

REVISTA do INSTITUTO DE LATICÍNIOS "CÂNDIDO TOSTES"

DAIRY JOURNAL Bimonthly
Published By The "Cândido
Tostes" Dairy Institute

Nº 349 JUIZ DE FORA MAR/ABR DE 2006 VOL.61

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.



EPAMIG

digitalizado por arvoredoelite.org

INFORME AGROPECUÁRIO

A Tecnologia da Epamig ao seu alcance!

O Informe Agropecuário é um veículo de difusão das tecnologias geradas ou adaptadas pela EPAMIG. Cada edição esgota todos os aspectos de uma cultura ou atividade agropecuária, contribuindo para o desenvolvimento do agronegócio de Minas Gerais.

Esse trabalho favorece o intercâmbio de informações e a constante atualização de produtores rurais, técnicos, estudantes e professores de Ciências Agrárias sobre técnicas e manejos mais adequados e produtivos.



Faça sua assinatura!

R\$ 60,00 - 6 exemplares

Informações: (31) 3488-6688

publicacao@epamig.br



REVISTA DO INSTITUTO DE LATICÍNIOS "CÂNDIDO TOSTES"

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

ÍNDICE - CONTENT

- 1 Efeito da Nucleação Secundária sobre a Cristalização do Doce de leite. Ítalo Tuler Perrone, Fabiana Queiroz Ferrua, Luiz Ronaldo de Abreu 3
- 2 Desenvolvimento de um sorvete sabor café: alternativa tecnológica para o mercado. Adbeel de Lima Santos, Gisela de Magalhães Machado, Priscila de Souza Esteves Bepler, Sheila Aparecida Teixeira, Val Christie Bertorelli F. e Silva 13
- 3 Tipificação de programas de leite na escola. Laura Fernandes Melo Correia, Carlos Arthur Barbosa da Silva 17
- 4 Método de preparo de amostra de requeijão cremoso para avaliação por microscopia eletrônica de varredura (SEM). Darlila Aparecida Gallina; Ariene Gimenes Fernandes Van Dender 23
- 5 Status higiênico-sanitário de queijos do tipo Minas produzidos de forma artesanal e comercializados em Pelotas, RS. Wladimir Padilha da Silva, Ana Eucares von Laer, Andréia Saldanha de Lima Silvana Carro Techera, Márcia Magalhães Mata, Márcia Monks Jantzen 31
- 6 Avaliação do uso da *curcuma longa* L., em diferentes concentrações, na redução de *Escherichia coli* e *Enterobacter aerogenes* em ricotal. Sandra Ribeiro Maia, Luiz Ronaldo de Abreu, Celso José de Moura, Daise Aparecida Rossi, Eliane Sayuri Miyagi, Eduardo Fernandes 39
- 7 Avaliação do efeito inibidor da *curcuma longa* L., em *Staphylococcus aureus* em ricotal. Ana Cristina Ferreira, Luiz Ronaldo de Abreu, Celso José de Moura, Daise Aparecida Rossi, Eliane Sayuri Miyagi, Eduardo Fernandes 43
- 8 Avaliação do teor de natamicina em queijos gorgonzola através de quantificação espectrofotométrica. Talita Moreira de Oliveira, Nilda de Fátima Ferreira Soares, Rodrigo Magela Pereira, Kátia de Freitas Fraga 47

Rev. Inst. Latic. "Cândido Tostes" - Juiz de Fora - Vol. 61 (349); 1-51 - Mar/Abr de 2006

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
Marco Antonio Rodrigues Cunha

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. Est. do Prog. de Pesquisa Processamento Agroindustrial
Adauto de Matos Lemos - Coordenador de Prospecção de Demandas
Paulo Henrique Fonseca da Silva - Coordenador de Pesquisa
Luiza Carvalhaes Albuquerque - Coordenadora de Transferência e Difusão de Tecnologia
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
Especialista em Marketing e Qualidade Total

Jornalista Responsável

Vania Lucia Alves Lacerda
Reg. Prof. 4.729/MG

Corpo Revisor da Revista do ILCT

Adauto de Matos Lemos
Antonio Fernandes de Carvalho
Célia Lucia Luces Fortes Ferreira
Celso José de Moura
Daise Aparecida Rossi
Edna Froeder Arcuri
Fernando Antônio Resplande Magalhães
Luiza Carvalhaes de Albuquerque
Luiz Ronaldo de Abreu
Miriam Aparecida Oliveira Pinto
Nelio José de Andrade
Paulo Henrique Fonseca da Silva

Os trabalhos apresentados são de inteira responsabilidade de seus autores.

Juiz de Fora, julho de 2006

EMPRESA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA DE MINAS GERAIS
- EPAMIG -

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

v. ilust. 23 cm

n. 1-19 (1946-48), 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)

EFEITO DA NUCLEAÇÃO SECUNDÁRIA SOBRE A CRISTALIZAÇÃO DO DOCE DE LEITE

Effect of Secondary Nucleação on the Crystallization of "Doce de Leite"

Ítalo Tuler Perrone¹
Fabiana Queiroz Ferrua²
Luiz Ronaldo de Abreu³

RESUMO

O intuito desta investigação foi estudar a cristalização da lactose em Doce de Leite empregando soro e nucleação secundária no processo de fabricação. Este experimento foi realizado no Instituto de Laticínios Cândido Tostes EPAMIG, localizado em Juiz de Fora no estado de Minas Gerais. Envolveu dois tratamentos, com e sem a semente de microcristais de lactose. Os ingredientes empregados na elaboração do Doce de Leite foram concentrados em tacho aberto com agitação mecânica até 70 % de sólidos totais. O produto foi resfriado a 65°C e realizada a semente com microcristais de lactose, para prevenir arenosidade durante a vida de prateleira. Para entender o efeito da nucleação secundária, o crescimento e o tamanho dos cristais foram determinados e calculados com o auxílio de um microscópio. Testes preliminares indicaram que a adição de amido na tecnologia inibiu a formação de cristais, impossibilitando a nucleação secundária. Cristais de lactose com tamanho superior a 180 µm foram detectados no Doce de Leite obtido sem nucleação secundária após 30 dias de estocagem. Para o Doce de Leite com semente de 0,05 % de lactose sobre a massa de doce, não foi observado variação no tamanho dos cristais durante a estocagem. O tamanho médio dos cristais foi 56,2 µm, com variação de 21,91 mm. O número de cristais de lactose por grama de doce variou de $2,16 \times 10^6$ a $8,92 \times 10^7$, tendo como valor médio $3,96 \times 10^7$.

