of Membrane Science*, v. 129, p. 277-281, 1997.

VAN DER HORST, H. C.; J. H. HANEMAAIJER, J. H. Cross-flow microfiltration in the food industry. State of the art. *Desalination*, v. 77, p. 235-258, 1990.

7. AGRADECIMENTOS

Agradecemos a T.I.A. (Techniques Industrielles Appliquées), ao Departamento Agronomique de Rennes e ao INRA - Rennes pelo acesso ao equipamento de MF, possibilitando a realização deste trabalho.

STAPHYLOCOCCUS COAGULASE POSITIVA EM RICOTA: REDUÇÃO DA CONTAMINAÇÃO PELA UTILIZAÇÃO DE LUVAS E MÁSCARAS

Positive coagulase *Staphylococcus* in ricotta: contamination level reduction by the used of gloves and masks

Roberta Hilsdorf Piccoli^{1*}

Daniele Toledo Del Rio²

Eliane Mara Cavalcante Alcântara³

Luiz Ronaldo de Abreu⁴

RESUMO

A ricota é um queijo de alto valor protéico e baixo teor calórico, sendo prescrita para pessoas sob dietas de baixa caloria. É obtida pela coagulação ácida das proteínas do soro a cerca de 92° C. Por utilizar temperatura elevada seu processo de fabricação favorece a obtenção de produtos com baixas contagens microbianas. Entretanto, a manipulação da massa da ricota após sua obtenção a expõe a inúmeras fontes de contaminação, tornando-a, muitas vezes, de qualidade duvidosa. O íntimo contato das mãos dos manipuladores com o queijo pode ser a principal fonte de microrganismos. Assim, a comparação entre o nível de contaminação devido a manipulação dos queijos por funcionários de mãos nuas e sem máscaras e vestindo luvas e máscaras foi realizada. A massa da ricota foi retirada do tanque com o auxílio de peneira, sem contato manual. Metade das formas, a manipulação, a enformagem e a embalagem do queijo foram realizadas por manipuladores vestindo luvas de borracha e máscaras e a outra metade por funcionários sem luvas e máscaras. As ricotas, já embaladas foram avaliadas quanto sua contagem de coliformes totais e a 45° C e *Staphylococcus* coagulase positivas. O número de coliformes totais presentes nas ricotas manipuladas por funcionários vestindo luvas e máscaras foi 1,2 ciclos logarítmicos menor que o número desses microrganismos presentes nos queijos manipulados por funcionários sem luvas e máscaras. Já a contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva na ricota manipulada com luvas e máscaras foi 3,8 ciclos logarítmicos menor do que no outro tratamento. A redução do número de coliformes a 45° C foi de 0,74, indicando outras fontes de contaminação. Assim, sugere-se que a utilização das luvas e máscaras é um procedimento que pode trazer benefícios para a melhoria da qualidade microbiológica da ricota.

Palavras-chave: Ricota, luvas e máscaras, *Staphylococcus*, coliformes a 45° C.

1. INTRODUÇÃO

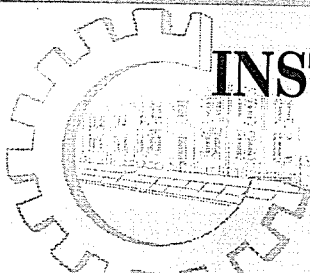
A ricota é um queijo de origem italiana tradicionalmente produzido nas regiões meridional e central desse país. Atualmente fabricada em diversos países de todo o mundo, a ricota é obtida pela coagulação ácida de proteínas do soro (Souza et al., 2000). A ricota apresenta cerca de 70 a 73% de umidade, 4 a 6% de gordura, valores de pH entre 4,9 e 5,3 e não contém sal, embora existam ricotas defumadas, condimentadas e salgadas (Furtado e Lourenço Neto, 1994). De acordo com os padrões

físico-químicos oficiais para inspeção e classificação de queijos no Brasil, a ricota pode ser identificada como queijo magro e de muito alta umidade, contendo menos do que 10% de gordura no extrato seco e teor de umidade não inferior a 55% (Brasil, 1962). Por ser um alimento de baixa acidez, alto teor de umidade e rico em nutrientes, a ricota constitui-se em ótimo meio para o desenvolvimento de microrganismos.

Apesar da existência de padrões oficiais, a qualidade da ricota produzida em laticínios que não realizam controle de qualidade microbiológica rotineiramente é incerta. De acordo com a resolução

- 1 Professora Adjunto II do Departamento de Ciência dos Alimentos, Universidade Federal de Lavras, C.P. 37, 37200-000, Lavras, MG - Brasil.
- 2 Zootecnista da Universidade Federal de Lavras, C.P. 37, 37200-000, Lavras, MG - Brasil.
- 3 Técnica de Laboratório de Microbiologia de Alimentos do Departamento de Ciência dos Alimentos, Universidade Federal de Lavras, C.P. 37, 37200-000, Lavras, MG - Brasil.
- 4 Professor Titular do Departamento de Ciência dos Alimentos, Universidade Federal de Lavras, C.P. 37, 37200-000, Lavras, MG - Brasil.

* Endereço para correspondência: Roberta Hilsdorf Piccoli Universidade Federal de Lavras - Departamento de Ciência dos Alimentos - C.P. 37, CEP 37200-000 - Lavras, MG - Brasil. - E-mail: rvalle@ufla.br - Phone/fax: 55(035) 829-1656/ 55(035) 829-1401.



**INSTITUTO DE LATICÍNIOS
CÂNDIDO TOSTES**

ENSINO TÉCNICO MÉDIO

**PESQUISA COM COMPETÊNCIA
E QUALIDADE**

Visite nossa Home Page
www.candidotostes.com.br



nº 12 de dois de janeiro de 2001 do Ministério da Saúde, os padrões microbiológicos para queijos de muito alta umidade são: coliformes a 45° C: número mais provável não superior a 5×10^2 /g; *Staphylococcus* coagulase positiva: até 5×10^2 UFC/g; *Salmonella*: ausência em 25g; e *Listeria monocytogenes*: ausência em 25g (Brasil, 2001). Esses microrganismos foram selecionados por permitirem avaliar as condições higiênico-sanitárias de obtenção dos produtos e, ou, provocarem toxinfecções alimentares.

Coliformes são definidos como bastonetes gram-negativos, aeróbios ou anaeróbios facultativos, não formadores de endosporos, capazes de fermentar lactose com produção de gás após 48h de incubação a 35° C. Como alguns coliformes não são habitantes do trato intestinal de animais, mas sim bactérias comumente encontradas em plantas e solo, muitos padrões de alimentos são específicos para coliformes a 45° C, microrganismos muito utilizados como indicadores das condições higiênicas de produção e de contaminação fecal. *Escherichia coli* é o coliforme a 45° C predominante, constituindo grande proporção da população bacteriana intestinal humana (Tortora et al., 1998). A análise de coliformes a 45° C além de indicar deficiências na higienização do estabelecimento e dos equipamentos evidência problemas relativos à higiene pessoal dos manipuladores (Furtado, 1999). *Staphylococcus aureus* é uma bactéria gram-positiva, toxigênica ou não, comumente encontrada nas fossas nasais do ser humano. As principais fontes de contaminação de alimentos processados são os seus manipuladores. A presença de *S. aureus* em ricota indica contaminação em etapa posterior à coagulação, em razão de más condições higiênicas (Pereira et al., 1999). A importância de outras espécies dentro do gênero *Staphylococcus* tem aumentado, assim a presença de outras cepas de *Staphylococcus* produtoras de coagulase como *S. hyicus* e *S. intermedius* em alimentos destinados ao consumo humano são levadas em conta.

Salmonella e a *Listeria* são importantes patógenos veiculados por alimentos. Estudos mostram que esses microrganismos estão frequentemente envolvidos em surtos de infecção associados à ingestão de queijos, razão pela qual sua presença não é tolerada nesses produtos (Silva et al., 1998; Pinto, 2000).

Por ser obtida por coagulação protéica a 92 °C, a ricota tem sua qualidade microbiológica inicial adequada. As operações subsequentes, entretanto, envolvem muita manipulação, a qual pode promover a contaminação do produto se não forem seguidas rígidas normas de higiene. Dentre elas, a utilização de luvas e máscaras pelos manipuladores de produtos lácteos é indicada, porém, muitas vezes a real eficiência de sua

utilização gera controvérsias. Assim a eficiência em reduzir a contaminação da ricota por coliformes fecais e *Staphylococcus* produtores de coagulase pela utilização de máscaras e luvas pelos manipuladores de um laticínio local foi avaliada.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Fabrico da ricota

2.1.1 Obtenção da massa da ricota

A ricota foi fabricada a partir do soro de queijo prato, transferido logo após a sua obtenção, para o tanque de fabricação da ricota através de tubulações de aço inoxidável. Após sua recepção, na sala de fabricação de ricota, o soro teve sua acidez reduzida para 8° Dornic pela adição de CaOH, sendo aquecido lentamente a 90° C. Após atingir essa temperatura adicionou-se 10% de leite tipo C, sendo em seguida adicionado ácido láctico. A coagulação protéica foi induzida pelo ajuste da temperatura a 92° C.

2.2 Tratamento

Após a obtenção da massa da ricota, sua retirada do tanque de fabricação foi realizada de duas formas diferentes. Primeiramente, cerca de metade da massa do tanque foi retirada com o auxílio de peneira de aço inoxidável por funcionário vestindo roupa branca e botas de borracha limpas, touca, máscara e luvas. A massa foi acondicionada em formas revestidas por panos, previamente arrumadas por funcionário vestidos como o primeiro em mesa de aço inoxidável. Toda a manipulação de viragem e embalagem do queijo foi realizada pelos mesmos funcionários. Após a realização da enformagem da ricota pelos funcionários vestidos com luvas e máscaras, a massa restante no tanque foi retirada por funcionário sem luvas e máscaras, sendo as formas e os panos arrumados sobre a mesa por eles. O queijo foi virado e embalado pelos mesmos funcionários. Foram feitas três fabricações em dias diferentes.

2.3 Amostragem

Para cada tratamento foram obtidos cerca de 50 queijos, sendo cinco de cada um retirados da câmara fria aleatoriamente, totalizando 10 queijos por repetição. As ricotas coletadas foram transportadas para o Laboratório em caixas isotérmicas, sendo retiradas de sua embalagem apenas no momento das análises. Amostras de 25g de cada ricota foram tomadas e homogeneizadas em 225 ml de citrato de sódio a 2% (p/v) em liquidificador doméstico. Diluições sucessivas foram realizadas

com a transferência de alíquotas de 1ml das amostras para tubos contendo 9 ml de água peptonada 0,1% (p/v).

2.4 Análises microbiológicas

Todas as análises foram feitas de acordo com [CMSF (1978).

2.4.1 Análise de coliformes totais e a 45° C

Coliformes totais e a 45° C foram quantificados utilizando-se a técnica do Número Mais Provável com séries de três tubos. Alíquotas de 1 mL das diluições adequadas das amostras, foram inoculadas em tubos contendo Caldo Lauril Sulfato Triptose e incubados a 35°C por 48 horas, para a quantificação de coliformes totais. Os coliformes a 45° C foram semeados em tubos contendo Caldo *Escherichia coli* (EC) e incubados a 44,5°C por 48 horas.

2.4.2 Quantificação de *Estafilococcus coagulase positiva*

Alíquotas de 0,1 mL das diluições apropriadas foram semeadas em placas de Petri contendo ágar Baird-Parker e incubadas a 37° C por 24 horas. Após a incubação e contagem das colônias, 5% das colônias de cada placa foram transferidas para tubos contendo ágar para contagem padrão, incubadas a 37 °C por 24h e estocadas sob refrigeração para testes posteriores. As culturas estocadas foram cultivadas em caldo BHI a 37° C por 24h e a seguir submetidas à coloração de Gram e à prova de coagulase, catalase e termonuclease.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O Quadro I mostra a enumeração de coliformes totais, a 45° C e *Staphylococcus* coagulase positiva presentes nas ricotas manipuladas por funcionários vestidos com roupas limpas, gorro, máscara e luvas e funcionários sem máscaras e luvas.

A utilização das luvas e máscaras pelos funcionários diminuiu em 1,2 ciclos logarítmicos o número de coliformes totais encontrados nos queijos, contudo não interferiu no número de

coliformes a 45° C (0,74 ciclos log). A pouca influência da manipulação dos queijos com luvas e máscaras sobre a contagem de coliformes a 45° C mostra que a contaminação do produto por esses microrganismos não provém dos manipuladores, sendo a presença desses microrganismos indicativo de graves falhas no processo de higienização de equipamentos e utensílios (Furtado, 1999).

A manipulação dos queijos utilizando-se luvas e máscaras reduziu em 3,86 ciclos logarítmicos o número de *Staphylococcus* coagulase positiva. A contaminação de queijos por bactérias do gênero *Staphylococcus* é comum, sendo o leite cru comumente incriminado. No processo de fabricação da ricota, entretanto, a mistura de soro de queijo e leite sofre obrigatoriamente aquecimento superior a 90° C, garantindo a qualidade microbiológica do queijo. Esse fato foi comprovado pela análise da massa de ricota retirada diretamente do tanque de fabricação, onde não foi encontrado número expressivo de coliformes totais (< 0,3 NMP/g), coliformes a 45° C (< 0,3 NMP/g) e *Staphylococcus* coagulase positiva (<10 UFC/g).

A qualidade microbiológica dos queijos reflete as condições higiênicas de sua obtenção. Os microrganismos podem chegar aos produtos por inúmeras vias, onde os manipuladores constituem-se em importante fonte de contaminação. O homem possui em sua pele grande e variada microbiota onde microrganismos potencialmente patogênicos podem ser encontrados. Grande atenção também deve ser dada à saúde dos manipuladores, onde muitas vezes pessoas doentes ou portadoras assintomáticas constituem-se em fontes de inóculo de microrganismos patogênicos. Dentre as bactérias veiculadas aos alimentos pelo homem encontram-se a *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* (Silva Jr, 1997). Porém, outras espécies do gênero *Staphylococcus* também estão presentes, sendo a detecção espécies produtoras de coagulase, como *Staphylococcus hyicus* e *Staphylococcus intermedius* em alimentos destinados ao consumo humano, recomendada. Devido ao alto grau de envolvimento dos manipuladores em disseminar patógenos aos alimentos, práticas adequadas de higiene devem ser rigorosamente observadas na indústria.

Quadro 1. Enumeração de coliformes totais, a 45° C e *Staphylococcus* coagulase positiva presentes nas ricotas manipuladas por funcionários vestidos com roupas limpas, gorro, máscara e luvas e funcionários sem máscaras e luvas.

Tratamento	Coliformes totais NMP/g	Coliformes a 45° C NMP/g	<i>Staphylococcus</i> coagulase positiva UFC/g
Com luvas e máscara	$7,4 \times 10^3$	$1,7 \times 10^3$	$7,4 \times 10^3$
Sem luvas e máscaras	$1,2 \times 10^4$	$9,3 \times 10^3$	$5,4 \times 10^7$

No processo de viragem e embalagem da ricota o íntimo contato das mãos dos manipuladores com o queijo é observado. Esse fato é evidenciado pelo menor número de *Staphylococcus* nas ricotas cuja manipulação se deu por manipuladores utilizando luvas e máscaras. A real necessidade da utilização das luvas é controversa. É sugerido que a sanitização adequada das mãos dos funcionários dispensa seu uso. Porém, vários experimentos mostram que dependendo do tipo utilizado de sanitizante e o tempo de exposição das mãos a eles não se consegue reduções adequadas do número de microrganismos, freqüentemente não se observando sua eliminação (Ribeiro et al., 2000). Porém Silva Jr. (1997) sugere que a utilização de luvas e máscaras pelos manipuladores não influencia na redução da contaminação dos alimentos. Sendo desnecessário seu uso principalmente quando o alimento manipulado se encontra cru.

4. CONCLUSÃO

Embora não tenha sido efetiva na prevenção da contaminação da ricota por coliformes a 45° C, a utilização das luvas e máscaras foi ação preventiva da contaminação das ricotas com coliformes totais e *Staphylococcus* coagulase positiva.

ABSTRACT

The ricotta is a type of cheese of high protein value and low caloric content, indicated for people under low calorie diets. The ricotta is obtained through the acid coagulation of the whey proteins at about 92° C. Due to the employment of high temperatures, its manufacturing process furthers the attainment of products with low microbial counting. However, the handling of the ricotta mass, after its attainment, exposes the mass to several sources of contamination, causing it many times to be of doubtful quality. The intimate contact of the handlers' hands with the cheese may be the major source of microorganisms. Thus, the comparison between the contamination level due to cheese handling by bare-handed and unmasked employees to employees wearing gloves and masks was performed. The ricotta mass was removed from tank with the aid of a sieve with no manual contact. In half of the cheese press, the cheese handling, molding the packing were performed by employees wearing rubber gloves and masks and the other half by employees wearing no gloves and masks. The already packed ricotta cheese were evaluated regarding counting of the global coliform at 45° C as well as the positive coagulase *Staphylococcus*. The global number of coliforms present in ricotta handled by employees wearing gloves and masks was 1,2 logarithm cycles lower than the number of such microorganisms present in cheese handled by employees wearing no gloves and masks. For the positive coagulase *Staphylococcus* in ricotta handled with gloves

and masks, the counting was 3,8 logarithm cycles lower than the other treatment. The reduction on the number of coliforms at 45° C was of 0,74, showing other sources of contamination. Thus, the use of gloves and masks is suggested as a procedure that may bring benefits for the ricotta microbiological quality improvement.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001. Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília, n. 7-E, 10 jan. 2001.p. 45-53.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Regulamento Nacional de Inspeção de Produtos de Origem Animal. RIISPOA. Brasília, 1962. 362p.

FURTADO, M.M, LOURENÇO NETO, J.P.M. Tecnologia de queijos. Manual técnico para a produção de queijos. São Paulo: Dipemar, 1994. 118p.

International Commission on Microbiological Specifications for Foods (ICMSF) Microorganisms in foods 1. Their significance and methods of enumeration. 2ª. ed. Toronto: University of Toronto, 1978. p. 219-228.

PEREIRA, M.L., PEREIRA, J.L, SERRANO, A.M., BERGDOLL, M.S. Estafilococos e alimentos: possibilidades de disseminação através do portador humano e animal. Higiene Alimentar, v. 13, nº 66/67, p. 48-55, 1999.

PINTO, P.S.A. Aspectos sanitários da salmonelose como uma zoonose. Higiene Alimentar, v. 14, nº 17, p. 32-33, 2000.

RIBEIRO, A.C., REIS, D.O., ROSSI, D.A. Procedimento de higienização na redução do número de microrganismos das mãos de manipuladores em uma indústria frigorífica. Higiene Alimentar, v. 14, nº 70, p. 52-57, 2000.

SILVA Jr., E.A. Manual de controle higiênico-sanitário em alimentos. 2ª. ed. São Paulo: Varela, 1997. 385p.

SILVA, N., JUNQUEIRA, V.C.A., SILVEIRA, N.F.A. Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos. São Paulo: Varela, 1997. 295p.

SILVA, M.C.D., HOFER, E., TIBANA, A. Incidence of *Listeria monocytogenes* in cheese produced in Rio de Janeiro, Brazil. Journal of Food Protection, v. 16, nº 3, p. 354-356, 1998.

SOUZA M.R., MORAIS, C.F.A., CORRÊA, E.S., RODRIGUES, R. Características físico-químicas de ricota comercializada em Belo Horizonte, MG. Higiene Alimentar, v. 14, nº 73, p. 68-71, 2000.

TORTORA, G.J., FUNKE, B.R. CASE, C.L. Microbiologia. 6 ed. Porto Alegre: Artmed, 2000. 827p.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem o apoio financeiro da CAPES, CNPq e auxílio logístico do Centro de Excelência em Laticínios (CEL).

Kilol[®]-L

O Higienizante Nobre dos Laticínios e das Fazendas

Tecnologia
100% brasileira
SENDO EXPORTADA PARA O PRIMEIRO MUNDO.



Conheça as vantagens do higienizante Kilol[®]-L:

- Produto atóxico;
- Não corrosivo;
- Não volátil;
- Não irritante;
- Ecologicamente correto;
- Biodegradável;
- Não contaminante;
- Alto poder antioxidante.

Possui também:

- Excelente ação microbiostática (Fungos e bactérias)
- Ação prolongada (Além do tempo de ação dos desinfetantes tradicionais)

Coadjuvante na sanitização ambiental de salas, equipamentos e locais onde são processados o leite e seus derivados como queijos, manteigas, iogurtes, entre outros.

Televendas: (12) 3933-0400

quinabra@quinabra.com.br
www.quinabra.com.br

Quinabra
Qualidade em benefício da natureza



ESTABILIZANTES
EMULSIFICANTES
MISTURAS EM PÓ AROMATIZADAS
AROMAS
CULTURAS LÁTICAS
CORANTES
PREPARAÇÕES DE FRUTAS
CONSERVANTES



Rua Bruno Simili, 380 - Distrito Industrial
CEP 36092-050 - Juiz de Fora - MG
Tel.(32)3249-7600 - Fax (32)3249-7610
www.gemacom.com.br
gemacom@gemacom.com.br

00000000
 03/01/13-4037

DETERMINAÇÃO DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE QUEIJOS RALADOS OBTIDOS DO VAREJO DO MUNICÍPIO DE SÃO JOSÉ DO RIO PRETO - SP

Determination of the microbiological quality on grated cheese obtained from the retail trade in the city of São José do Rio Preto - SP

Fernando Leite Hoffmann¹
Alexandre Rodrigo Coelho²
Patrícia Hoffmann³
Elisa Yoko Hirooka⁴
Tânia Maria Vinturim Gonçalves⁵

RESUMO

O queijo ralado pode ser obtido por esfarelamento ou ralagem de uma ou até quatro variedades de queijos de baixa umidade aptos para o consumo humano. Na sua elaboração, deve-se trabalhar em adequadas condições higiênicas - sanitárias na obtenção das matérias-primas e na manipulação, em que poderá ocorrer o incremento da microbiota. Dentre os microrganismos mais relevantes temos aqueles pertencentes à família Enterobacteriaceae, que podem indicar a contaminação fecal ou estar envolvidos em infecções. De acordo com o exposto, este trabalho teve como objetivo determinar a qualidade microbiológica de queijos ralados obtidos do varejo do município de São José do Rio Preto - SP, por meio das seguintes análises: contagem de bactérias aeróbias mesófilas, de bolores e de leveduras, de *Staphylococcus aureus*; determinação do Número Mais Provável (NMP) de coliformes totais e de fecais, pesquisa de *Escherichia coli* e de *Salmonella* sp. Os resultados obtidos indicaram que, de todas as amostras (100,00%) analisadas, 23,08% apresentaram-se em desacordo com o padrão estabelecido, para *Staphylococcus aureus*, na legislação brasileira em vigor, sendo as mesmas classificadas como "produtos em condições sanitárias insatisfatórias" e portanto "produtos impróprios para o consumo humano". Logo, podem ser uma fonte potencial de toxinfecção alimentar, acarretando a diminuição da qualidade e do prazo de validade.

Palavras-chave: qualidade microbiológica, queijos ralados, varejo.

1. INTRODUÇÃO

O queijo é um produto alimentício que, pelo seu alto valor nutritivo, ocupa um lugar de destaque entre os alimentos chamados completos; apresenta consumo elevado, vários empregos na culinária brasileira, sendo ainda muito comum na dieta populacional, abrangendo, na totalidade, todas as classes sociais.

Devido a composição rica em nutrientes, pode apresentar contaminações por microrganismos, inclusive os patogênicos.

Dentre as bactérias que podem se desenvolver em queijos destacam-se, principalmente, os coli-

formes totais e os fecais, o *Staphylococcus aureus* e a *Salmonella* sp, sendo a presença e o número destes microrganismos indicadores da qualidade do produto.

Diversos autores (DANGLA, SOLLIS & BAQUERO, 1985; FLORENTINO & MARTINS, 1999; GARCIA - CRUZ, HOFFMANN & VINTURIM, 1994; GUARINO et al., 1998; TAWFER, SHARAF & HEWEDY, 1998) detectaram altos índices de contaminação por microrganismos em diferentes tipos de queijos e inúmeras toxinfecções de origem alimentar têm sido relacionadas ao seu consumo (CARMO & BERGDOLL, 1990; DESENCLOS et al., 1995; ELLIS et al., 1998; RATNAM et al., 1999).

- 1 Professor Doutor do Departamento de Engenharia e Tecnologia de Alimentos - UNESP - Rua: Cristóvão Colombo, 2265 - Jd. Nazareth - 15054-000 - São José do Rio Preto - SP.
- 2 Mestre em Engenharia e Ciência de Alimentos - DETA - UNESP - São José do Rio Preto - SP e aluno do Curso de Pós - Graduação (Doutorado) do Departamento de Tecnologia de Alimentos e Medicamentos - Centro de Ciências Agrárias - UEL - Campus Universitário - C.P. 6001 - 86051-990 - Londrina - PR.
- 3 Aluna do Curso de Graduação em Ciências Biológicas - UNIRP - Centro Universitário de Rio Preto - Rua: Yvette Gabriel Atique, 45 - Boa Vista - 15025-040 - São José do Rio Preto - SP.
- 4 Professora Doutora do Departamento de Tecnologia de Alimentos e Medicamentos - Centro de Ciências Agrárias - UEL - Londrina - PR.
- 5 Auxiliar acadêmica do Departamento de Engenharia e Tecnologia de Alimentos - UNESP - São José do Rio Preto - SP.

O tipo parmesão é elaborado de leite cru ou pasteurizado, de massa cozida, apresentando sabor forte, sendo maturado, no mínimo por 6 meses, destinado geralmente a servir de condimento, como por exemplo, em massas.

Sua fabricação data de 1481 e em certas regiões da Itália era fabricado com leite que continha um teor aproximado de 2% de matéria gorda e grau de acidez, em torno de 18° Dornic (BROWN, s.d.).

O queijo ralado pode ser definido como sendo o produto obtido por esfaleamento ou ralagem da massa de uma ou até quatro variedades de queijos de baixa unidade aptos para o consumo humano (BRASIL, 1997).

Deve apresentar o aspecto e a textura de grânulos ou filetes mais ou menos finos; a cor branca amarelada a amarela e o odor característicos de acordo com as variedades das quais provenha (BRASIL, 1997).

Conforme MOSQUIM (1998), o queijo ralado é um dos produtos mais fraudados, principalmente no Brasil, entretanto, são poucos os trabalhos disponíveis na literatura científica sobre a sua qualidade.

Apesar da existência de diversos tipos, um dos mais consumidos é o queijo parmesão ralado.

As normas ou as diretrizes para a execução do controle microbiológico no processamento de queijos são muito dificultadas, visto a existência de uma grande variedade de métodos de fabricação, bem como os múltiplos tipos de produtos resultantes (FRANCO & ALMEIDA, 1992).

Na elaboração do queijo ralado, o leite é transformado em um produto concentrado, de durabilidade maior e valor nutritivo alto, devendo-se tomar um especial cuidado na prevenção de microrganismos contaminantes em sua fabricação, com a adoção de excelentes condições higiênicas - sanitárias, desde a obtenção das matérias - primas, assim como na excessiva manipulação durante as diversas fases da produção, em que poderá ocorrer a possível elevação da microbiota no produto final.

Dentre os micróbios mais relevantes podem ser citados aqueles pertencentes à família Enterobacteriaceae, que apresentam importância não só por poderem indicar a contaminação fecal, mas também por estarem geralmente implicados em processos infecciosos, demonstrando ainda, um considerável grau de deficiência higiênica - sanitária na elaboração do produto. Tais germes, podem comportar-se como oportunistas, considerando a resistência orgânica e as diferentes categorias de ingestores.

A ingestão do alimento contaminado, por sua vez, será muito mais grave, considerando não só a faixa etária dos consumidores bem como a subnutrição, o que tornaria estes ingestores muito

mais vulneráveis à microbiota patogênica, potencialmente patogênica e oportunista, implicando em problemas de saúde pública.

Os outros aspectos a serem considerados são ainda aqueles de natureza econômica ou comercial, relacionados ao controle de deteriorantes, cuja proliferação poderá acarretar a perda do produto ou também a redução da vida de prateleira, sem se descuidar das normas e dos padrões de identidade e de qualidade em vigor controlando os microrganismos por meio dos estabelecidos limites de tolerância.

Dentre os microrganismos envolvidos em intoxicações alimentares e na produção de metabólitos capazes de causar enfermidades ao homem, as bactérias do gênero *Staphylococcus* se têm destacado (GENIGEORGIS, 1989).

Algumas linhagens elaboram enterotoxinas termo - estáveis e resistentes às enzimas proteolíticas como a tripsina, a quimotripsina, a renina e a papaina (BERGDOLL, 1989).

As enterotoxinas estafilocócicas são exoproteínas que, quando ingeridas, costumam ocasionar gastroenterite com manifestação de 2 a 3 horas depois da ingestão. Os sintomas são: vômito, diarreia, dores abdominais e náusea (SUDHAKAR et al., 1988).

Atualmente, são conhecidos nove diferentes tipos de enterotoxinas identificadas (CARMO et al., 2001).

O *Staphylococcus* pode multiplicar-se rapidamente em vários alimentos. Entretanto, o leite e os produtos derivados, como o queijo, são os mais habitualmente implicados em surtos. No período de 1992 a 1994 foram notificados vinte e um surtos de toxinfecção alimentar ocasionados pela ingestão de queijos em Belo Horizonte - MG, com duzentas e trinta e nove pessoas expostas sendo que 92% apresentaram sintomas característicos de intoxicação estafilocócica. Dentre as amostras incriminadas desse produto, 86% continham *S. aureus* em contagens de 10^5 a 10^9 UFC/g (DIAS et al., 1995).

Embora o *Staphylococcus* coagulase positiva seja o mais envolvido em surtos de intoxicação alimentar, algumas espécies de *Staphylococcus* coagulase negativa (*S. hyicus*, *S. epidermidis*, *S. xylosus*, *S. warneri*, *S. saprophyticus* e *S. lentus*) podem também causar os surtos de toxinfecção ou de gastroenterites (VALLE et al., 1990).