1 INTRODUÇÃO

O processo de concentração de leite, com o intuito de conservar os nutrientes deste alimento, propicia a obtenção de produtos como queijo, leite condensado, leite em pó, leite evaporado e doce de leite. Na maioria dos produtos lácteos concentrados, existe o problema da cristalização da lactose, açúcar natural do leite, que se apresenta sob duas formas distintas denominadas alfa e beta. A presença de grandes quantidades de alfa lactose em produtos lácteos acarreta o fenômeno da cristalização deste dissacarídeo, cujos cristais modificam a textura dos produtos, podendo ser percebidos pelo consumidor. Muitos esforços têm sido despendidos para o entendimento e controle do processo de cristalização de lactose em produtos derivados do leite.

A inoculação de núcleos de cristalização, com posterior agitação, a soluções saturadas de açúcares, possibilita o controle do número e tamanho dos cristais formados. O emprego de lactose em pó nas fabricações de leite condensado e doce de leite é uma técnica muito difundida para a obtenção de produtos que não apresentem cristais de lactose perceptíveis ao paladar. O processo de inoculação de lactose em pó, sob agitação e temperatura controlada, em produtos lácteos que se apresentam como uma solução saturada de lactose em água é denominado nucleação secundária, induzida, forçada ou controlada.

O soro é subproduto da fabricação de queijos, rico em proteínas de elevado valor biológico, lactose e sais minerais. O descarte do soro em lagos e rios é um grave problema ambiental e deve ser evitado pelos laticínios. Alternativas para a industrialização do soro consistem na

- 1 Mestre em Ciência dos Alimentos (UFLA), Pesquisador/Professor da EPAMIG/CT/ILCT. italo.perrone@epamig.br
- 2 Dra. em Engenharia dos Alimentos (UNICAMP), Pesquisadora/Professora do Departamento de Ciência dos Alimentos da UFLA. fquerrua@ufla.br
- 3 PhD. Ciência dos Alimentos (Wisconsin), Pesquisador/Professor do Departamento de Ciência dos Alimentos da UFLA. lraabreu@ufla.br

produção de ricota, bebidas lácteas, soro em pó, concentrado protéico e lactose. Novas alternativas para o aproveitamento do soro são uma real necessidade dos laticínios, pois desta forma, podem trabalhar dentro das exigências dos órgãos de proteção ambiental.

A concentração de uma mistura de leite, soro de leite e açúcar possibilita a obtenção de um doce de leite semelhante ao doce de leite tradicional, apresentando-se como uma alternativa para o aproveitamento do soro em fábricas de laticínios. Porém, como o soro de leite é rico em lactose, o processo de concentração acarreta textura arenosa no produto final, após alguns dias de fabricação.

Este estudo teve como objetivo investigar o efeito do processo de nucleação secundária, como ferramenta no controle da formação de cristais de lactose em um doce de leite obtido de uma mistura de leite e soro, acompanhando a variação do número e tamanho dos cristais de lactose com o tempo.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O delineamento experimental empregado foi determinado após a realização de testes preliminares, que consistiram na produção de Doce de Leite com e sem a adição de 0,5 % de amido sobre o volume de mistura e a utilização de três distintas temperaturas de inoculação dos núcleos de lactose. Desta forma, foram determinados dois tratamentos, um no qual foi realizada a nucleação secundária, por meio da adição de cristais de lactose em pó e outro no qual foi realizada a nucleação primária, podendo ser considerado o tratamento controle, pois não foi adicionada lactose em pó.

O tratamento estatístico empregado foi o inteiramente casualizado, sendo realizadas cinco repetições para cada um dos dois tratamentos realizados durante o experimento.

Durante a análise dos resultados foi empregado o balanço de massa como ferramenta para a determinação da composição teórica final da mistura de leite e soro de leite.

2.1 Fabricações do Doce de Leite

Foram realizadas dez fabricações de doce de leite, cinco para cada tratamento, seguindo uma tecnologia diferente da tradicional sugerida por Martins & Lopes (1981). As modificações realizadas na tecnologia tradicional foram efetuadas com o intuito de obter um doce com elevado teor de lactose. As principais modificações foram a utilização de soro de leite, oriundo da fabricação de queijos, na forma líquida e a adição de lactose em pó após resfriamento parcial do

doce. O equipamento de fabricação consistiu de um tacho aberto de camisa dupla com capacidade de trabalho de 25 L de leite, 74 a 76 rotações por minuto com pressão de vapor ao redor de 137,8 kPa. Foram empregados citrato de sódio, bicarbonato de sódio, cloreto de sódio, açúcar e lactose em pó. O açúcar utilizado foi a sacarose em forma de cristal, na proporção estabelecida sobre o volume de mistura de 20% m/v. Na sequência operacional adotada, inicialmente o leite, o soro e a mistura eram analisados, medidos volumetricamente e pesados. Feita a mistura, esta era dividida em duas partes, que dariam origem à duas fabricações distintas, uma com nucleação primária e a outra com nucleação secundária. O fluxograma geral esquematizando as principais etapas da fabricação do doce de leite está representado na Figura 1.

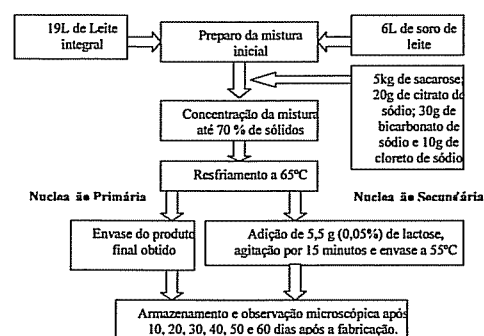


Figura 2 - Fluxograma das etapas envolvidas na fabricação do doce de leite.

Logo após atingir 70 % de sólidos totais, o produto era resfriado, através da circulação de água a temperatura ambiente na camisa do equipamento, a uma temperatura de 65°C. Atingida a temperatura realizava-se a adição da lactose em pó e mantinha-se a agitação por 15 minutos para propiciar a microcristalização. Durante a cristalização a camisa do equipamento era esvaziada, de forma a evitar uma diminuição contínua da temperatura. A próxima etapa foi à embalagem do produto, a aproximadamente 50°C, em latas com capacidade para 800g de produto, as quais eram posteriormente estocadas a temperatura ambiente, por até 60 dias. Os lotes estocados foram divididos de forma que uma lata foi destinada às análises físico-químicas e seis latas foram destinadas às observações microscópicas.

2.2 Métodos analíticos

As análises realizadas podem ser divididas em análises físico-químicas e microscópicas. As

análises físico-químicas foram realizadas em duplicatas e consistiram, no leite, soro e na mistura, da determinação dos teores de gordura, proteína, lactose e de extrato seco total. No doce de leite foram realizadas, no dia seguinte à fabricação, as mesmas análises do leite, acrescentando-se a determinação do teor de sacarose. As análises executadas podem ser observadas na Tabela 1. Os procedimentos analíticos foram executados no Laboratório de Pesquisas Físico-Químicas do Centro Tecnológico/ Instituto de Laticínios Cândido Tostes/EPAMIG.