Os resultados obtidos por PIMENTEL et al. (2002a.) demonstraram também a qualidade inferior dos queijos ralados, relacionada com a matéria - prima empregada em seu processamento, visto que um grande percentual das amostras analisadas por eles (72%) foi constituído de toxinas pré - formadas podendo ocasionar danos à saúde e estando portanto inadequadas ao consumo.

A presença do *Staphylococcus aureus* em alimentos pode sugerir ainda as inadequadas condições de manipulação, de limpeza e de desinfecção, visto que são indicadores destas. Sua incidência em produtos crus é reduzida devido a competição entre os microrganismos presentes, entretanto, quando crescido no alimento, se desenvolve normalmente, podendo então elaborar as enterotoxinas termo - resistentes, determinando os sintomas de intoxicação alimentar. Apesar de alguns produtos alimentícios não apresentarem as características que favoreçam o desenvolvimento deste micróbios, a adição aos mesmos de certos ingredientes como o queijo, pode criar as condições ótimas de crescimento (FRANCO & ALMEIDA, 1992).

De acordo com o exposto, este trabalho teve como objetivo determinar a qualidade microbiológica de queijos ralados obtidos do varejo do município de São José do Rio Preto - SP, por meio das seguintes análises: contagem de bactérias aeróbias mesófilas, de bolores e de leveduras, de *Staphylococcus aureus*, determinação do Número Mais Provável (NMP) de coliformes totais e de fecais, pesquisa de *Escherichia coli* e de *Salmonella* sp.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Obtenção das amostras

Foram obtidas treze (100,00%) amostras de queijos ralados de diferentes marcas comerciais do varejo do município de São José do Rio Preto - SP (TABELA 1). Todas elas, que mostravam a inspeção

pelo serviço competente, estavam enquadradas dentro dos prazos de validade estabelecidos pelo fabricante, apresentavam a embalagem íntegra e indicavam, na rotulagem, a presença do conservador ácido sórbico (INS - 200), foram imediatamente transportadas ao Laboratório de Microbiologia de Alimentos para a pronta análise (INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS - ICMSF, 1978).

2.2 Preparo das amostras

No Laboratório cada uma das amostras recebeu um número de identificação. Em seguida, foram colocados assepticamente 10 g em um frasco de Erlenmeyer contendo 90 mL de diluente (água destilada estéril) sendo homogeneizado posteriormente (dilução 10^{-1}). A partir desta diluição foram efetuadas as outras diluições decimais seriadas até 10^{-12} empregando-se o mesmo diluente. As doze diluições assim obtidas foram utilizadas, conforme necessárias, nas análises subseqüentes (ICMSF, 1974).

2.3 Contagem de bactérias aeróbias mesófilas

Pipetou-se assepticamente 1 mL das diluições previamente preparadas e colocou-se em placas de Petri devidamente identificadas. Adicionou-se a seguir 15 mL de ágar para contagem padrão. Após a homogeneização, incubou-se a 35°C por 48 horas e calculou-se as (UFC) unidades formadoras de colônias

Tabela 1. Apresentação dos resultados obtidos após as diferentes análises microbiológicas.

Amostra	Bactérias aeróbias	Bolores e	<i>Staphylococcus aureus</i>	Coliformes totais	Coliformes fecais	<i>Escherichia coli</i>	<i>Salmonella</i> sp
nº.	mesófilas	leveduras					
	(UFC/g)	(UFC/g)	(UFC/g)	(NMP/g)	(NMP/g)	(confirmativo)	(-/+)
1	$2,6 \times 10^5$	$2,3 \times 10^4$	$4,9 \times 10^4$	< 3	< 3	-	-
2	$8,5 \times 10^3$	$5,0 \times 10^0$	$1,0 \times 10^2$	< 3	< 3	-	-
3	$4,7 \times 10^5$	$7,5 \times 10^5$	< 100	< 3	< 3	-	-
4	$1,0 \times 10^3$	$1,0 \times 10^1$	$5,0 \times 10^1$	< 3	< 3	-	-
5	$1,5 \times 10^{12}$	$1,4 \times 10^3$	$2,2 \times 10^3$	< 3	< 3	-	-
6	$1,4 \times 10^3$	$3,1 \times 10^2$	< 100	< 3	< 3	-	-
7	$5,5 \times 10^3$	$3,5 \times 10^4$	$5,0 \times 10^1$	< 3	< 3	-	-
8	$2,0 \times 10^4$	$2,0 \times 10^4$	< 100	< 3	< 3	-	-
9	$8,2 \times 10^6$	$5,0 \times 10^0$	$1,0 \times 10^2$	< 3	< 3	-	-
10	$9,5 \times 10^3$	$3,0 \times 10^1$	$2,0 \times 10^2$	< 3	< 3	-	-
11	$1,1 \times 10^{12}$	$3,1 \times 10^2$	< 100	< 3	< 3	-	-
12	$2,0 \times 10^4$	< 10	$1,5 \times 10^2$	9	< 3	-	-
13	$1,3 \times 10^7$	$2,6 \times 10^5$	$9,6 \times 10^4$	< 3	< 3	-	-
Variação	$1,0 \times 10^3$	< 10	< 100	< 3	< 3	-	-
	a	a	a	a	a	a	a
	$1,5 \times 10^{12}$	$7,5 \times 10^5$	$9,6 \times 10^4$	9			
Padrão Federal (BRASIL, 2001)			10^3		10^3		ausência em 25 g

(AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION - APHA, 1972; APHA, 1984).

2.4 Enumeração de bolores e de leveduras

Foi pipetado com assepsia 1 mL das diluições e distribuído em placas de Petri identificadas. Adicionou-se 15 mL de ágar batata glicose acidificado com ácido tartárico a 10% (pH = 4,0) com homogeneização e, após a solidificação, foram incubadas a 25°C por 5 dias. As UFC foram calculadas de acordo com as diluições (HARRIGAN & MC CANCE, 1976; ICMSF, 1978).

2.5 Contagem de *Staphylococcus aureus*

Foi semeado em duplicata, sobre a superfície do ágar telurito - gema de ovo, contido nas placas de Petri, 0,1 mL de cada diluição selecionada, com a ajuda da alça de Drigalsky. O inóculo (0,1 mL) foi cuidadosamente espalhado por toda a superfície do meio de cultura até a total absorção. Posteriormente, as placas foram incubadas a 37°C por 24 e 48 horas. Calculou-se, de acordo com as diluições, as UFC, que se apresentavam negras, brilhantes, convexas e rodeadas por zonas claras de 2 a 5 mm de diâmetro, submetendo-as também aos testes bioquímicos de confirmação, principalmente de termonuclease e de coagulase (SPECK, 1976).

2.6 Determinação do Número Mais Provável (NMP) de coliformes totais

Foram inoculadas três séries de três tubos de ensaio contendo cada um deles 9 mL de caldo lauril sulfato triptose, com 1 mL das diluições 10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3} . Homogeneizou-se e incubou-se a 35°C por 48 horas. O cálculo do número mais provável de coliformes totais foi realizado com o auxílio da tabela de Hoskins (ICMSF, 1978).

2.7 Determinação do NMP de coliformes fecais

Foi empregada a técnica dos tubos múltiplos, utilizando-se o caldo EC. Após a inoculação, os tubos foram incubados a 44,5°C por 24 horas (MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, DO ABASTECIMENTO E DA REFORMA AGRÁRIA, 1991/1992). O cálculo do NMP de coliformes fecais foi efetuado, também, com a ajuda da tabela de Hoskins (ICMSF, 1978).

2.8 Pesquisa de *Escherichia coli*

Uma alíquota dos tubos contendo caldo EC, que apresentavam turbidez, com ou sem gás no

interior do tubo de Durham, foi semeada em placas de Petri contendo o ágar eosina azul de metileno. As colônias foram identificadas utilizando-se os testes bioquímicos, principalmente o IMVIC (MARTH, 1978).

2.9 Pesquisa de *Salmonella* sp

Em 225 mL de caldo lactosado e de água peptonada a 1% foram homogeneizados, respectivamente, 25 g de cada uma das amostras. Os dois meios de cultura continham 0,5% de Na_2SO_4 (ICMSF, 1978). Depois da incubação a 35°C por 24 horas, 1 mL de cada cultivo foi transferido para 10 mL de caldo tetrationato de Kauffmann e 10 mL de caldo selenito cistina, que foram incubados respectivamente a 35 e a 43°C.

Após 24, 48 e 120 horas foram feitas inoculações, em placas de Petri contendo o ágar *Salmonella Shigella* e o ágar verde brilhante, sendo as colônias submetidas aos testes bioquímicos (semeadura em ágar triplice açúcar e ferro, ágar lisina e ferro, realização da prova de urease, degradação do malonato, desaminação da fenilalanina e descarboxilação da lisina) e sorológicos (MARTH, 1978; MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, DO ABASTECIMENTO E DA REFORMA AGRÁRIA, 1991/1992).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados das análises microbiológicas realizadas estão apresentados na TABELA 1.

Independentemente da existência de padrão microbiológico na legislação brasileira vigente (BRASIL, 2001), para as bactérias aeróbias mesófilas, os bolores e as leveduras e os coliformes totais, nestes produtos, as amostras também foram submetidas a estas análises para a verificação da carga microbiana e das condições higiênicas - sanitárias do alimento, que muito poderão refletir as da matéria - prima, do ambiente e do pessoal. A contagem de bactérias aeróbias mesófilas variou de $1,0 \times 10^3$ a $1,5 \times 10^{12}$ UFC/g, a de bolores e de leveduras de < 10 a $7,5 \times 10^5$ UFC/g e o número mais provável de coliformes totais de < 3 a 9 NMP/g.

As contagens elevadas de bactérias aeróbias mesófilas podem sugerir a contaminação da matéria - prima e/ou as condições de processamento inadequadas, além de aumentar a possibilidade de contaminação por patógenos, que podem causar danos a saúde do consumidor e favorecer a deterioração do produto (FRANCO & ALMEIDA, 1992).

Por tanto, cumpre ressaltar que as contagens altas desses microrganismos podem indicar geralmente matérias - primas excessivamente

contaminadas, limpeza e desinfecção de superfícies inadequadas, higiene não adequada na produção ou a combinação destas circunstâncias.

A contagem de bolores e de leveduras obtidas neste estudo variou, como já mencionado, de < 10 a $7,5 \times 10^5$ UFC/g, enquanto que a de fungos filamentosos e de leveduriformes obtida por PRATA et al. (2001) mostrou o resultado entre zero e maior que 10^4 /g.

TANIWAKI & VAN DENDER (1992), verificaram a presença de fungos entre $1,3 \times 10^2$ e $2,8 \times 10^3$ UFC/g do produto.

Após 124 dias de armazenamento as contagens obtidas de mesófilos e a de bolores e de leveduras foram, respectivamente, de $4,2 \times 10^3$ e $5,0 \times 10^4$ UFC/g (SARANTOPOULOS et al., 1994).

A contagem de bolores e de leveduras esteve acima de $5,0 \times 10^3$ UFC/g em 30% das amostras de queijo parmesão analisadas por SALVADOR et al. (2001). Neste trabalho 38,46% apresentaram-se acima desse valor.

Este dado, é de forma geral, superior ao descrito na literatura (GUTIERREZ, CARBALLO & VIDAL, 1988) para este tipo de alimento.

Em queijo tipo parmesão, a presença de elevadas contagens de bolores e de leveduras geralmente indica deficientes condições sanitárias durante o seu processamento ou a utilização de matérias - primas excessivamente contaminadas, o que compromete o seu prazo de validade.

Os fungos são aqueles microrganismos capazes de se desenvolver como sapróbios sobre os mais diferentes materiais, incluindo, aqui, os alimentos frescos e os industrializados, atuando como importantes agentes de deterioração, devido à ação de enzimas como as amilases, as lipases e as proteases.

Os filamentosos são capazes, ainda, de produzir as micotoxinas ao se desenvolverem sobre alimentos dos mais diversos tipos, entre eles os queijos.

Normalmente, os queijos ralados não possuem a umidade suficiente que permita o crescimento dos fungos. Se, entretanto, o controle de umidade for inadequado, e produtos com alto teor de umidade forem empacotados, os fungos podem se desenvolver e produzir micotoxinas, se forem linhagens toxigênicas (LIE & MARTH, 1967).

A extinção do parâmetro de bolores e de leveduras pela legislação vigente não parece coerente por serem estes os mais susceptíveis de sobreviver no queijo ralado pela menor exigência quanto ao conteúdo de umidade.

Além disto, uma vez que os bolores podem produzir as micotoxinas prejudiciais à saúde humana, o seu controle deveria ser mantido pela legislação.

No estudo efetuado por PRATA et al. (2001), após a contagem das UFC/g, realizou-se a identificação das culturas isoladas por técnicas usuais descritas na literatura (LILLY & BARNETT,

1951; LACAZ et al., 1984), identificando-se então, como pertencentes aos gêneros *Aspergillus*, *Penicillium*, *Trichosporon*, *Cladosporium* e *Mucor*.

As UFC dos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium* foram semeadas em meio de leite desnatado, verificando-se a positividade para a atividade proteolítica em, respectivamente, 60,5 e 37,6% das testadas.

Foram inoculadas também em meio de coco verificando-se que somente *Penicillium* sp, apresentou a positividade (6,01%) para a produção presumida de micotoxinas.

Certos tipos de fungos são capazes de acarretar, como já citado, sérios problemas à saúde do consumidor, devido a produção de micotoxinas (FRAZIER & WESTHOFF, 1993).

Além disso, o crescimento de fungos nos queijos pode reduzir a quantidade de ácido láctico, favorecendo o desenvolvimento de outros microrganismos potencialmente patógenos, como o *Staphylococcus aureus* (BULLERMAN, 1980).

A atividade proteolítica de microrganismos pode ser desejável em certos alimentos, como na maturação de queijos, no entanto, essa hidrólise também pode produzir uma variedade de alterações sensoriais (SPECK, 1992).

Quanto à presença de aditivos, são permitidos nos queijos ralados o emprego, não podendo superar as concentrações máximas estabelecidas, do conservador ácido sórbico e seus sais de Na, K e Ca - 1000 mg/kg, expressos em ácido sórbico e natamicina - 5 mg/kg (BRASIL, 1997).

O emprego exagerado de conservantes deve ser evitado uma vez que acarretam gastos desnecessários e podem ocasionar efeitos tóxicos ao homem.

De acordo com DAVIDSON & JUNEJA (1989), o ácido sórbico apresenta um amplo espectro de atuação, sendo eficiente na inibição do desenvolvimento de bolores, de leveduras e de várias espécies bacterianas, como a *Salmonella typhimurium*, o *Clostridium botulinum*, a *Escherichia coli*, o *Staphylococcus aureus*, a *Pseudomonas putrefaciens* e a *Pseudomonas fluorescens*, dentre outras.

A sua eficácia depende de vários fatores, dentre eles, o pH, a concentração inicial de microrganismos da amostra e a presença de outros aditivos.

Em valores de pH próximo ao seu pKa (4,75), a atividade antimicrobiana é elevada, decrescendo com o aumento do pH, sendo quase inexistente em pH $> 6,0$.

A quantidade a ser empregada irá depender de vários fatores, como a atividade de água, a contagem microbiana inicial e a microbiota possível de ser encontrada (DAVIDSON & JUNEJA, 1989).

Apesar da baixa toxicidade, são necessários estudos para investigar a concentração ideal a ser

utilizada no queijo ralado, sem os riscos à saúde do consumidor.

Valor superior ao estabelecido pela legislação foi encontrado para o ácido sórbico em 56% de amostras avaliadas por PIMENTEL et al. (2002b.).

Apesar da utilização de substâncias conservadoras, como o sorbato, com a finalidade de inibir o desenvolvimento de microrganismos, sabe-se que existem os fungos sorbato - resistentes, capazes não só de crescer como também de metabolizá-lo. Há aqueles que podem se desenvolver em níveis sub-inibitórios (maior que 0,02%), o que estimularia a produção de micotoxinas (BAUER et al., 1983).

A variabilidade obtida neste trabalho nas contagens de bolores e de leveduras poderia ser indicadora de alteração do conservador, de excesso de contaminação do produto ou de concentração imprópria deste aditivo nas amostras.

Como a legislação federal (BRASIL, 2001) estabelece para o *Staphylococcus aureus*, padrão de 10^3 , as amostras de números 1, 5 e 13 (23,08%) foram classificadas como "produtos em condições sanitárias insatisfatórias" e portanto "produtos impróprios para o consumo humano" (TABELA 1). Os microrganismos destas amostras também apresentaram os resultados típicos aos testes bioquímicos empregados. O percentual de 23,08% foi inferior aquele de 40% obtido por SALVADOR et al. (2001) para as amostras de queijo parmesão ralado.

O *Staphylococcus aureus* pode ser transmitido ao alimento pelo manipulador, visto que possui como habitat as cavidades nasais, as mãos, a boca e as outras partes do corpo humano (ICMSF, 1978; ICMSF, 1980).

Considerando o padrão em vigor para os coliformes fecais neste tipo de produto de 10^3 , todas as amostras (100,00%) foram classificadas como "produtos em condições sanitárias satisfatórias" e portanto "produtos de acordo com o padrão legal vigente" (TABELA 1).

SALVADOR et al. (2001), obtiveram para o queijo parmesão ralado, a baixa incidência de coliformes totais, não sendo detectada também a presença de coliformes fecais em nenhuma das amostras.

As contagens altas de coliformes totais geralmente indicam a contaminação pós - processamento, a limpeza e a sanitização inadequadas ou o conjunto destes fatores.

Os coliformes são considerados microrganismos indicadores (JAY, 1992), isto é, sua presença em determinados alimentos é geralmente indicativa de exposição a condições que podem proporcionar a sua contaminação por organismos patogênicos. A contagem ou a determinação de coliformes tem como finalidade revelar as inadequadas práticas higiênicas e avaliar algumas condições de tratamento ou de conservação dos alimentos, que possam representar

A presença de *Salmonella sp* não foi constatada e/ou confirmada em nenhuma das treze (100,00%) amostras analisadas, o que está de acordo com o padrão de ausência em 25 g estabelecido na legislação (BRASIL, 2001). Por tal motivo, foram classificadas como "produtos em condições sanitárias satisfatórias" e portanto "produtos de acordo com o padrão legal vigente" (TABELA 1).

A ocorrência desse microrganismo em alimentos merece atenção especial devido a gravidade das toxinfecções ocasionadas.

A legislação brasileira vigente considera este microrganismo como sendo de "tolerância zero", ou seja, não há quantidade mínima permitida, a presença de uma única bactéria inviabiliza a utilização do produto.

Não foi detectada também a presença de *Salmonella sp* / 25 g e de coliformes a 45°C nas amostras analisadas por PIMENTEL et al. (2002b.).

Com referência à qualidade microbiológica de queijos ralados, FRANCO & ALMEIDA (1992) avaliaram dez amostras de queijo tipo parmesão ralado embalado a vácuo adquiridas em Niterói, RJ e observaram que 100% delas atenderam aos critérios estabelecidos.

O queijo parmesão geralmente apresenta os menores índices de contaminação. Isto pode ser explicado, pelo menos em parte, pela maior quantidade de NaCl e menor atividade de água (aw) deste tipo de alimento, fatores estes considerados inibitórios para a proliferação de micróbios.

Embora não seja possível identificar, exatamente, a fonte de contaminação dos microrganismos detectados neste trabalho devem ser consideradas as seguintes possibilidades: a má qualidade da matéria - prima e/ou a falta de higiene durante a manipulação e o processamento destes produtos, ou ainda, as condições inadequadas de armazenamento.

Os fatores ambientais como a umidade relativa, a qualidade microbiológica da água e a temperatura, assim como os relacionados com o produto elaborado (pH, aw e acidez) também podem desempenhar um papel fundamental na qualidade microbiológica do produto final.

Segundo UBOLDI EIROA (1981) e ADAMS & MOSS (1997), a atividade de água superior a 0,90 permite o desenvolvimento de bactérias; os valores superiores a 0,80 permitem o de fungos em geral e os superiores a 0,61 o de fungos xerófilos.

O controle da atividade de água, comparado ao teor de umidade, seria o parâmetro mais adequado para avaliar a qualidade de qualquer produto alimentício, incluindo os queijos ralados. Isto acontece porque todas as reações bioquímicas e a atividade microbiana são afetadas diretamente pela atividade de água (FARKAS, 1997; LABUZA, 1975).

Além disto, a atividade de água de um alimento pode ser afetada pela composição deste, ou seja, pela presença e a concentração de substâncias capazes de reter a água (UBOLDI EIROA, 1981; FELLOWS, 1994).

Além de representar um risco à saúde do consumidor, as contaminações microbianas em alimentos, principalmente ocasionadas por deteriorantes, podem causar ainda a perda parcial ou total do produto ou a redução do tempo de vida comercial, com as repercussões econômicas significativas.

Conclui-se finalmente que 23,08% das amostras podem ser uma potencial fonte de toxinfecção alimentar, ocasionando a diminuição da qualidade e do prazo de validade.

4. ABSTRACT

Grated cheese comes from one till four eather crumbling or grating low moisture cheese varieties able to human consumption. In your elaboration must be worked in adequate hygienic - sanitary condition with its handle and raw material getting, otherwise the microorganism growth could occur. The more important microorganism, from among than, we have some that belongs to the Enterobacteriaceae family, which can indicate either faecal contamination or involving infections. According with exposed, this research aimed to define the microbiological quality on grated cheese obtained from the retail trade in the city of São José do Rio Preto - SP, by means of the following analysis: counting of mesophilic aerobic bacteria, moulds and yeasts, *Staphylococcus aureus*, determination of the Most Probable Number (MPN) of total and faecal coliforms, *Escherichia coli* and *Salmonella sp* research. Based on these findings from all (100.00%) analysed samples, it showed that 23.08% were against the established pattern, to *Staphylococcus aureus*, in the Brazilian legislation, so they were classified as "products in not satisfactory sanitary conditions" and so, "products in human inappropriate consumption". Therefore, it can be considered one potential contamination toxin nourish source, nevertheless, causing the quality and expire reduction.

Key-words: microbiological quality, grated cheese, retail trade.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, M. R. & MOSS, M. O. O. Microbiologia de los alimentos. Acribia, S.A., p. 44, 1997.

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION (APHA). Métodos recomendados para o exame microbiológico de alimentos. São Paulo: Polígono, 1972, p. 173-186.

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION (APHA). Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 2. ed., Washington, D.C., 1984, 914 p.

BAUER, J. et al. Effects of food preservatives on mycotoxin production. Microbiologie - Aliments - Nutrition, v. 1, p. 203-209, 1983.

BERGDOLL, M. S. *Staphylococcus aureus*. In: Foodborne bacterial pathogens. New York: Marcel Dekker, p. 463-523, 1989.

BRASIL. Leis, decretos, etc. Portaria n. 357 de 04 de setembro de 1997. Aprova o regulamento técnico para fixação de identidade e qualidade de queijo ralado.

BRASIL. Leis, decretos, etc. Resolução RDC n. 12 de 02 de janeiro de 2001. Aprova o regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. Diário Oficial da União, Brasília - DF, n. 7 - E, seção 1, p. 45-53, 10 de janeiro de 2001.

BROWN, C. Fabricação de queijos: indústria da caseína. Rio de Janeiro, Técnica, s.d., 295 p.

BULLERMAN, L. B. Incidence of mycotoxic molds in domestic and imported cheese. Journal of Food Safety, v. 2, p. 47-58, 1980.

CARMO, L. S. do & BERGDOLL, M. S. Staphylococcal food poisoning in Belo Horizonte (Brazil). Revista de Microbiologia, São Paulo, v. 21, n. 4, p. 320-323, out./dez., 1990.

CARMO, L. S.; DIAS, R. S.; LINARDI, R. V.; SENA, M. J.; SANTOS, D. A.; FARIA, M. E.; PENA, C. E.; JETT, M. & HENEINE, L. G. Food poisoning due to enterotoxigenic strains of *Staphylococcus* present in Minas cheese and raw milk in Brazil. Food Microbiology, v. 10, p. 1-6, 2001.

DANGLA, I. G.; SOLLS, R. M. & BAQUERO, C. Calidade microbiológica de los quesos producidos a nível artesanal en Costa Rica. Archivos Latinoamericanos de Nutrición, v. 35, n. 3, p. 466-479, 1985.

DAVIDSON, P. M. & JUNEJA, V. K. Antimicrobial agents. In: BRANEN, A. L.; DAVIDSON, P. M. & SALMINEN, S. Food Additives. New York: Marcel Dekker, p. 83-137, 1989.

DESENCLOS, J. C.; BOUVET, P.; BENZ - LEMOINE, E.; GRIMONT, F.; DESQUEYROUX, H.; REBIERE, I. & GRIMONT, P. A. Large outbreak of *Salmonella enterica* serotype

paratyphi B infection caused by a goat's milk cheese, France, 1993: a case finding and epidemiological study. *Epidemiology Infection*, v. 115, n. 2, p. 227-230, 1995.

DIAS, R. S.; SILVA, S.; SOUZA, J. M. & VIEIRA, M. B. C. M. Surto de toxinfecção alimentar provocado por queijos comercializados em Minas Gerais, no período de 1992 a 1994. In: XII Congresso Nacional de Laticínios, Juiz de Fora, MG. Anais. p. 143-144, 1995.

ELLIS, A.; PRESTON, M.; BORCZYK, A.; MILLER, B.; STONE, P.; HATTON, B. & HOCKIN, J. A community outbreak of *Salmonella berta* associated with a soft cheese product. *British Medical Journal*, v. 312, n. 7038, p. 1099, 1998.

FARKAS, J. Physical methods of food preservation. In: DOYLE, M. P.; BEUCHAT, L. R. & MONTVILLE, T. J. (Eds.). *Food microbiology, fundamentals, and frontiers*. ASM Press, Washington, D.C., USA, p. 497-519, 1997.

FELLOWS, P. Princípios básicos. In: *Tecnologia del procesado de los alimentos: principios y prácticas*. Zaragoza: Acribia, S.A., 1994, cap. I, p. 9-51.

FLORENTINO, E. R. & MARTINS, R. S. Características microbiológicas do "queijo de coalho" produzido no Estado da Paraíba. *Higiene Alimentar*, São Paulo, v. 13, n. 59, p. 43-48, jan./fev., 1999.

FRANCO, R. M. & ALMEIDA, L. E. F. de. Avaliação microbiológica de queijo ralado, tipo parmesão, comercializado em Niterói, RJ. *Higiene Alimentar*, São Paulo, v. 6, n. 21, p. 33-36, mar., 1992.

FRAZIER, W. C. & WESTHOFF, D. C. *Microbiologia de los alimentos*. 4a. ed., Zaragoza: Acribia, 1993, p. 583-592.

GARCIA - CRUZ, C. H.; HOFFMANN, F. L. & VINTURIM, T. M. Estudo microbiológico de queijo tipo minas - fresco 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, jun./dez., 1994.

GENIGEORGIS, C. Present state of knowledge on staphylococcal intoxication. *International Journal of Food Microbiology*, v. 9, n. 4, p. 327-360, 1989.

sulla presenza di *Salmonella* in alimenti di origine animale. (Epidemiologic investigation on *Salmonella* presence in animal origin food). *Industria Alimentari*, v. 27, n. 370, p. 604-608, 613, may, 1998.

GUTIERREZ, L. M.; CARBALLO, J. & VIDAL, I. Evolución de los principales grupos de microorganismos durante la elaboración y maduración del queso de Valdeleja. *Anais de la Facultad de Veterinaria de León*, v. 34, p. 119-126, 1988.

HARRIGAN, W. F. & MC CANCE, M. E. *Laboratory methods in food dairy microbiology*. N.Y.: Academic Press, 1976, 353 p.

INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS (ICMSF). *Microorganisms in foods: 2. Sampling for microbiological analysis: principles and specific applications*. Toronto: University of Toronto Press, 1974, 213 p.

INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS (ICMSF). *Microorganisms in foods: their significance and methods of enumeration*. Toronto: University of Toronto Press, 1978, 434 p.

INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS (ICMSF). *Microbial ecology of foods*. New York: Academic Press, v. 2, 1980, 997 p.

JAY, J. M. *Microbiologia moderna de los alimentos*. 3a. ed., Zaragoza: Acribia, 1992, p. 490-496.

LABUZA, T. P. Interpretation of sorption data in relation to the state of constituent water. In: DUCKWORTH, R. B. (Ed.). *Water relations of foods*. Academic Press, London, 1975, 716 p.

LACAZ, C. S. et al. *Micologia médica: fungos, actinomicetos e algas de interesse médico*. 7a. ed., São Paulo, Sarvier, 1984, 479 p.

LIE, J. V. & MARTH, E. H. Formation of aflatoxin in Cheddar cheese by *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus*. *Journal of Dairy Science*, v. 50, n. 10, p. 1708-1710, 1967.

LILLY, V. G. & BARNETT, H. L. *Physiology of fungi*. 1a. ed., New York, McGraw - Hill, 1951, 464 p.

MARTH, E. E. *Standard methods for the examination of dairy products*. 14 ed., Washington, APHA, 1978, 416 p.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, DO ABASTECIMENTO E DA REFORMA AGRÁRIA. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Departamento Nacional de Defesa Animal. Coordenação Geral de Laboratório Animal. *Métodos de análise microbiológica para alimentos*. Brasília - DF, 1991/1992, 2ª. revisão, 136 p.

MOSQUIM, M. C. Queijo ralado. In: SANTOS, J. A. *Nova legislação comentada*. São Paulo: Fonte Comunicações, 1998, p. 95-100.

PIMENTEL, E. F.; DIAS, R. S.; CARMO, L. S. & GLÓRIA, M. B. A. Presença de *Staphylococcus sp* enterotoxigênico e de enterotoxinas em queijo ralado. In: XIX Congresso Nacional de Laticínios, Juiz de Fora, MG. Anais. p. 227-229, 2002a.

PIMENTEL, E. F.; DIAS, R. S.; RIBEIRO - CUNHA, M. & GLÓRIA, M. B. A. Avaliação da rotulagem e da qualidade físico - química e microbiológica de queijo ralado. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, v. 22, n. 3, p. 289-294, set./dez., 2002b.

PRATA, A. F. G.; KRAEMER, F. B.; FLORIDO, P. S. S.; SGARBI, D. B. da G. & STUSSI, J. S. P. Fungos toxigênicos e proteolíticos isolados de queijo tipo parmesão ralado e embalado, comercializado em Niterói, RJ. *Higiene Alimentar*, São Paulo, v. 15, n. 83, p. 49-52, abr., 2001.