Os métodos abaixo foram empregados para as análises laboratoriais:

- gordura empregando método butirométrico (Pereira et al. 2000);
- proteína empregando método Kjeldahl (International Dairy Federation 20B:1993);
- lactose e sacarose segundo Wolfschoon-Pombo & Casagrande (1982).

Tabela 1 - Relação das análises por tipo de amostra

Análises (teores)	Leite	Soro	Mistura	Doce de Leite
Gordura	X	X	X	X
Proteínas	X	X	X	X
Lactose	X	X	X	X
Extrato seco total	X	X	X	X
Sacarose				X
Análise microscópica				X

As análises microscópicas foram realizadas após 10, 20, 30, 40, 50 e 60 dias de armazenamento em embalagem hermeticamente fechada. O microscópio empregado foi o modelo Photo-Microscope III da marca Zeiss. Amostras de cada tratamento, armazenadas a temperatura ambiente, foram abertas e analisadas quanto ao número e quantidade de cristais de lactose presentes. A técnica microscópica utilizada é a recomendada por Martinez et al. (1990).

Para a determinação do número de cristais foram tiradas fotos dos campos microscópicos empregando máquina digital modelo DSC-P93A da marca Sony. A contagem dos cristais de lactose foi realizada com auxílio das imagens digitalizadas em computador.

A determinação do tamanho dos cristais foi realizada empregando-se lâminas e oculares graduadas. As medidas empregadas, como referências para determinação da unidade de comprimento dos cristais, foram obtidas de lâmina graduada,

específica para este fim, da marca Zeiss. O tamanho medido foi o do comprimento mais longo do cristal, por ser o mais relevante.

De cada embalagem de doce de leite foram retiradas amostras, de diferentes locais, e preparadas seis lâminas para visualização em microscópio. A quantidade de doce de leite colocada nas lâminas foi de 3 mg. Em cada lâmina foram determinados os vinte maiores cristais e fotografadas dez fotos de distintos campos microscópicos. Tanto a contagem microscópica quanto as fotos foram executadas no aumento de 400 vezes.

Uma marca comercial de doce de leite submetido a nucleação secundária foi analisada quanto ao número e tamanho dos cristais de lactose. Seis amostras do doce comercial foram analisadas após quatro meses de sua fabricação.

2.3 Análise dos resultados

A composição da mistura e do doce de leite foi analisada empregando-se o balanço de massa. A evolução da cristalização foi avaliada por meio da análise de regressão, em seis tempos ao longo da estocagem. Para a interpretação dos resultados experimentais foi empregado a análise de variância e o programa Origin versão 5.0 para a análise de regressão. Calculou-se o teor de lactose na solução aquosa para uma melhor interpretação da composição final. Foi acompanhado o crescimento e número de cristais de lactose no produto que sofreu nucleação primária e no que sofreu nucleação secundária.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O estudo da cinética de cristalização em um doce de leite oriundo de uma mistura de leite e soro de leite deve levar em consideração as propriedades físico-químicas da lactose, as características intrínsecas ao processo de fabricação e a composição do produto final obtido. Uma tecnologia de fabricação de doce de leite deve ser capaz de obter um produto estável durante todo o prazo de validade. O estudo do comportamento do doce de leite por sessenta dias, que consistiu da quantificação do número e do tamanho dos cristais, é uma ferramenta valiosa no entendimento das modificações sofridas pelo produto e na determinação do prazo de validade final.

3.1 Testes preliminares

Inicialmente, o objetivo do trabalho também contemplava avaliar o efeito da adição de amido durante a fabricação do doce na nucleação secundária, empregando-se para todo o estudo três diferentes temperaturas de nucleação, 50, 60 e 70°C.

Após a realização de quatro fabricações preliminares foi constatada a dificuldade no controle da temperatura durante a nucleação. Por se tratar de um equipamento industrial, onde não existem controles apropriados, não era possível se atingir uma determinada temperatura de resfriamento e garantir sua constância com o passar do tempo. A temperatura inicial estipulada foi de 65°C.

Após dez dias de estocagem foi constatado que os doces nos quais foi utilizado amido não havia presença de cristais de lactose, ou seja, a adição de amido impossibilitou a nucleação secundária. Este fato pode ser explicado pelo aumento da viscosidade nos doces devido a adição do espessante. Com o aumento da viscosidade, a movimentação das moléculas de lactose na solução supersaturada é dificultada, o que inviabiliza o processo de nucleação secundária.

3.2 Análise dos resultados do doce de nucleação primária

Na Tabela 2 é possível verificar a composição média do leite, soro e da mistura, para as cinco repetições, e comparar com os valores esperados com auxílio do balanço de massa.

As diferenças entre os valores calculados e os obtidos para composição revelam uma boa concordância entre os dados, significando que os volumes empregados nas fabricações e as análises executadas foram realizados de forma rigorosa e confiável.

Um fator que favorecerá a maior incidência da cristalização no doce é o baixo teor de proteína encontrado na mistura inicial, já que estas influenciam diretamente na viscosidade do produto final. Uma menor viscosidade favorecerá a nucleação secundária. Doces de leite fabricados por meio da tecnologia tradicional, ou seja, empregando somente leite, sacarose e bicarbonato de sódio, apresentam um teor médio de proteínas de 6,0% m/v. É esperado que uma mistura de leite e soro de leite acarrete em um doce com teor mais reduzido de proteínas. Fatores como baixo teor de lactose e elevado de proteínas no leite mantém o doce de leite fora da faixa em que se torna arenoso (Santos 1976). A composição dos

Tabela 2 - Composição físico-química média do leite, soro e mistura das cinco Repetições.

Teor	Leite	EP*	Soro	EP	Mistura	EP	Calculado	% erro
Sólidos	11,72	0,68	6,61	8,47	10,68	2,62	10,94	2,38
Lactose	4,92	0,81	5,11	1,76	4,94	1,01	4,96	0,40
Gordura	3,26	8,28	0,6	26,67	2,62	5,73	2,62	0,00
Proteína	2,76	1,09	0,73	0,55	2,26	1,77	2,28	0,88

*EP erro padrão da média (%)

doces obtidos sem microcristalização é apresentada na Tabela 3. O teor de sacarose no doce foi um dos que mais variou perante os demais, apesar de terem sido empregados os mesmos teores de adição de açúcar e a determinação do ponto ter sido realizada com o refratômetro.