RATNAM, S.; STRATTON, F.; O'KEEFE, C.; ROBERTS, A.; YETMAN, M.; SQUIRES, S.; KHAKHRIA, R. & HOCKIN, J. *Salmonella enteritidis* outbreak due to contaminated cheese - New foundland. *Journal of Food Products*, v. 62, n. 1, p. 26-29, 1999.

SALVADOR, M.; CAMASSOLA, M.; MOSCHEN, E. S. & ZANROSSO, A. V. Avaliação da qualidade microbiológica de queijo prato e parmesão ralado. *Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos*, Curitiba, v. 19, n. 1, p. 65-74, jan./jun., 2001.

SARANTÓPOULOS, C. I. G. L.; ALVES, R. M. V.; MORI, E. E. M. & VENEGA, M. A. Efeito de embalagem com atmosfera modificada na preservação de queijo parmesão ralado. *Anais do XII Congresso Nacional de Laticínios - CEPE - ILCT - EPAMIG*, p. 176-177, Juiz de Fora - MG, 25 a 29 de julho de 1994.

SPECK, M. L. *Compendium of methods for the microbiological examination of foods*. APHA, 1976, 702 p.

SPECK, M. L. *Compendium of methods for the microbiological examination of foods*. 3a. ed., Washington, American Public Health Association, 1992, 1912 p.

SUDHAKAR, P.; NAGESWARA, R. R.; RAMESH, V. B. & GUPTA, C. P. The economic impact of a foodborne disease outbreak due to *Staphylococcus aureus*. *Journal of Food Protection*, v. 51, n. 11, p. 898-900, 1988.

TANIWAKI, M. H. & VAN DENDER, A. G. F. Occurrence of toxigenic molds in Brazilian cheese. *Journal of Food Protection*, v. 55, n. 3, p. 187-191, mar., 1992.

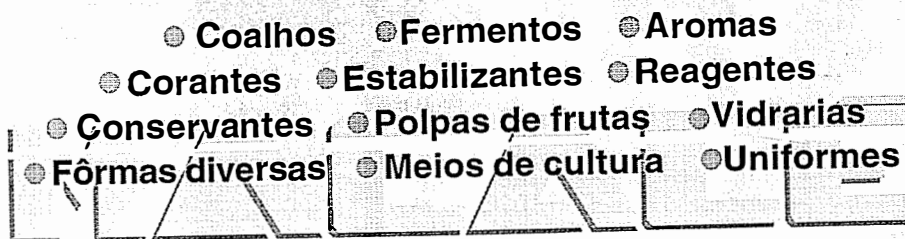
TAWFER, N. F.; SHARAF, O. M. & HEWEDY, M. M. Incidence of several pathogens and staphylococcal enterotoxins in Kariesh cheese. *Journal of Applied Microbiology*, v. 85, n. 3, p. 537-544, 1998.

UBOLDI EIROA, M. N. Atividade de água: influência sobre o desenvolvimento de microorganismos e métodos de determinação em alimentos. *Boletim do Instituto de Tecnologia de Alimentos*, Campinas, v. 18, n. 3, p. 353-383, jul./set., 1981.

VALLE, J.; GOMEZ - LUCIA, E.; PIRIZ, S.; GOYACHE, J.; ORDEN, J. A. & VADILLO, S. Enterotoxin production by *Staphylococci* isolated from healthy goats. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 56, p. 1323-1326, 1990.

A melhor companhia para o seu produto

*Os produtos Macalé possuem mais do que
a experiência de uma empresa pioneira,
possuem antes a qualidade de quem
soube se antecipar ao futuro.*



Faça do MACALÉ seu parceiro em ingredientes
e acessórios para seu laticínio.

MACALÉ

Distribuidor Autorizado

CHR HANSEN

Produtos Macalé Ltda.
Rua Humberto de Campos, 42/44 - Santa Terezinha
CEP 36045-450 - Juiz de Fora - MG
Televendas: (32) 3224-3035
E-mail: macalejf@terra.com.br

EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO COM METIONINA SOBRE A PRODUÇÃO E COMPOSIÇÃO GRAXA DO LEITE DE VACAS DA RAÇA HOLANDESA¹

Effect of supplementation with methionine on milk production and fat composition of
dairy holstein cows

Juliana Borsari Dourado Sancanari²
Jane Maria Bertocco Ezequiel³
Expedita Maria de Oliveira Pereira⁴
Luciola de Sá Bertossi⁵
Sérgio do Nascimento Kronka⁶
Makoto Matsushita⁷

RESUMO

Foram utilizadas oito vacas da raça Holandesa, multíparas, divididas em dois grupos de acordo com a produção de leite (PL) ao parto, sendo o grupo 1 constituído por vacas com produção de leite $\geq 25,0$ kg/dia e o grupo 2, com produção de leite $< 25,0$ kg/dia. O objetivo foi avaliar o efeito da suplementação com 8,4 g/dia de metionina protegida da degradação ruminal (MPDR) ou 8,4 g/dia de metionina não protegida da degradação ruminal (MNPDR) ou, ainda, mistura de metioninas (50%MPDR + 50% MNPDR), comparativamente a vacas controle, sobre a produção e composição do leite durante pico, pós-pico e meio da lactação. As vacas foram alimentadas com ração completa, composta por silagem de milho e concentrado. O delineamento experimental foi um ensaio rotativo balanceado 4 x 4. A PL, a produção de leite corrigida, os teores e as produções de lactose, gordura, sólidos totais e sólidos não gordurosos não foram afetados nas diferentes fases da lactação, para os dois grupos de vacas estudados. No meio da lactação, as vacas do grupo 1 suplementadas com mistura de metioninas apresentaram as produções de leite e os teores de gordura mais elevados quando comparadas às vacas suplementadas com MNPDR, sugerindo que a mistura de metioninas tenha disponibilizado maiores quantidades de metionina para formação da proteína microbiana e para absorção no intestino. As produções de leite e os teores de gordura obtidas foram 23,9 kg/dia e 2,4 %; 22,6 kg/dia e 2,3%; 25,3 kg/dia e 2,5% e 24,2 kg/dia e 2,4%, respectivamente, para vacas do grupo 1 suplementadas com MPDR, MNPDR, mistura de metionina e controle, respectivamente, no meio da lactação.

Palavras-chave: ácidos graxos, gordura, lactose, sólidos, metionina protegida da degradação ruminal, metionina solúvel.

INTRODUÇÃO

A intensificação no processo de produção de leite e a utilização de vacas com elevada produção de leite têm levado pesquisadores da nutrição de ruminantes a buscarem fontes alternativas de alimentos que possam suprir esta grande demanda de nutrientes dos animais, pois sabe-se que estas vacas são altamente exigentes em proteína e energia. Deste modo, níveis de energia e de proteína da dieta têm sido os principais nutrientes pesquisados.

Segundo Schwab et al. (1992 a e b), vacas de alta produção, no início da lactação, são altamente exigentes em aminoácidos, principalmente em metionina e lisina, considerados aminoácidos essenciais para essa categoria animal, tendo assim, que serem adicionados à dieta, pois a ausência destes aminoácidos podem ser limitantes à produção e à composição do leite, particularmente na síntese de proteína e de gordura do leite em diferentes estágios da lactação.

Em ruminantes, uma parte da gordura do leite é sintetizada na glândula mamária a partir

- 1 Projeto financiado pela FAPESP como parte da Tese de Doutorado do primeiro autor no programa de Pós-Graduação em Zootecnia (Produção Animal) na FCAV-UNESP, Câmpus de Jaboticabal.
- 2 Professora Dra. da Universidade de Franca - SP. E-mail: julianasancanari@hotmail.com.
- 3 Professora Dra. do Departamento de Zootecnia da FCAV-UNESP - E-mail: janembe@fcav.unesp.br.
- 4 Aluna regular do curso de Pós-Graduação em Zootecnia na FCAV-UNESP.
- 5 Médica Veterinária.
- 6 Pesquisador do CNPq.
- 7 Professor Dr. do Departamento de Química da Universidade Estadual de Maringá - PR.

dos ácidos graxos voláteis, oriundos da fermentação ruminal, e a outra parte, a partir dos ácidos graxos que se encontram no sangue (Alais, 1971). Assim, a alimentação exerce grande efeito sobre a composição da matéria graxa do leite, sendo que o estágio da lactação e a idade da vaca também podem influenciar.

A gordura do leite é composta por triglicerídeos que são sintetizados no retículo endoplasmático das células epiteliais da glândula mamária. Os ácidos graxos que compõem os triglicerídeos podem vir do sangue ou pela "síntese de novo" nas células epiteliais (Fonseca & Santos, 2000). Os ácidos graxos de cadeia longa podem ser transferidos da corrente sanguínea para a glândula mamária, porém a maior parte dos triglicerídeos encontrados no leite são de cadeia curta. Os lipídeos encontram-se dispersos no leite na forma globular. Esta dispersão é instável e as substâncias que as compõem são mais fáceis de serem modificadas que os outros componentes do leite (Alais, 1971).

Atualmente, várias pesquisas têm sido realizadas com o intuito de se verificar qual a melhor forma de suprir essa essencialidade em aminoácidos.

Bremmer et al. (1997); Sancanari et al. (2000); Sancanari et al. (2001) suplementaram as vacas com metionina protegida e não protegida da degradação ruminal (solúvel em água) e verificaram que a suplementação aumentou o teor de gordura do leite; no entanto os mecanismos envolvidos neste processo ainda não estão definidos.

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da suplementação com metionina protegida e não protegida da degradação ruminal sobre a produção, a composição graxa e a lactose do leite de vacas da raça Holandesa alimentadas com ração completa durante o pico, pós-pico e meio da lactação.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido na Fazenda Bela Vista, localizada no município de Pirangi, no Estado de São Paulo e teve a duração de 120 dias de lactação.

Foram utilizadas oito vacas múltiparas, de 2ª a 4ª ordem de lactação, da raça Holandesa, puras de origem, malhadas de preto, com peso médio de 603 kg e produção média diária ao parto ≥ 20 kg/leite/dia em duas ordenhas diárias.

Tabela 1. Consumo estimado de matéria seca e de nutrientes dos ingredientes da ração.
Estimated voluntary intake of dry matter and nutrients of the ingredients of the ration.

Ingredientes <i>Ingredients</i>	MS <i>DM</i>	PB <i>CP</i>	PDR <i>DIP</i>	PNDR <i>UIP</i>	FDN <i>NDF</i>	FDA <i>ADF</i>	NDT <i>TND</i>	MET <i>MET</i>	LIS <i>LYS</i>
	kg/dia kg/day								
Milho moído <i>Corn ground</i>	1,14	0,10	0,06	0,04	0,26	0,05	0,95	0,002	0,003
Polpa de Cítrica <i>Citrus pulp</i>	1,74	0,60	0,40	0,02	0,40	0,39	0,94	0,006	0,015
Farelo de Soja <i>Soya bean meal</i>	2,29	1,02	0,66	0,36	0,45	0,25	1,67	0,015	0,064
Farelo de Trigo <i>Wheat meal</i>	3,98	0,68	0,54	0,14	2,04	0,39	2,47	0,011	0,028
Farelo de Algodão <i>Cotton seed meal</i>	2,06	0,82	0,47	0,35	0,61	0,47	1,44	0,013	0,034
Mistura vit.-min. <i>Mixture</i>	0,33	-	-	-	-	-	-	-	-
Tamponante <i>Buffer</i>	0,11	-	-	-	-	-	-	-	-
Silagem de Milho <i>Corn silage</i>	10,12	0,75	0,52	0,23	5,65	2,62	6,98	0,011	0,019
Total <i>Total</i>	21,84	3,97	2,65	1,14	9,41	4,17	14,46	0,058	0,162

MS matéria seca; PB proteína bruta; PDR proteína degradável no rúmen; PNDR proteína não degradável no rúmen; FDN fibra em detergente neutro, FDA fibra em detergente ácido; NDT nutrientes digestíveis totais; MET metionina L¹ lisina
CP crude protein; DIP degradable intake protein; UIP undegradable intake protein; NDF neutral detergent fiber, ADF acid detergent fiber; total nutrients digestible; MET methionine L¹ lysine

A produção inicial de leite das vacas após o parto foram: 25,0; 25,1; 25,4; 25,1; 20,6; 22,0; 20,0 e 22,0 kg/dia. De acordo com esta produção, as vacas foram divididas em dois grupos. O grupo 1 foi constituído por vacas com produção média de leite $\geq 25,0$ kg/dia e o grupo 2, por vacas com produção média de leite $< 25,0$ kg/dia, porém com produção de leite superior a 20,0 kg/dia. A diferença na data de parição entre a primeira e a última vaca foi de 13 dias. Após o parto, as vacas foram transferidas ao confinamento onde permaneceram durante todo o experimento.

As fontes de metionina utilizadas foram: metionina protegida da degradação ruminal (MPDR), produto comercial SMARTAMINETM M composto por 70% de metionina e metionina não protegida da degradação ruminal (MNPDR), fabricados pela *Aventis (Animal Nutrition)* na França.

Segundo as recomendações do NRC (1989), foi formulada uma ração completa, para atendimento das exigências nutricionais de vacas de leite em proteína e energia, pesando aproximadamente 600 kg, com produção de leite de 26 kg/vaca/dia, matéria graxa de 3,5 %, cuja relação volumoso: concentrado foi de 46:54 % e o teor de proteína bruta de 18,1%, na matéria seca. Na Tabela 1, encontra-se o consumo de matéria seca e de nutrientes da ração.

Como volumoso utilizou-se silagem de milho confeccionada com milho AG 1051 da Agrocere. O concentrado foi composto por milho moído, polpa cítrica, farelo de soja, farelo de trigo, farelo de algodão, mistura vitamínico-mineral e tamponante.

As vacas foram alimentadas em grupo porque esta ração foi formulada para ser fornecida ao lote de vacas de maior produção da fazenda e não apenas as vacas do experimento. A ração completa foi oferecida em três refeições diárias: às 8 h, às 14 h e às 17 h e suplementadas ou não com as diferentes fontes e proporções de metionina, de modo a constituir quatro diferentes tratamentos:

- 1- Tratamento Controle - ausência de fontes de metionina, as vacas receberam 8,4 g/dia de ração concentrada (placebo);
- 2- Tratamento Metionina Protegida da Degradação Ruminal (MPDR) - as vacas receberam 8,4 g/dia de metionina protegida da degradação ruminal;
- 3- Tratamento Metionina Não Protegida (MNPDR) - as vacas receberam 8,4 g/dia de metionina não protegida da degradação ruminal (metionina solúvel);
- 4- Tratamento Mistura (MPDR + MNPDR) - as vacas receberam 4,2 g/dia de MPDR (produto comercial SMARTAMINETM M) + 4,2 g/dia de MNPDR (metionina solúvel), respectivamente.

As fontes de metionina foram fornecidas aos animais, individualmente, após a ordenha da manhã (aproximadamente às 9 horas), diretamente na boca e separadamente dos alimentos, certificando que cada vaca houvesse ingerido a quantidade de metionina preestabelecida. As vacas controle receberam um "placebo", diretamente na boca, simulando o mesmo estresse das vacas suplementadas com fontes de metionina, para evitar variações nos resultados.