Tabela 3 - Análise da composição do doce de leite de nucleação primária

Constituinte	Média das repetições(%)	Erro padrão da média(%)
Sólidos	70,67	1,63
Sacarose	43,33	5,25
Lactose	10,87	4,08
Gordura	5,62	2,7
Proteína	5,97	8,98

Este fato pode ser atribuído às diferenças na composição da matéria-prima e no fato de que a quantidade de sacarose adicionada a uma fabricação deve estar relacionada ao teor de sólidos lácteos do leite. Os teores de lactose no produto variaram entre 10,62 a 11,98%, apresentando valor médio de 10,87%, o que pode gerar a falsa impressão que os doces com maiores teores do constituinte são mais susceptíveis à cristalização, porém o estudo da cristalização baseado somente nos teores de lactose é incompleto, já que não considera os teores de água e de sacarose. Segundo Hunziker (1934), os teores de lactose em solução variam de acordo com a composição do leite e com a tecnologia empregada e, para leite condensado, os valores variam entre 27 a 31% de lactose em solução. De acordo com Santos (1976), os valores de lactose em solução para doce de leite variam de 23 a 24,4%. Os teores calculados de lactose e sacarose em solução são demonstrados na Tabela 4.

Baseado nos resultados apresentados na Tabela 4 e no trabalho de Santos (1976) depreende-se que o doce de leite produzido a partir de uma mistura de leite e soro possui um teor de lactose em solução mais elevado do que um produto sem o emprego de soro na tecnologia. Este fato, associado ao menor teor de proteína, torna o doce de leite oriundo de uma mistura de leite e soro altamente susceptível ao aparecimento de cristais

de lactose. Desta forma é de se esperar a formação precoce da cristalização neste produto quando comparado com o doce produzido a partir de leite somente. Os teores de sacarose em solução encontrados neste doce não atingem o valor de saturação deste dissacarídeo, que segundo Hunziker (1934), é de 64,5% de sacarose em solução. Desta forma, não é esperado o aparecimento de cristais de sacarose no produto final, pois o doce não representa uma solução saturada deste dissacarídeo.

Tabela 4 - Teores calculados de lactose e de sacarose em solução em doce de leite de nucleação primária.

Teores	Valores	Erro padrão da média
%sacarose	43,33	5,25
%lactose	10,87	4,08
%água	29,33	3,93
%sacarose em solução	59,60	2,86
%lactose em solução	27,06	3,98

Em todas as repetições não foi observado o aparecimento de cristais de lactose após 20 dias de armazenamento. Com 30 dias de estocagem as análises microscópicas não evidenciaram o aparecimento de cristais, excetuando uma repetição na qual foi detectado um cristal com 158 µm. Entretanto, ao se retirar o doce das latas foi notada a existência de alguns poucos cristais visíveis a olho nu, principalmente na tampa e no fundo da lata, em todas as repetições analisadas. Estes cristais estavam presentes no doce, porém ausentes nas alíquotas das amostras analisadas. O comportamento dos doces com 40, 50 e 60 dias de armazenamento foi o mesmo. Observou-se a formação de uma quantidade considerável de cristais visíveis nos doces, porém a quantificação por meio da metodologia analítica empregada não foi possível, já que o tamanho dos cristais formados não permitia a análise. O acoplamento da laminula à lâmina com a amostra de doce acarretava em quebra dos cristais, devido ao seu tamanho, e quando estes não eram quebrados, acabava por não possibilitar o perfeito acoplamento e por conseguinte, a leitura no microscópio. Algumas tentativas para a observação microscópica demonstraram que os cristais possuíam tamanho superior a leitura máxima da escala empregada, que era de 180 µm. Na Figura 2 é possível observar cristais de lactose em doce de nucleação primária após 30 dias de estocagem.

Estes resultados podem ser relacionados ao elevado teor de lactose na solução destes doces, associado ao baixo teor de proteínas existente e a não ter sido empregada nenhum mecanismo de controle da cristalização, como utilização de lactase, espessantes ou nucleação secundária. Desta

forma, a utilização de soro na fabricação de doce de leite acarretou a formação de cristais de lactose de grande tamanho e em pequeno número. A fotografia de um grande cristal de lactose, característico desta formulação é apresentada na Figura 2.

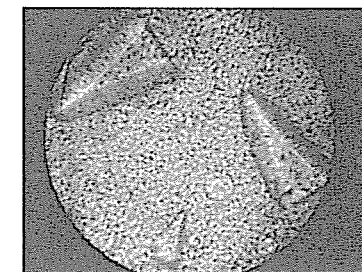


Figura 2 - Fotografia de uma amostra de doce de nucleação primária (aumento de 400 vezes), com 30 dias de fabricação.

O excessivo tamanho dos cristais de lactose encontrados no doce impossibilitou a análise microscópica pelo método analítico adotado e, desta forma, foi impossível a determinação da variação do tamanho dos cristais com o tempo, para a formulação de nucleação primária.

3.3 Tamanho dos cristais de lactose em doce de nucleação secundária

A formação e o tamanho dos cristais de lactose oriundos da tecnologia de fabricação com o emprego da microcristalização foi estudado. Na Tabela 5 apresenta-se a composição média dos doces de leite obtidos, sendo possível observar o erro padrão médio dos valores de composição do doce. Na Tabela 6 constam os teores calculados de lactose e de sacarose em solução.

Tabela 5 - Composição físico-química do doce de nucleação secundária

Teor	Valor	Erro padrão da média
Sólidos	71,99	3,21
Sacarose	47,11	5,44
Lactose	12,06	9,68
Gordura	5,36	11,79
Proteína	5,41	4,48

Baseado na Tabela 5 pode-se observar que ocorreu uma variação significativa na composição da maioria dos constituintes. Os teores gordura, lactose e de sacarose no produto final foram os que mais variaram em comparação aos demais constituintes.

A variação nos teores de gordura, lactose e sacarose enfatizam a necessidade da utilização de ferramentas de controle para a padronização do produto final.

Nas repetições 2 e 4, de acordo com a Tabela 6, o teor de sacarose em solução superou o limite de saturação deste dissacarídeo em solução, este dado indica que é possível o aparecimento de cristais de sacarose nestes doces. Porém, através das observações microscópicas não foi observado cristal com geometria diferente da característica dos cristais de lactose. Pode-se, entretanto, considerar a possibilidade dos cristais de sacarose terem contaminado os cristais de lactose, ou seja, os cristais observados não são puramente cristais de lactose, mas sim um híbrido entre os dois dissacarídeos. Esta hipótese não pôde ser comprovada pela metodologia analítica empregada.

Na Figura 3 observa-se a variação do tamanho médio dos cristais com o tempo.

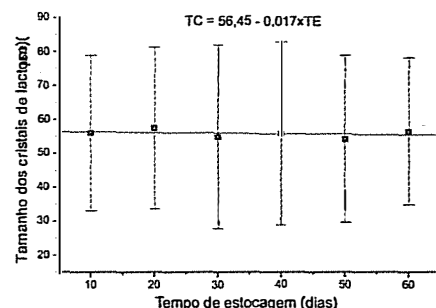


Figura 3 - Variação do tamanho médio dos cristais com o tempo em doce de leite de nucleação secundária.

Na Figura 3 é representada, para a variação do tamanho médio dos cristais durante a estocagem das cinco repetições do experimento, a equação linear da reta, relativa à regressão linear dos dados, o gráfico, e, em cada ponto, a variação determinada pelo desvio padrão. Pode-se observar baseado nas barras paralelas ao eixo Y em cada ponto, que houve uma variação muito grande no tamanho dos cristais formados em cada repetição.

A análise das Figuras 4, 5, 6, 7 e 8 demonstra, para um mesmo aumento, que houve uma grande

Tabela 6 - Teores calculados de lactose e sacarose em solução

Valores	Repetição1	Repetição2	Repetição3	Repetição4	Repetição5
%sacarose	52,47	47,44	43,59	47,84	44,23
%lactose	9,52	14,37	11,68	12,39	12,34
%água	29,40	24,43	30,79	25,82	29,62
%sacarose em solução	64,09	66,01	58,60	64,95	59,89
%lactose em solução	24,46	37,04	27,50	32,43	29,41

variação do tamanho dos cristais de lactose entre as repetições. Este fato pode ser atribuído à variação no teor de lactose na solução em cada doce obtido, que foi de 24,46 a 37,04%. Os valores encontrados para os teores da lactose em solução atingiram, nestes doces, valores superiores aos encontrados nas fabricações de nucleação primária devido ao fato de terem apresentado menor teor de umidade, consequência de uma maior concentração durante a fabricação. O valor médio do teor de lactose na solução dos doces de nucleação primária foi de 27,06%, enquanto que para os doces de nucleação secundária foi de 30,17%. Este fato favorece a supersaturação da solução e consequentemente a formação dos cristais de lactose. Como o teor de lactose na solução é um fator fundamental na formação dos cristais, pois a força motriz desta etapa é a supersaturação, uma grande variação neste valor pode acarretar em modificações na formação dos cristais. Porém ao se analisar a equação da reta, obtida por intermédio da regressão linear dos dados, nota-se que não houve variação significativa do tamanho dos cristais com o tempo, ou seja, a variável tamanho dos cristais independe da variável tempo de estocagem. Este fato é evidenciado pelo coeficiente angular da reta que se aproxima de zero, indicando que a equação encontrada é muito similar a equação de uma função constante, e, pela análise de variância. O comportamento observado foi que independentemente do tamanho inicial dos cristais formados este não variou com o tempo de estocagem de até 60 dias.

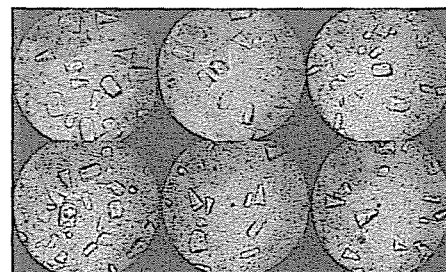


Figura 4 - Fotos dos cristais de lactose da repetição 1 (aumento de 400 vezes), com 10, 20, 30, 40, 50 e 60 dias de fabricação.

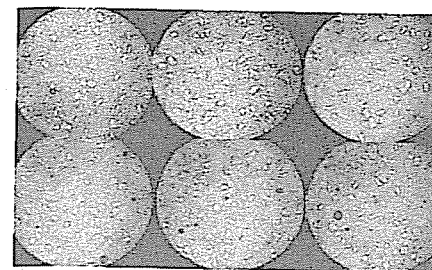


Figura 5 - Fotos dos cristais de lactose da repetição 2 (aumento de 400 vezes), com 10, 20, 30, 40, 50 e 60 dias de fabricação.

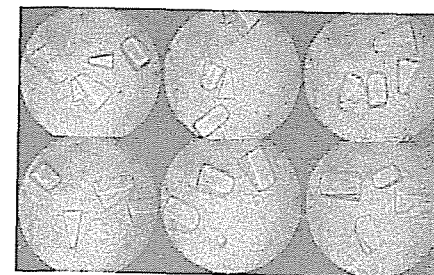


Figura 6 - Fotos dos cristais de lactose da repetição 3 (aumento de 400 vezes), com 10, 20, 30, 40, 50 e 60 dias de fabricação.

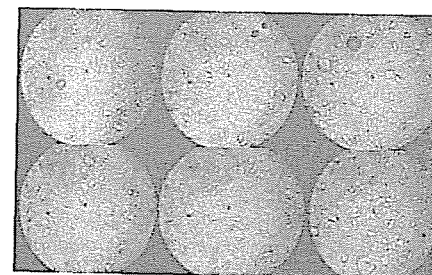


Figura 7 - Fotos dos cristais de lactose da repetição 4 (aumento de 400 vezes), com 10, 20, 30, 40, 50 e 60 dias de fabricação.

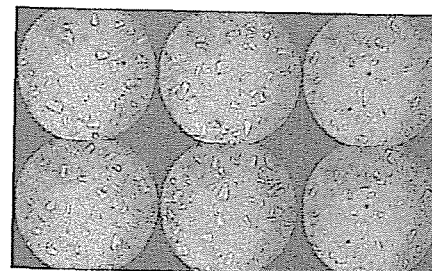


Figura 8 - Fotos dos cristais de lactose da repetição 5 (aumento de 400 vezes), com 10, 20, 30, 40, 50 e 60 dias de fabricação.

Durante os experimentos foi realizada a análise microscópica de uma marca comercial de Doce de Leite, com quatro meses de fabricação, na qual foi empregado o processo de nucleação secundária. Na fabricação deste doce utiliza-se somente leite como matéria-prima, sendo que a concentração ocorre inicialmente em evaporadores a vácuo e posteriormente em tachos abertos. Após a determinação do ponto os doces são resfriados a 39°C e enviados aos tanques de cristalização, onde recebem a adição da lactose em pó e sofrem agitação pelo período de 30 minutos a uma hora. A temperatura de envase é ao redor de 30°C, esta temperatura é exequível, pois o envase é realizado de forma asséptica, prevenindo qualquer tipo de contaminação microbiológica. O tamanho dos cristais de lactose e a variação desta medida com o tempo são determinantes para a aceitação do doce de leite, pois a percepção do defeito da arenosidade está diretamente relacionada ao tamanho dos cristais presentes no produto final. Pode-se observar na Tabela 7 que o tamanho médio dos cristais de lactose, presentes no doce de leite de nucleação secundária em estudo, é menor do que o da marca comercial analisada. A análise do desvio padrão indica que há uma maior variação no tamanho dos cristais no doce de leite de nucleação secundária em estudo.