Os animais foram ordenhados duas vezes ao dia às 6 e às 15 horas. Antes de se iniciar cada ordenha, foi efetuada a limpeza pré ordenha nos tetos e o teste da caneca de fundo preto. Ao final de cada ordenha, foi realizada a limpeza pós ordenha.

O experimento iniciou-se no 13º dia, após a última vaca parir, e teve duração de 120 dias, sendo dividido em três períodos da lactação denominados: pico, pós-pico e meio da lactação.

O planejamento e esquema das etapas experimentais encontra-se na Tabela 2.

Cada período da lactação foi subdividido em 4 subperíodos de 10 dias, correspondendo a 9 dias de adaptação e 1 dia de colheita de dados e amostragem de leite, de alimento e de sobras. Terminado cada subperíodo de 10 dias, as vacas foram adaptadas ao tratamento seguinte e, assim, consecutivamente (Schwab et al., 1992 a e b, Sancanari et al., 2001).

O primeiro período de adaptação iniciou-se, aproximadamente, aos 25º e 13º dia de lactação, respectivamente da primeira e da última vaca a parir, pois, nesta fase, as vacas já haviam encerrado a fase de colostro e os restos placentários haviam sido eliminados.

Ao longo do experimento, o período de adaptação teve a duração de 9 dias consecutivos e foi seguido sempre pelo período de colheita equivalente a 1 dia, de forma consecutiva e ininterrupta. Então, a cada subperíodo experimental de 10 dias, os primeiros 9 dias foram de adaptação ao tratamento, dentro do esquema experimental.

Realizou-se o controle leiteiro individual para cada vaca, com anotação das produções de leite de cada ordenha. A amostragem do leite foi realizada da seguinte maneira: após a retirada das teteiras do teto, as mesmas foram viradas para cima e o vácuo novamente ligado, para se obter homogeneização do leite presente no balão e evitar variação na composição do leite entre o início e o final da ordenha. Em seguida, através de uma mangueira lateral, o leite foi recolhido em recipiente de vidro graduado, hermeticamente fechado e amostrado de acordo com a produção (10% da produção por ordenha).

O leite da ordenha da manhã foi armazenado em geladeira e, posteriormente, misturado ao leite da ordenha da tarde. A amostra de leite composta foi encaminhada aos laboratórios para serem efetuadas as análises.

A matéria gorda, sólidos totais e lactose foram determinados, utilizando-se o equipamento BENTLEY 2000; (BENTLEY INSTRUMENTS). Os teores de sólidos não gordurosos foram obtidos pela diferença entre sólidos totais e teores de gordura.

A produção de leite corrigida para 3,5% de gordura foi calculada, segundo Piepenbrink et al. (1996).

Para a análise de ácidos graxos do leite amostras de 250 mL de leite foram congeladas no dia da colheita e, posteriormente, descongeladas em geladeira e centrifugadas a 3000 rpm por 10 minutos, para que ocorresse a separação da gordura. Transferiu-se a gordura sobrenadante para tubos de filme e deixou-se no freezer por uma noite.

Em seguida, realizou-se a transesterificação dos triacilgliceróis para que os lipídios totais fossem submetidos ao processo de saponificação e metilação, conforme método 5509 da ISO (1978). A fase

superior (n-heptano e ésteres metílicos de ácidos graxos) foi transferida para frascos de 5mL, fechados hermeticamente e armazenados em congelador (-18°C), para posterior análise cromatográfica. Os ésteres de ácidos graxos foram separados em um cromatógrafo gasoso 14-A (Shimadzu, Japão), equipado com coluna capilar de sílica fundida (50m de comprimento; 0,25 mm de diâmetro interno e 0,20mm de Carbowax 20M) e detector de ionização de chama. Os fluxos dos gases foram de 1,2 mL.min⁻¹ para o gás de arraste H₂, 30 mL.min⁻¹ para o gás auxiliar ("make-up") N₂, e 30 e 300 mL.min⁻¹ para os gases da chama H₂ e ar sintético, respectivamente. A razão de divisão ("split") da amostra foi de 1:100. A temperatura da coluna foi de 150°C por 5 minutos, sendo, então, elevada para 240°C a uma taxa de 2°C.min⁻¹. As temperaturas do injetor e detector foram 220°C e 245°C, respectivamente. As injeções foram realizadas em triplicatas e o volume de injeção

Tabela 2. Esquema e planejamento das etapas experimentais
Scheme and planning of the experiments stages

Períodos da lactação <i>Periods of lactation</i>	Pico <i>Peak</i>	Pós-Pico <i>Post-peak</i>	Meio <i>Middle</i>
Início do experimento <i>Beginning of the experiment</i>			
Dias após o parto da primeira vaca <i>Days after first cow nursing</i>	25 a 64	65 a 105	106 a 145
Diferença entre partos (dias) <i>Difference among nursing (days)</i>		13	
Tratamentos (g/dia) <i>Treatments (days)</i>			
Controle (ausência de fontes de metionina) <i>Control (absence of methionine sources)</i>	-	-	-
MPDR <i>RPM</i>	8,4	8,4	8,4
Mistura de metioninas (MPDR + MNPDR) <i>Mixture of methionines (RPM+RNPM)</i>	4,2 + 4,2	4,2 + 4,2	4,2 + 4,2
MNPDR <i>RNPM</i>	8,4	8,4	8,4
Subperíodos Experimentais (dias) <i>Experimental subperiods (days)</i>			
Adaptação <i>Adaptation</i>	9	9	9
Colheita <i>Crop</i>	1	1	1
Total <i>Total</i>	10	10	10
Período experimental (dias) <i>Experimental periods (days)</i>		120	
Período de lactação <i>Period of lactation</i>	40	40	40

foi de 1mL. As áreas dos picos foram determinadas pelo método da normalização, utilizando-se um Integrador-Processador CG-300 (Instrumentos Científicos CG), e a identificação dos picos foi feita por comparação dos tempos de retenção de padrões de ésteres metílicos de ácidos graxos.

As amostras dos ingredientes da ração foram colhidas em cada subperíodo experimental durante os dias de colheita, e submetidas a análises químico-bromatológicas para determinação da MS, PB, FDN e FDA segundo Silva (1990). Os consumos estimados de NDT, PDR, PNDN, MET e LIS foram obtidos segundo NRC (1989).

As vacas foram distribuídas em quadrados latinos num ensaio rotativo balanceado 4 x 4, conforme Patterson & Lucas (1962). Os dados de cada fase experimental foram submetidos à análise de variância pelo teste de F, e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5%.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Produção de leite e Lactose

Na Tabela 3, encontram-se os resultados obtidos para produção de leite, produção de leite corrigida para 3,5% de gordura e lactose, nas diferentes fases da lactação para os diferentes grupos de vacas estudados.

No pico da lactação, independente do nível de produção das vacas (grupos 1 e 2), não foram observados efeitos ($P > 0,05$) sobre a produção de leite, quando estas foram alimentadas com ração completa, segundo as recomendações do NRC (1989) e suplementadas com fontes de metionina. Concordando com estes resultados, Sanzanari et al. (2001) não observaram diferenças significativas sobre a produção de leite, quando suplementaram as vacas com 8,4 g/dia de MPDR (27,1 kg de leite/dia), ou 8,4 g/dia de MNPDR (27,6 kg de leite/dia), comparativamente a vacas controle (27,7 kg de leite/dia) durante 90 dias de lactação. Estes autores comentaram que a ausência de efeito sobre a produção de leite poderia estar associada à utilização de vacas primíparas; porém, nesta pesquisa, utilizaram-se apenas múltiparas e o efeito sobre a produção de leite não foi observado até 145 dias da lactação.

A ausência de efeito sobre a produção de leite havia sido observada em pesquisas conduzidas por Pisulewski et al. (1996), Bertrand et al. (1996), Overton et al. (1996), Piepenbrink et al. (1996), Armentano et al. (1997) e Sanzanari et al. (2000). Discordando destes pesquisadores, Schwab et al. (1992 a) verificaram que, no pico da lactação, vacas suplementadas com metionina e lisina tenderam a apresentar aumentos na produção de leite e concluíram que a lisina foi o primeiro e a metionina o segundo aminoácido limitante à produção de leite.

Posteriormente, Schwab (1996) comentou que, geralmente, os aumentos na produção de leite ocorrem no início da lactação, sendo estes aumentos pequenos e, muitas vezes, inconsistentes. Para Rulquin et al. (1993) raramente excederam 1,0 kg/dia, quando as vacas foram suplementadas com metionina.

Embora Sanzanari et al. (2000) não verificassem diferenças significativas sobre a produção de leite, observaram que vacas suplementadas com MPDR produziram 8 e 13% mais leite quando compararam com vacas suplementadas com MNPDR e vacas controle, aspecto interessante do ponto de vista econômico. Neste trabalho, as produções de leite de vacas do grupo 1, no pico da lactação, suplementadas com MPDR e MNPDR, foram semelhantes (25,2 kg/dia em média). Para o grupo 2, quando suplementadas com MPDR, as vacas apresentaram superioridade de 4% na produção de leite quando comparadas às suplementadas com MNPDR e inferioridade de 2% em relação às vacas controle.

Resultados obtidos por Robert & Sloan (1994), ao suplementarem as vacas com 15 g/dia de MPDR, mostraram que a produção de leite foi aumentada nas seis primeiras semanas da lactação em 5%.

Após o pico da lactação, a produção média diária de leite não foi influenciada ($P > 0,05$) pela suplementação com fontes de metionina, porém se observou que vacas do grupo 1 responderam diferentemente, quando comparadas às vacas do grupo 2 dentro de cada tratamento. As vacas do grupo 1 apresentaram diminuição na produção de leite do pico para o pós-pico como já era esperado. Vacas de menor produção de leite (grupo 2), que se encontravam com 65 a 105 dias em lactação, apresentaram aumentos na produção de leite em relação à fase anterior, sugerindo que, nesta fase, houve um prolongamento na obtenção do pico da lactação, sendo os aumentos mais elevados para vacas suplementadas com metionina. Os aumentos foram, respectivamente, 27, 33, 31 e 23% para vacas suplementadas com MPDR, MNPDR, mistura e controle.

Isto sugeriu que, no pós-pico da lactação, o efeito da suplementação com fontes de metionina esteve mais associada a vacas com produções médias de leite inferiores a 25,0 kg/dia, do que a vacas de produções médias de leite superiores a 25,0 kg/dia.

No meio da lactação, tanto para o grupo 1 quanto para o grupo 2 de vacas, as produções médias diárias de leite não foram afetadas ($P > 0,05$) pela suplementação com MPDR ou MNPDR. No entanto quando as vacas do grupo 1 foram suplementadas com mistura de metioninas, apresentaram produções de leite significativamente superiores às suplementadas com MNPDR.

Schwab et al. (1992 a) obtiveram diferenças significativas na produção de leite no meio da lactação, sendo as maiores produções observadas

para vacas suplementadas com caseína e as menores produções, quando suplementaram com MPDR.

Inesperadamente, as vacas do grupo 1 apresentaram produção de leite crescente do pós-pico para o meio da lactação, exceto para vacas

suplementadas com MNPDR. Os aumentos foram de 10, 13 e 4%, respectivamente, para vacas suplementadas com MPDR, mistura e controle.

Vacas do grupo 1, no meio da lactação, que receberam mistura de metioninas, apresentaram

Tabela 3. Produção de leite (PL), produção de leite corrigida para 3,5% de gordura (PLC) e lactose, nas diferentes fases da lactação, para vacas de maior produção de leite (grupo 1) e de menor produção de leite (grupo 2)
Milk production (MP), 3,5 %milk fat corrected (MFC) and lactase, in the different phases of lactation, for cows with higher production (group 1) and of smaller milk production (group 2)

		Fases da Lactação Phases of lactation					
Tratamentos Treatments		Pico Peak	Pós-pico Post-peak		Meio Middle		
		Grupo 1 Group 1	Grupo 2 Group 2	Grupo 1 Group 1	Grupo 2 Group 2	Grupo 1 Group 1	Grupo 2 Group 2
PL MP (kg/dia) (kg/day)	MPDR	25,2 aA	21,0 aB	21,7 aB	26,8 aA	23,9 abA	23,4 aA
	RPM						
	MNPDR	25,2 aA	20,2 aB	22,9 aB	26,9 aA	22,6 bA	23,0 aA
	RNPM						
	Mistura Mixture	25,5 aA	20,4 aB	20,6 aB	26,8 aA	25,3 aA	24,3 aA
PLC3,5%G 3,5% MFC (kg/dia) (kg/day)	Controle Control	25,3 aA	21,5 aB	23,4 aB	26,6 aA	24,2 abA	22,7 aA
	MPDR	22,2 aA	18,8 aA	17,5 aA	21,3 aA	20,1 aA	19,8 aA
	RPM						
	MNPDR	25,5 aA	16,5 aA	24,5 aA	23,0 aA	21,1 aA	19,7 aA
	RNPM						
Lactose Lactase (%) (%)	Mistura Mixture	24,0 aA	20,2 aA	17,0 aA	19,7 aA	23,9 aA	21,9 aA
	Controle Control	23,9 aA	19,0 aA	23,1 aA	21,2 aA	23,4 aA	17,9 aA
	MPDR	4,7 aA	4,3 aA	4,5 aA	4,5 aA	4,5 aA	4,3 aA
	RPM						
	MNPDR	4,7 aA	4,2 aA	4,6 aA	4,5 aA	4,6 aA	4,2 aA
Lactose Lactase (kg/dia) (kg/day)	RNPM	4,8 aA	4,8 aA	4,0 aA	4,6 aA	4,6 aA	4,4 aA
	Mistura Mixture	4,8 aA	4,4 aA	4,3 aA	4,5 aA	4,6 aA	4,3 aA
	Controle Control						
	MPDR	1,2 aA	0,9 aB	1,0 aA	1,2 aA	1,1 aA	1,0 aA
	RPM						
Lactose Lactase (kg/dia) (kg/day)	MNPDR	1,2 aA	0,9 aB	1,0 aA	1,2 aA	1,0 aA	1,0 aA
	RNPM						
	Mistura Mixture	1,2 aA	0,9 aB	0,8 aA	1,2 aA	1,2 aA	1,1 aA
	Controle Control	1,2 aA	0,8 aB	1,0 aA	1,2 aA	1,2 aA	1,0 aA

^{a,b} Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P>0,05$). ^{a,b} Means followed by same small letter in the column do not differ to each other for the Tukey test ($P>0,05$).

^{A,B} tratamento, médias seguidas de mesma letra maiúscula na linha não diferem entre grupos de vacas pelo teste de Tukey ($P>0,05$). ^{A,B} treatment, means followed by some letter capital in the line do not differ among groups of cows for the Tukey test ($P>0,05$).

produções de leite mais elevadas em 6 e 4%, comparativamente às vacas suplementadas com MPDR e controle, embora não tenham diferido ($P>0,05$) de vacas suplementadas com MPDR e controle, entretanto quando as vacas foram suplementadas com MNPDR apresentaram produções de leite significativamente inferiores em 6, 12 e 7%, quando comparadas às vacas suplementadas com MPDR, mistura e controle.