Tabela 7 - Tamanho médio dos cristais em doces de nucleação secundária comercial e experimental.

Medidas	Doce de nucleação secundária em estudo	Doce de nucleação secundária do mercado
Tamanho médio dos cristais (µm)	56,2	68,0
Erro padrão da média	38,97	14,56

Ao somarmos e subtrairmos os respectivos desvios aos valores médios encontrados temos que o doce de leite de nucleação secundária da marca comercial varia entre 58,1 e 77,9 µm, enquanto que o doce em estudo varia entre 34,3 e 78,1 µm. Os extremos encontrados anteriormente são muito próximos, e, a análise dos desvios somados e subtraídos das médias indica que 68,27% dos cristais, em ambos os doces seguem a distribuição de tamanho apresentada pelos intervalos. Segundo Walstra et al (2001), em leite condensado os cristais com tamanho superior a 8 mm causam uma textura desagradável. Já em doce de leite de acordo com Hough et al. (1990), cristais com até 45 mm não

causam textura arenosa, dependendo da quantidade encontrada. Terán-Ortiz (1998) encontrou em doce de leite de nucleação primária, cristais com tamanho superior a 200 µm e ao utilizar gomas, com o intuito de inibir a cinética de cristalização em doce de leite, encontrou cristais com tamanhos variando entre 10 e 50 µm, porém não foi realizada análise sensorial dos doces obtidos.

O tamanho dos cristais após a nucleação secundária é fundamental para o controle do processo, já que os mesmos apresentam a tendência de não crescerem durante o período de armazenamento. Desta forma, pode-se concluir que o processo de microcristalização possibilita a manutenção dos cristais formados por todo o período de armazenamento e validade do produto. Hosken (1969) afirma em seu trabalho que o processo de microcristalização do doce de leite é eficiente para evitar a formação de cristais perceptíveis no doce de leite.

Os valores médios para o tamanho e para o número dos cristais são apresentados na Tabela 8 abaixo.

De acordo com os dados da Tabela 8, o número de cristais de lactose por grama de doce variou de $3,65 \times 10^7$ a $4,38 \times 10^7$, tendo como valor médio $3,96 \times 10^7$. Resultado semelhante foi encontrado por Martinez et al. (1990) que, ao induzirem a nucleação secundária em doce de leite, encontraram um número de cristais por grama variando entre 5×10^4 a 8×10^8 cristais por grama de doce. A análise de variância para avaliar o efeito do tempo sobre o número de cristais formados não apresentou significância, ou seja, o tempo não interfere no número de cristais formados.

Isso demonstra que a utilização da temperatura inicial de 65°C não inibiu o processo de microcristalização. Desta forma, o aumento na concentração de lactose no produto final, devido à utilização de uma mistura de leite e soro, possibilitou a utilização da temperatura de 65°C para o processo de microcristalização, fato este que permite a utilização do tacho aberto na tecnologia de fabricação de doce de leite. Empregando uma tecnologia tradicional de fabricação de doce de leite, ou seja, em tachos abertos e sem envase asséptico, é inviável o processo de microcristalização, pois a temperatura de inoculação é baixa, acarretando em problemas

microbiológicos. O trabalho de Martinez et al. (1990), com doce de leite fabricado somente a partir de leite, confirma a impossibilidade da realização da microcristalização em tacho aberto, pois a temperatura máxima alcançada para a microcristalização foi de 56°C.

4 CONCLUSÕES

Os testes preliminares realizados indicaram que a adição de amido na tecnologia de fabricação de doce de leite com nucleação secundária inibiu a formação dos cristais de lactose, nas condições empregadas.

No doce de leite elaborado com soro e sem sementeira de lactose ocorreu a cristalização primária da lactose durante o armazenamento após 30 dias, formando cristais visíveis a olho nu em pequeno número.

A utilização de uma mistura de leite e soro possibilitou que o processo de nucleação secundária ocorresse à temperatura de 65°C, o que possibilita a aplicação desta tecnologia em tachos abertos.

Durante o período de estocagem não houve variação no tamanho dos cristais de lactose no doce de nucleação secundária, pois a análise estatística demonstrou não existir correlação significativa entre o tempo e o tamanho dos cristais.

No doce de leite elaborado com soro e sementeira de lactose ocorreu a cristalização secundária durante a fabricação, formando-se um grande número de cristais pequenos, que durante o tempo de armazenamento foram estáveis.

ABSTRACT

The aim of this investigation was study the lactose crystallization on "Doce de Leite" using whey and secondary nucleation in the technology of production. This experiment was accomplished at Cândido's Tostes Dairy Institute EPAMIG, located in Juiz de Fora in the state of Minas Gerais. This experiment involved two treatments, with and without seeding of lactose micro-crystals. The employed ingredients in the elaboration of "Doce de Leite" was concentrated in an open kettle with mechanical agitation to 70 % total solids. Then the product was cooled to 65°C and seeding with lactose micro-crystals to prevent sandiness during the stockpiling. To understand the effect of

secondary nucleation, the crystal's growth and size was determined and calculated with an optical microscope. Preliminaries tests indicated that the addition of starch in the technology inhibited the formation of crystals, disabling the secondary nucleation. Lactose crystals above 180µm was detected in "Doce de Leite" obtained without secondary nucleation after thirty days of stockpiling. For the "Doce de Leite" with sowing of 0,05% of lactose on the candy mass, variation was not observed in the size of the crystals during the stockpiling. The medium size of the crystals was 56,2 µm and the number of lactose crystals for gram varied from $2,16 \times 10^6$ to $8,92 \times 10^7$, tends as medium value $3,96 \times 10^7$.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS CONSULTADAS

- ARAÚJO, J.M.A. *Química de alimentos: teoria e prática*. 3. ed. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2004. p. 307-324.
- BOBBIO, F.O.; BOBBIO, P.A. *Introdução à química de alimentos*. 2. ed. São Paulo: Varela, 1992. 151 p.
- BOEKEL, M.A.J.S. Effect of heating on Maillard reactions in milk. *Food Chemistry*. Elsevier Science Ltd, v. 62. n. 4. 1998. p.403-414.
- BOLANOWSKI, J.P. Controlled Crystallization – Key to product quality. *Food Engineering*, Philadelphia, v.37, n.12, p.56-60, dec. 1965.
- COELHO, E.B.B et al. Utilização de beta-D-galactosidase no controle da cristalização do doce de leite. *Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes*, Juiz de Fora, v.37, n.221, p.7-11, mai/jun. 1982.
- FENNEMA, O.R. *Food Chemistry*. 3.ed. New York: Marcel Dekker, 1996. p. 157-223.
- GEANKOPLIS, C. J. *TRANSPORT PROCESSES AND UNIT OPERATIONS*. 3 ed. New Jersey: Prentice Hall, 1993. 921p.
- HAAL, C.W.; HEDRICK, T.I. *Drying of milk products*. 2. ed. Westport, AVI Publishing: 1971. 323 p.
- HAASE, G; NICKERSON, T.A. Kinetic reactions of alpha and beta lactose: Crystallization. *Journal of dairy science*. Ohio, v. 49, n. 4, p. 757-761, Abril. 1966.
- HAASE, G; NICKERSON, T.A. Kinetic reactions

of alpha and beta lactose: Mutarotation. *Journal of dairy science*. Ohio, v. 49, n. 4, p. 127-132, Abril. 1966.

HARTEL, R.W. Controlling sugar crystallization in food products. *Food Technology*, 47, p.99-107, novembro 1993.

HARTEL, Y.S.R.W.; LIANG, B. Formation and growth phenomena of lactose nuclei under contact nucleation conditions. *Journal of Dairy Science*, Ohio, v. 72, n. 11, p. 2906-2915. 1989.

HOLSINGER, V.H. Physicol and chemical properties of lactose. In: FOX, P.F. *Advanced dairy chemistry*. 2. ed. London: Chapman & Hall, 1997. v. 3, p. 1-38.

HOSKEN, F.S. Doce de leite: durabilidade e cristalização. *Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes*, Juiz de Fora, v. 24, n.147, p. 10-17, nov/dez. 1969.

HOUGH, G.; MARTINEZ, E.; CONTARINI, A. Sensory and objective measurement of sandiness in dulce de leche, a typical argentine dairy product. *Journal of Dairy Science*, Ohio, v. 73. n. 3. p. 604-611, 1990.

HUNZIKER, O.F. *Condensed milk and milk powder*. 5ed. La Grange, Illinois, 1934. 696p.

INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION. *Determination of milkproteins*. Brussels, 20B:1993.

JANCIC, S.J.; GROOTSCHOLTEN, P.A.M. Introduction to industrial crystallization: aims and problems. IN: *Industrial crystallization*. Delft: Delft Universit Press, 1984. cap.1, p. 1-14.

JANCIC, S.J.; GROOTSCHOLTEN, P.A.M. Nucleation: Mechanisms and sources of nuclei in industrial crystallizers. IN: *Industrial crystallization*. Delft: Delft Universit Press, 1984. cap.2, p. 15-37.

KREVEL, A.V.; MICHAELS, A.S. Measurement of crystal growth of α-lactose. *Journal of dairy science*. Ohio, v. 47, n. 3, p. 259-265, 1964.

MARTINEZ, E.; HOUGH, G.; CONTARINI. Sandiness prevention in dulce de leche by seeding with lactose. *Journal of Dairy Science*, Ohio, v. 73. n. 3. p.612-616, 1990.

MACCABE, W.L.; SMITH, J. C.; HARRIOTT, P. *UNIT OPERATIONS OF CHEMICAL*

Tabela 8 - Tamanho e número médio dos cristais de lactose

Dias	10	20	30	40	50	60
Número/g	$4,38 \times 10^7$	$3,91 \times 10^7$	$3,65 \times 10^7$	$3,78 \times 10^7$	$3,95 \times 10^7$	$4,38 \times 10^7$
Tamanho mm	56,00	57,42	56,02	55,86	54,78	56,37

ENGINEERING. 5ed. New York: McGraw-Hill, 1993. 1130p.

MARTINS, J.F.P.; LOPES, C.N. Doce de leite: aspectos da tecnologia de fabricação. *Instruções técnicas. Instituto de Tecnologia de Alimentos*, Campinas, n.18, p. 1-37, 1981.

MONTES, E.J.N. Dados de solubilidade da lactose em diferentes temperaturas. *Anais do XX Congresso Nacional de Laticínios*. Juiz de Fora, v.58, n.333, p. 259-260, 2003.

MORALES, F.J.; BOEKEL, M.A.J.S. A study on advanced Maillard reaction in heated casein/sugar solutions: colour formation. *International Dairy Journal*. Oxford, n.8, p. 907-915, 1998.

MORRISSEY, P.A. Lactose: chemical and physicochemical properties. In: FOX, P.F. *Developments in dairy chemistry*. London and New York: Elsevier Applied Science Publishers, 1985. v. 3. p. 1-34.

MUIR, D.D. Lactose. *Journal of the Society Dairy Technology*, Ohio, v.43, n.2, p.33-34, may. 1990.

NICKERSON, T.A. Lactose crystallization in ice cream: Control of crystal size by seeding. *Journal of dairy science*. Ohio, v. 37, n. 4, p. 1099-1105, Abril. 1954.

NICKERSON, T.A. Lactose. In: WEBB, B.H.; JOHNSON, A.H.; ALFORD, J.A. *Fundamentals of Dairy Chemistry*. Westport: AVI Publishing, 1974. v.1. p. 273-324.

NICKERSON, T.A.; MOORE, E.E. Solubility interrelations of lactose and sucrose. *Journal of food science*. Chicago, v. 37, n. 1, p. 60-61, Jan/Feb. 1972.

PEREIRA, D. B. C.; OLIVEIRA, L. L.; COSTA JÚNIOR, L. C. G.; SILVA, P.H.F. *da Físico-química do leite e derivados – Métodos Analíticos* 2ed. Juiz de Fora: Oficina de Impressão Gráfica e Editora, 2000, 190p.

PERRONE, I.T. Tecnologia de fabricação de doce de leite. *Instruções técnicas. Instituto de Laticínios Cândido Tostes*. Juiz de Fora. 78 p., 2000.

ROBINSON, R.K. *Dairy Microbiology: the microbiology of milk*. London and New Jersey: Applied Science Publishers, 1981. 258p.

SABIONE, J.G et al. Control of lactose crystallization in "Dulce de leche" by *Kluyveromyces lactis* fermentation. *Journal of dairy science*. Ohio, v. 67, n. 8, p. 1694-1698, 1984.

SANTOS, D.M. Arenosidade no doce leite. *Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes*, Juiz de Fora, v.31, n.185, p. 3-9, mai/jun. 1976.

SILVA, T.J.P et al. Utilização de Beta-D-galactosidase no processo contínuo de fabricação de doce de leite homogeneizado. *Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes*, Juiz de Fora, v.39, n.232, p.19-30, mar/abr. 1984.

SOUSA, L.R.P. Efeito da acidificação e do tratamento térmico do leite na qualidade do doce de leite. 1979. 61f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Faculdade Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

TERÁN-ORTIZ, G.P. Efeito de adição de gomas xantana e locusta na cinética de inibição de cristalização de açúcares em doce de leite. 1998. 80 p. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Departamento de Ciência de Alimentos, Universidade Federal de Lavras, Lavras.