Sancanari et al. (2001) avaliaram a produção de leite por 90 dias da lactação e observaram que as vacas multiparas produziram 2% menos de leite, quando foram suplementadas com MPDR, em relação às vacas controle. Este efeito levou os autores a suspeitarem que a suplementação com metionina aumentasse o carregamento de nutrientes para o ciclo de produção de gordura em detrimento a produção de lactose. Nesta pesquisa, este efeito não foi evidenciado.

A produção de leite corrigida para 3,5% de gordura (Tabela 3) não foi afetada significativamente pela suplementação com metionina, para ambos os grupos de vacas, nas três diferentes fases da lactação estudadas. Resultados semelhantes foram obtidos por Bertrand et al. (1996), Piepenbrink et al. (1996), Bremmer et al. (1997) e Sancanari et al. (2001). Contrariamente, Overton et al. (1996) observaram aumentos de aproximadamente 7,5% na PLC, quando suplementaram com 20 g/dia de MPDR vacas no final da lactação (286 dias). Embora estes autores não tenham observado diferenças significativas na produção de leite e nos teores de gordura, a produção de gordura no leite foi 8,8% superior quando as vacas foram suplementadas com MPDR ($P<0,05$).

Os teores de lactose no leite encontram-se na Tabela 3 e não foram alterados ($P>0,05$) diante da suplementação com metionina, concordando com os resultados obtidos por Pisulewski et al. (1996) e Rios et al. (1999).

Aumentos nas produções de leite deveriam estar associados a aumentos na concentração de lactose no leite, o que não foi evidenciado neste estudo. Este dissacarídeo (composto de dois açúcares: glicose e galactose) é considerado o precursor da produção de leite, ou seja, o principal determinante no volume do leite (Fonseca & Santos, 2000).

A glicose que a vaca necessita para a produção de lactose é produzida no fígado pela neoglicogênese, pelo metabolismo do ácido propiônico (obtido a partir da fermentação ruminal dos carboidratos dietéticos) e de alguns aminoácidos (Fonseca & Santos, 2000). Cerca de 25% da glicose sanguínea é removida nos tecidos mamários, sendo a maior parte da glicose que entra nas células secretoras (60 a 70%) usada para a síntese de lactose, podendo ser utilizada, também, na síntese de proteína do leite e usada como precursora para a síntese de glicerol e da gordura do leite. Neste

estudo no meio da lactação, a glicose sanguínea pareceu estar associada mais à síntese de gordura do leite do que a de lactose no grupo 2, porque teores mais elevados de gordura no leite foram evidenciados quando as vacas foram suplementadas com mistura de metioninas.

Para ambos os grupos de vacas, nas três fases da lactação estudadas, os teores de lactose estiveram muito próximos ao sugerido por Fonseca & Santos (2000) de 4,56%. Robinson et al. (1999) verificaram pequenos aumentos no teor de lactose quando suplementaram com metionina e lisina. Desta forma, a produção de lactose esteve estritamente associada às produções de leite (Tabela 3).

Gordura, Sólidos totais e Sólidos não gordurosos do leite

Os teores e as produções de gordura, não foram influenciados pela suplementação com fontes de metionina no pico e no pós-pico da lactação, quer se considere vacas de maior ou de menor produção de leite (Tabela 4).

Discordando destes resultados, Sancanari et al. (2000) verificaram que vacas suplementadas com fontes de metionina apresentaram teores de gordura e produções de leite elevadas logo após o parto. Em outro estudo, Sancanari et al. (2001) verificaram que vacas suplementadas com MPDR apresentaram teores de gordura mais elevados em 27 e 13%, quando comparadas às vacas suplementadas com MNPDR e controle, mas as produções de gordura no leite não foram afetadas.

Entretanto no meio da lactação, efeitos da suplementação com metionina sobre os teores de gordura no leite foram evidenciados no grupo 1. Rogers et al. (1989) e Schwab et al. (1992) encontraram aumentos nos teores de gordura do leite quando suplementaram com fontes de metionina, evidenciados 56 a 84 dias após o pico da lactação.

Posteriormente, Bremmer et al. (1997) verificaram que vacas da raça Jersey, suplementadas com MPDR, aumentaram em 4,3% o teor de gordura no leite comparativamente a vacas controle. Rios et al. (1999) não observaram aumentos nos teores e nas produções de gordura no leite quando suplementaram com metionina protegida ou infundida no abomaso.

Neste trabalho, quando os resultados obtidos no meio da lactação foram observados, verificou-se que vacas suplementadas com a mistura de aminoácidos apresentaram maiores teores de gordura quando comparadas às vacas suplementadas com MNPDR ($P<0,05$), no primeiro grupo de vacas. Esta superioridade foi da ordem de 12%, sugerindo que a suplementação com mistura de aminoácidos foi capaz de elevar a produção de leite juntamente com conteúdo de gordura. Isto ocorreu,

Tabela 4. Teores e produções de gordura, sólidos totais (ST) e sólidos não gordurosos (SNG) no leite, nas diferentes fases da lactação, para vacas de maior produção de leite (grupo 1) e de menor produção de leite (grupo 2)
Content and productions of fat, total solids (TS) and solids non fatty (SNF), in the milk, in the different phases of lactation, for cows with higher production (group 1) and of smaller milk production (group 2)

		Fases da Lactação Phases of lactation					
Tratamentos Treatments		Pico Peak		Pós-pico Post-peak		Meio Middle	
		Grupo 1 Group 1	Grupo 2 Group 2	Grupo 1 Group 1	Grupo 2 Group 2	Grupo 1 Group 1	Grupo 2 Group 2
Gordura Fat (%) (%)	MPDR	2,5 aA	2,1 aB	2,2 aB	2,7 aA	2,4 abA	2,3 aA
	RPM						
	MNPDR	2,5 aA	2,0 aB	2,3 aB	2,7 aA	2,3 bA	2,3 aA
	RNPM						
Gordura Fat (kg/dia) (kg/day)	Mistura	2,5 aA	2,0 aB	2,1 aB	2,7 aA	2,5 aA	2,4 aA
	Mixture						
	Controle	2,5 aA	2,1 aB	2,3 aB	2,7 aA	2,4 abA	2,3 aA
	Control						
ST TS (%) (%)	MPDR	11,3 aA	10,8 aA	11,2 aA	10,6 aA	12,4 aA	10,5 aA
	RPM						
	MNPDR	11,9 aA	10,3 aA	12,2 aA	10,7 aA	11,3 aA	10,5 aA
	RNPM						
ST TS (kg/dia) (kg/day)	Mistura	11,9 aA	10,4 aA	10,0 aA	10,5 aA	11,3 aA	10,7 aA
	Mixture						
	Controle	11,8 aA	10,4 aA	11,3 aA	10,4 aA	11,2 aA	10,3 aA
	Control						
SNG (%) (%)	MPDR	8,4 aA	7,6 aA	7,8 aA	8,3 aA	7,8 aA	7,9 aA
	RPM						
	MNPDR	8,5 aA	7,7 aA	8,3 aA	8,2 aA	8,1 aA	7,9 aA
	RNPM						
SNG (kg/dia) (kg/day)	Mistura	8,8 aA	7,6 aB	8,0 aB	8,5 aA	8,2 aA	7,9 aA
	Mixture						
	Controle	8,6 aA	7,8 aB	7,5 aA	8,3 aA	8,1 aA	8,0 aA
	Control						
SNG (kg/dia) (kg/day)	MPDR	2,1 aA	1,6 aB	1,7 aB	2,2 aA	1,9 aA	1,8 aA
	RPM						
	MNPDR	2,1 aA	1,5 aB	1,9 aB	2,2 aA	1,8 aA	1,8 aA
	RNPM						
SNG (kg/dia) (kg/day)	Mistura	2,2 aA	1,6 aB	1,5 aB	2,3 aA	2,1 aA	1,8 aA
	Mixture						
	Controle	2,2 aA	1,6 aB	1,9 aB	2,2 aA	2,0 aA	1,9 aA
	Control						

^{aA} Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P>0,05$). ^{aB} Means followed by same small letters in the column do not differ to each other for the Tukey test ($P>0,05$).

^A Em cada tratamento, médias seguidas de mesma letra maiúscula na linha não diferem entre grupos de vacas pelo teste de Tukey ($P>0,05$). ^A treatment, means followed by same letter capital in the line do not differ among groups of cows for the Tukey test ($P>0,05$).

Ácidos graxos presentes na gordura do leite

muito provavelmente, porque a mistura de aminoácidos proporcionou quantidade suficiente de metionina para a síntese de proteína microbiana no rúmen e, ao mesmo tempo, disponibilizou metionina para a absorção no intestino delgado.

De modo geral, os teores de gordura do leite obtidos foram baixos, variando de 2,0 a 2,7%, valores inferiores a 3,32% descrito por Fonseca & Santos (2000) para vacas da raça Holandesa criadas em regiões tropicais. Teores baixos de gordura no leite haviam sido obtidos por Sancanari et al. (2000) e Sancanari et al. (2001) quando realizaram outras pesquisas, nesta mesma propriedade, embora tivessem utilizado outras vacas. Nesta propriedade já foi realizado um programa de seleção nas vacas para aumentar a produção de leite, acredita-se que há necessidade de um programa de o melhoramento genético para melhorar especificamente o a produção de gordura no leite. Outro aspecto que pode ter influenciado o baixo teor de gordura no leite, foi o fato de o FDN do volumoso ser em torno de 60% quando o recomendado é 70 a 75%, no entanto, este baixo valor de FND foi utilizado como uma estratégia experimental, visto que em trabalhos anteriores conduzidos por estes autores os teores de gordura do leite foram aumentados diante da suplementação com metionina.

Ao se compararem os dois grupos de vacas estudados, dentro de cada tratamento, observou-se superioridade de 19% no teor de gordura do leite ($P<0,05$) para vacas de maior produção em relação às de menor produção de leite no pico da lactação e inferioridade de 23% ($P<0,05$) no pós-pico da lactação.

Após o pico da lactação, para vacas de maior produção de leite, foi observada diminuição na gordura do leite em relação ao pico, sendo em média 14%, o que não deveria acontecer, mas do pós-pico para o meio a gordura do leite voltou a ascender, aumentando em média 4%. No grupo de menor produção de leite, a resposta foi inversa, aumentou em média 29% do pico para o pós-pico e diminuiu em média 17% do pós-pico para o meio da lactação.

Os teores e as produções de ST e SNG encontram-se na Tabela 4. Observou-se que não houve efeito dos tratamentos para ambos os grupos de vacas durante as três fases da lactação avaliadas. Resultados semelhantes foram obtidos por Schwab et al. (1992 a), Piepenbrink et al. (1996) e Bremmer et al. (1997).

Aumentos significativos de 9% no teor de gordura do leite observados, no meio da lactação, para vacas do grupo 1 suplementadas com mistura de metioninas, comparativamente às vacas suplementadas com MNPDR (Tabela 4), não foram capazes de manifestar diminuições nos teores de SNG do leite.

A composição percentual de ácidos graxos (AG) da gordura do leite, durante 120 dias de lactação, para vacas de maior (grupo 1) e menor (grupo 2) produção de leite encontra-se na Tabela 5. A suplementação com diferentes fontes de metionina não influenciou ($P>0,05$) a composição percentual dos ácidos graxos do leite, quer se considere vacas de maior ou de menor produção de leite. Quando se comparou o grupo 1 com o grupo 2 dentro de cada tratamento, verificou-se que a composição em ácidos graxos do leite também não foi influenciado pelas fontes de metionina ($P>0,05$). Estes resultados concordam com os obtidos por Casper et al. (1987), que não verificaram efeito da suplementação com fontes de metionina sobre a composição em ácidos graxos do leite.

Elevadas porcentagens de ácido butírico (C4:0) foram observadas neste experimento para todos os tratamentos, principalmente para o grupo 2. Segundo Alais (1971), elevados teores deste ácido no leite estão associados a elevados índices de saponificação, ou seja, com a elevada capacidade da gordura se tornar sabão (rancificar).

Fonseca & Santos (2000) comentaram que porcentagem de ácido butírico no leite deve ser em torno de 2,8%. Neste estudo, vacas de maior e de menor produção de leite, respectivamente, apresentaram teores de ácido butírico de 64 e 264%, 18 e 221%, 86 e 332% superiores ao preconizado quando suplementadas com MPDR, MNPDR e mistura de metioninas. Vacas controle do grupo 1 apresentaram teores de 2,1%, ou seja, muito próximo aos recomendados, entretanto para o grupo 2 o teor obtido foi 339% superior ao preconizado.

Segundo Bremmer et al. (1997), aumentos na concentração plasmática de ácidos graxos não esterificados diante da suplementação com aminoácidos protegidos da degradação ruminal permitiram que mais ácidos graxos fossem extraídos pela glândula mamária e incorporados à gordura do leite.

Os ácidos graxos de maior importância na gordura do leite são: esteárico (C18:0), oleico (C18:1) e linoléico (C18:2), os quais, segundo Fonseca & Santos (2000), correspondem a 13,2; 29,6 e 2,1% da gordura total do leite, respectivamente.

Nesta pesquisa, os teores destes ácidos graxos estiveram abaixo do valor preconizado por Fonseca & Santos (2000), no entanto foram muito próximos aos obtidos por Canale et al. (1990), Pisulewski et al. (1996) e Pinto et al. (2000).

No conteúdo ruminal, a concentração de AG poli insaturados, tipo C18, sempre é bem menor do que aquela da dieta e a de C18:0, sempre bem maior. Alguns estudiosos acreditam que C18:0 seja essencial para o metabolismo ruminal. Entretanto existe também, no rúmen, a necessidade de serem utilizados

os H⁺ e H₂ formados no metabolismo ruminal, o que é parcialmente conseguido através da hidrogenação de AG insaturados dietéticos, o que ocorre após a hidrólise do AG da cadeia do glicerol.

Quanto à possibilidade de MPDR interferir no processo de hidrogenação ruminal, fica descartada a hipótese desde que Sancanari et al. (2001) verificaram ser 99% não degradável através

de estudos "in situ" com sacos de náilon suspensos no rúmen, sendo somente liberada nos intestinos.

Um aspecto interessante foi que vacas controle do grupo 1 apresentaram teores de C18:0 (ácido esteárico) 32, 26 e 26 % superiores às vacas dos tratamentos MPDR, MNPDR e mistura. Numa comparação semelhante, os teores de C18:1 no leite de vacas controle do grupo 1 foram 11,

Tabela 5. Ácidos graxos presentes na gordura (AG) do leite durante 120 dias de lactação
Fatty acids in the milk fat (FA) through 120 days of lactation

AG (%) FA (%)	Grupo 1 (PL ≥ 25,0 kg/dia) Group 1 (PL ≥ 25.0 kg/day)				Grupo 2 (PL < 25,0 kg/dia) Group 2 (PL < 25.0 kg/day)			
	MPDR RPM	MNPDR RNPM	Mistura Mixture	Controle Control	MPDR RPM	MNPDR RNPM	Mistura Mixture	Controle Control
C4:0	4,6 aA	3,3 aA	5,2 aA	2,1 aA	10,2 aA	9,0 aA	12,1 aA	12,3 aA
C4:0								
C6:0	3,4 aA	2,9 aA	3,7 aA	2,0 aA	5,6 aA	7,8 aA	6,4 aA	6,8 aA
C6:0								
C8:0	2,0 aA	2,0 aA	2,0 aA	1,3 aA	2,8 aA	3,2 aA	4,3 aA	2,9 aA
C8:0								
C10:0	3,6 aA	3,9 aA	3,8 aA	2,7 aA	5,2 aA	4,8 aA	4,8 aA	4,5 aA
C10:0								
C12:0	3,5 aA	3,8 aA	3,5 aA	2,8 aA	4,5 aA	3,7 aA	6,0 aA	3,9 aA
C12:0								
C16:0	29,9 aA	30,0 aA	28,3 aA	31,0 aA	27,9 aA	24,3 aA	16,0 aA	25,4 aA
C16:0								
C16:1	1,5 aA	1,5 aA	1,5 aA	1,5 aA	1,1 aA	1,1 aA	1,1 aA	1,4 aA
C16:1								
C18:0	9,4 aA	9,6 aA	9,8 aA	12,4 aA	8,3 aA	7,3 aA	8,5 aA	7,2 aA
C18:0								
C18:1	18,9 aA	18,5 aA	19,3 aA	21,0 aA	12,4 aA	13,5 aA	9,5 aA	14,0 aA
C18:1								
C18:2	3,2 aA	3,2 aA	3,1 aA	3,4 aA	2,1 aA	2,1 aA	1,4 aA	2,3 aA
C18:2								
C18:3ω6	0,4 aA	0,4 aA	0,4 aA	0,4 aA	0,2 aA	0,2 aA	0,4 aA	0,3 aA
C18:3ω6								
C18:3ω3	0,7 aA	1,0 aA	0,8 aA	0,8 aA	0,3 aA	0,4 aA	0,3 aA	0,4 aA
C18:3ω3								
AG -PI	4,7 aA	5,4 aA	4,7 aA	5,2 aA	4,7 aA	3,0 aA	3,6 aA	4,0 aA
FA -PI								
AG -MI	26,4 aA	26,0 aA	27,0 aA	28,8 aA	18,1 aA	18,8 aA	19,5 aA	21,1 aA
FA -MI								
AG -S	68,9 aA	68,7 aA	68,4 aA	66,1 aA	77,3 aA	78,2 aA	76,9 aA	74,9 aA
FA -S								
PI/S	0,07 aA	0,08 aA	0,07 aA	0,08 aA	0,06 aA	0,04 aA	0,05 aA	0,05 aA
PI/I								

AG = ácidos graxos, C4:0 = butírico, C6:0 = capríico, C8:0 = caprílico, C10:0 = cáprico, C12:0 = láurico, C16:0 palmítico, C16:1 = palmitoléico, C18:0 = esteárico, C18:1 = oléico, C18:2 = linoléico, C18:3 = linolênico, PI = poli insaturados, MI = mono insaturados, S = saturados. FA = fatty acids, C4:0 = butírico, C6:0 = capríico, C8:0 = caprílico, C10:0 = capric, C12:0 = lauric, C16:0 palmítico, C16:1 = palmitoleic, C18:0 = estearic, C18:1 = oleic, C18:2 = linoleic, C18:3 = linolenic, PI = poliunsaturated, MI = monounsaturated, S = saturated.

↗ Médias seguidas de mesma letra minúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey (P>0,05). ↗ Means followed by some small letters in the line do not differ to each other for the Tukey test (P>0,05).

↗ Em cada tratamento, médias seguidas de mesma letra maiúscula na linha não diferem entre grupos de vacas pelo teste de Tukey (P>0,05). ↗ In each treatment, means followed by same letter capital in the column do not differ among groups of cows for the Tukey test (P>0,05).

14 e 9 % superiores aos das vacas suplementadas MPDR, MNPDR e mistura.

Canale et al. (1990) verificaram aumentos significativos de 6% nas concentrações de C16:0 a C18:2 quando suplementaram as vacas com 15 g/dia de metionina e 20 g/dia de lisina protegidas da degradação ruminal comparativamente a vacas controle. Estes autores verificaram também que a adição de gordura na dieta das vacas aumentou a concentração de AG de cadeia longa (7%) e diminuiu os de cadeia curta (22%). Entretanto, observaram que a adição de gordura à dieta associada à suplementação com aminoácidos protegidos da degradação ruminal permitiu obtenção de concentrações mais elevadas (8%) de AG de cadeia longa.

Para Yang et al. (1978), alterações nas concentrações de ácidos graxos foram atribuídas a aumentos na concentração plasmática de lipoproteínas de baixa densidade, resultando em aumentos na captação de ácidos graxos de cadeia longa na glândula mamária.

Pisulewski et al. (1996) verificaram diminuição na concentração de ácidos graxos não esterificados (AGNE) no plasma, quando as vacas foram suplementadas com níveis crescentes de MPDR, o que levou a aumentos nas proporções de ácidos graxos de cadeia curta e média, não sustentando aumentos nos teores de gordura do leite; discordando, portanto, dos resultados obtidos neste estudo. Observou-se que, de modo geral, as concentrações dos ácidos graxos de cadeia curta foram mais elevadas para o grupo 2 em relação ao grupo 1, independente do tratamento e que, para os ácidos graxos de cadeia longa, as respostas foram inversas, ou seja, as concentrações foram mais elevadas para o grupo 1 em relação ao grupo 2.

Segundo Church (1993) e Palmquist & Beaulieu (1993), todos os ácidos graxos de cadeia curta são sintetizados pelas células epiteliais lactígenas, ao passo que metade dos ácidos graxos de cadeia média e todos os de cadeia longa são sintetizados a partir dos nutrientes presentes na corrente circulatória que irrigam estas células, sendo portanto, derivados da dieta ou da mobilização da gordura corporal destes animais. Posteriormente, Pinto et al. (2000) confirmaram esses resultados ao observarem que a adição de gordura na dieta de vacas leiteiras aumentou os teores de ácidos graxos de cadeia longa no leite e diminuiu os ácidos graxos de cadeia curta.

Devido às necessidades do mercado consumidor em ingerir um leite menos gorduroso, porém mais sadio, tem aumentado a procura por alimentos com menores teores de ácidos graxos saturados. Estratégias alimentares têm sido utilizadas com este objetivo.

Neste estudo, verificou-se que não houve efeito da suplementação com fontes de metionina sobre as concentrações de ácidos graxos saturados e insaturados do leite. No entanto, as vacas do grupo 1 apresentaram, em média, aproximadamente 32%

de ácidos graxos insaturados e 68% de saturados, ao passo que as vacas do grupo 2 apresentaram, em média, 23% de ácidos graxos insaturados e 77% de saturados. Ainda convém salientar que, embora não se tenha observado efeito significativo estatisticamente, nas vacas suplementadas com alguma fonte de metionina, as concentrações de ácidos graxos insaturados foram inferiores em 8,3% para vacas do grupo 1 e 11% para vacas do grupo 2, quando comparadas às vacas controle.

CONCLUSÕES

Para o grupo de maior produção de leite, no meio da lactação, a suplementação com mistura de aminoácidos foi capaz de melhorar a produção de leite e sua composição em gordura em relação a suplementação com MNPDR.

A composição em ácidos graxos da gordura do leite não foi influenciada pela suplementação com fontes de metionina.

O nível de produção de leite das vacas influenciou a resposta à adição de metionina sobre a produção de leite, produção de lactose e teor de gordura no leite no pico da lactação.

ABSTRACT

Eight multiparous dairy Holstein cows were used, divided in two groups according the milk production (MP) to the birth, being the group 1 constituted by cows with MP ≥ 25.0 kg/day and the group 2, with MP < 25.0 kg/day. The objective was to evaluate the effect of the supplementation with 8.4 g/dia of rumen protected methionine (RPM) or 8.4 g/dia rumen non protected methionine of the ruminal degradation (RNPM) or, methionines mixture (50%RPM + 50% RNPM), comparatively to control cows, about the production and composition of the milk during peak, post-peak and middle of the lactation. The cows were fed with complete ration, composed by corn silagem and concentrated. The experimental designs was rotative balanced 4 x 4. Milk production, milk fat corrected production, the production and content of lactase, fat, total solids and solids non fatty were not affected in the different phases of the lactation, for the two groups of cows studied. In the middle of the lactation, the cows of the group 1 supplemented with methionines mixture presented the productions of milk and the content of fat higher when compared to the cows supplemented with RNPM, suggesting that the methionines mixture has disponibilized larger amounts of methionine for formation of the microbial protein and for absorption in the intestine. The milk productions and fat content obtained were 23.9 kg/day and 2,4%; 22.6 kg/day and 2,3%; 25.3 kg/day and 2,5% and 24.2 kg/day and 2,4%, respectively, for cows of the group 1 supplemented with RPM, RNPM, methionine mixture and control, respectively, in the middle of the lactation.

Key words: fat, fatty acids, lactase, rumen protected methionine, solids, soluble metionina.

LITERATURA CITADA

ALAI, C. *Ciencia de la leche: principios de tecnica lechera*. Barcelona, 1971, 595p.

ARMENTANO, L.E.; BERTICS, S.J.; DUCHARME, G.A. Response of lactating cows to methionine, or methionine plus lysine added to high protein diets based on alfalfa and heated soybeans. *Journal of Dairy Science*, v. 80, n. 6, p. 1194-1199, 1997.

BERTRAND, J.A.; PARQUE, F.E.; JNKINS, T.C. Effect of protected amino acids on milk production and composition of Jersey cows fed whole cottonseed. *Journal of Dairy Science*, v. 79, suppl. 1, p. 229, 1996. Abstract 22.

BREMMER, D.R.; OVERTON, T.R.; CLARK, J.H. Production and composition of milk from Jersey cows administered bovine somatotropin and fed ruminally protected amino acids. *Journal of Dairy Science*, v. 80, n. 7, p. 1374-1380, 1997.

CANALE, C.J.; MULLER, L.D.; MCCAHO, H.A. et al. Dietary fat and ruminally protected amino acids for high producing dairy cows. *Journal of Dairy Science*, v. 73, n. 1, p. 135-41, 1990.

CASPER, D. P.; SCHINGOETHE, D. J.; YANG, C.M.J. et al. Protected methionine supplementation with an extruded blend of soybeans and soybean meal for dairy cows. *Journal of Dairy Science*, v. 70, n. 2, p. 321-328, 1987.

CHURCH, D. C. *El ruminant: fisiologia digestiva y nutrición*. Zaragoza: Acribia, 1993. 691p.

FONSECA, L.F.L.; SANTOS, M. V. *Qualidade do leite e controle da mastite*. São Paulo, 2000. 175p.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION - ISO 5509. *International Standard*, 1978 (E) Erratum, published, 1978. Animal and vegetable fats and oils - Preparation of methyl esters of fatty acids. Switzerland: International Organization for Standard, 1978.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. *Nutrients requirements of dairy cattle*. 6.ed. Washington: National Academy Press, 1989. 157p.

OVERTON, T.R.; LACOUNT, D.W.; CICELA, T.M. et al. Evaluation of a ruminally protected methionine product for lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, v. 79, n. 4, p. 631-638, 1996.

PALMQUIST, D. L.; BEAULIEU, D. Milk fat synthesis and modification. Feed and animal factors influencing milk fat composition. *Journal of Dairy Science*, v. 76, n. 6, p. 1753-1771, 1993.

PATTERSON, H. D.; LUCAS, H. L. *Change-over designs*. North Carolina: Agriculture Experimental Station, 1962. 53p.

PIEPENBRINK, M.S.; OVERTON, T.R.; CLARK, J.H. Response of cows fed a low crude protein diet to ruminally protected methionine and lysine. *Journal of Dairy Science*, v. 79, n. 9, p. 1638-1646, 1996.

no perfil dos ácidos graxos da gordura do leite através da alimentação de vacas leiteiras. *Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes*, v. 54, n. 312, p. 40-46, 2000.

PISULEWSKI, P.M.; RULQUIN, H.; PEYRAUD, J.L. et al. Lactational and systemic response of dairy cows to postprandial infusions of increasing amounts of methionine. *Journal of Dairy Science*, v. 79, n. 10, p. 1781-1791, 1996.

RIOS, D.P.; McNABB, W.C.; HILL, J.P. et al. The effects of methionine supplementation upon milk composition and production of forage-fed dairy cows. *Canadian Journal of Animal Science*, v. 79, n. 2, p. 235-241, 1999.

ROBERT, J.C.; SLOAN, B.K. The effect of supplementation of corn silage plus soybean meal diets with rumen protected methionine on the lactational performance of dairy cows in early lactation. *Journal of Dairy Science*, v. 77, suppl. 1, p. 92, 1994. Abstract 349.

ROBINSON, P.H.; CHALUPA, W.; SNIFFEN, C.J. et al. Influence of postprandial supplementation of methionine and lysine, isoleucine, or all three amino acids on intake and chewing behavior, ruminal fermentation, and milk and milk component production. *Journal of Animal Science*, v. 77, n. 10, p. 2781-1792, 1999.

ROGERS, J.A.; PIERCE-SANDNER, S.B.; PAPAS, A.M. Production response of dairy cows fed various amounts of rumen-protected methionine and lysine. *Journal of Dairy Science*, v. 72, p. 1800-17, 1989.

RULQUIN, H. PISULEWSKI, P.M.; VÉRITÉ, R. et al. Milk production and composition as a function of postprandial lysine and methionine supply: a nutrient response approach. *Livestock Prod. Science*, v. 37, p. 69-90, 1993.

SANCANARI, J.B.D.; EZEQUIEL, J.M.B.; GALATI, R.L. et al. Efeito do fornecimento de metionina protegida e não protegida da degradação ruminal sobre a produção de leite de vacas holandesas. In: REUNIÃO LATINO AMERICANA DE PRODUÇÃO ANIMAL, 16, 2000, Monte Video, Uruguai, Anais..., Monte Video, 2000, p. 1-9. CD ROM.

SANCANARI, J.B.D.; EZEQUIEL, J.M.B.; GALATI, R.L. et al. Efeito da metionina protegida e não protegida da degradação ruminal sobre a produção e composição do leite de vacas Holandesas. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 30, n. 1, p. 286-294, 2001.

SCHWAB, C.G. Rumen-protected amino acids for dairy cattle: progress towards determining lysine and methionine requirements. *Anim. Feed Sci. Technol.*, v. 59, p. 87-101, 1996.

SCHWAB, C.G.; BOZAC, C.K.; WHITEHOUSE, N.L. et al. Amino acid limitation and flow to duodenum at four stages of lactation. 1. Sequence of lysine and methionine limitation. *Journal of Dairy Science*, v. 75, n. 12, p. 3486-3502, 1992a.

SCHWAB, C.G.; BOZAC, C.K.; WHITEHOUSE, N.L. et al. Amino acid limitation and flow to duodenum at four stages of lactation. 2. Extent of lysine limitation. *Journal of Dairy Science*, v. 75, n. 12, p. 3503-3518, 1992b.

SILVA, D. J. *Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos*. Viçosa: UFV, Imprensa Universitária, 1990. 166p.

YANG, Y. T. et al. Dietary lipid metabolism in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, v. 61, p. 1400, 1978.



SACCO

ESPECIALISTA EM CULTURAS LÁCTEAS

"LYOFAST"

Sacco Brasil, Rua Uruguaiana, 1379, Bosque, 13026-002 Campinas SP
Tel/Fax: 19-3253-5333 E-mail: saccobrasil@saccobrasil.com.br
www.saccosrl.it www.clerici.org