TWIEG, W.C.; NICKERSON, T.A. Kinetics of lactose crystallization. *Journal of Dairy Science*, Ohio, v. 51, n. 11, p. 1720-1724. 1968.

VARGAS, M.M et al. Influência da gordura, da glucose e do amido na cristalização do doce de leite. *Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes*, Juiz de Fora, v.37, n.221, p. 25-30, mai/jun. 1982.

WALSTRA, P.; GEURTS, T.J.; NOOMEN, A.; JELLEMA, A.; BOEKEL, M.A.J.S. *Ciência de la leche y tecnología de los productos lácteos*. Zaragoza: Editorial Acribia, 2001. 729 p.

WALSTRA, P.; JENNESS, R. *Química y Física lactológica*. Zaragoza: Editorial Acribia, 1984. 423 p.

WHITTIER, E.O. Lactose and its utilization: a review. *Journal of dairy science*. Ohio, v. 27, n. 7, p. 505-529, Julho. 1944.

Wolfschoon-Pombo, A.; Casagrande, M. Determinação simultânea de lactose e sacarose em doce de leite. *Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes*, v.37, n.222, p.3-7, (1982).

DESENVOLVIMENTO DE UM SORVETE SABOR CAFÉ: ALTERNATIVA TECNOLÓGICA PARA O MERCADO

Development of an ice cream of coffee: a technological alternative for the market

Adbeel de Lima Santos¹
Gisela de Magalhães Machado¹
Priscila de Souza Esteves Bepler²
Sheila Aparecida Teixeira²
Val Christie Bertorelli F. e Silva²

RESUMO

O Brasil apresenta um consumo per capita de sorvete da ordem de 2,3 litros/hab/ano, sendo seu consumo concentrado no verão (ABIS, 2006). O presente trabalho teve como objetivo desenvolver uma alternativa tecnológica para a produção de sorvete que atenda às características sensoriais de produtos que são mais consumidos no inverno. O produto foi elaborado no Centro Tecnológico – Instituto de Laticínios Cândido Tostes – Epamig. O sorvete de café obtido apresentou 3,27% de proteína, 15,65% de gordura, 40,62% de sólidos totais. Foi realizado um teste de aceitação, para isso, utilizou-se da escala hedônica de nove pontos, no qual obteve média 7,19 pontos, ficando classificado entre gostei moderadamente e gostei muito.

Palavras-chave: Sorvete, novos produtos, sazonalidade

1 - INTRODUÇÃO

O desenvolvimento de novas tecnologias, tanto em termos de inovação quanto de aperfeiçoamento de produtos e processos é muito importante para a garantia da competitividade das empresas. Isso se dá pelo fato de que uma característica própria das novas idéias é a ausência de rivalidade. Essa ausência de rivalidade permite que haja retornos crescentes para uma organização em ambiente competitivo (JONES, 2000).

O Brasil apresenta consumo per capita de sorvete da ordem de 2,3 litros/hab/ano, o que corresponde a um faturamento de US\$ 839 milhões. Quando comparado ao consumo de países como Nova Zelândia e Estados Unidos, onde o consumo é de 26,3 e 22,5 litros/hab/ano respectivamente, percebe-se o grande potencial de desenvolvimento da indústria de sorvetes no Brasil. Características marcantes desse mercado, é o fato de que 15% do volume de vendas vêm de novos produtos e ainda a de que 50% de toda a produção é vendida entre os meses de dezembro a março, o que torna o produto extremamente sazonal (ABIS, 2006).

Visando proporcionar às indústrias sorveteiras uma alternativa de mercado, e em especial levando-se em consideração a sazonalidade das vendas, foi desen-

volvido um sorvete com características especiais de composição, em termos de teor de sólidos, ingredientes e aromas, que apresenta uma característica sensorial desejável a um produto para ser consumido nos meses mais frios do ano. O sorvete foi produzido nas instalações industriais do Centro Tecnológico – Instituto de Laticínios Cândido Tostes – Epamig.

2 - MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 - Ingredientes utilizados para cada 100 litros de calda base de sorvete.

Quadro 1 - Formulação de sorvete de café

Ingredientes	Kg	Gordura (Kg)	S.N.G.L* (Kg)
Crema	15,75	10,25	0,79
Leite	63,06	1,89	5,68
Leite em pó integral	2,84	0,77	1,99
Açúcar	13,14		
Xarope de glicose	2,84		
Bland de café	0,95		
Chocolate maltado	0,95		
Estabilizante e emulsificante	0,47		
Total	100	12,91	8,46

* Sólidos não gordurosos do leite

1 Professores do Instituto de Laticínios Cândido Tostes.
2 Estudantes do Curso Técnico em Leite e Derivados do CT/ILCT/Epamig

2.2 - Definição do sabor e aroma

Desejando-se um produto com características naturais, utilizou-se de um Bland contendo: café solúvel e aroma de café. À mistura final, ainda foi adicionado chocolate em pó maltado.

2.3 - Produção do Sorvete

A produção do sorvete foi realizada nas dependências do CT/ILCT/Epamig e seguiu as recomendações propostas por BRANDÃO (1997), onde após a mistura dos ingredientes (leite fluido, leite em pó, creme de leite, açúcar, xarope de glicose, estabilizantes e emulsificantes), ela foi aquecida até a temperatura de 65°C e posteriormente homogeneizada em dois estágios (em equipamento GAULIN) utilizando-se 1500 psi no primeiro estágio e 500 psi no segundo. Depois disso, a mistura homogeneizada foi pasteurizada a 70°C por 30 minutos, conforme determina o Ministério da Saúde (ANVISA, 1999). Em seguida a mistura foi resfriada até 5°C em um equipamento do tipo "CASCATA" e enviada a câmara fria para maturação por 24 horas. Após esse período, a mistura foi congelada em equipamento próprio (TETRA PAK HOYER) até a temperatura de -5°C. Durante o congelamento ocorreu também a incorporação de ar até o ponto de textura ideal. O sorvete assim obtido foi transferido para um congelador do tipo "HORIZONTAL", onde sofreu o endurecimento, até a temperatura de -18°C.

2.4 - Análises físico-químicas

De acordo com SILVA *et al.* (2001) determinou-se sólidos totais (método gravimétrico de estufa), gordura (método MOJONNIER), proteína bruta (método de KJELDAHL). Foi determinado ainda a densidade aparente, e para isso, pesou-se em um béquer 1 litro do produto, com a finalidade de avaliar a conformidade com a legislação vigente.

2.5 - Análise sensorial

Para verificar a aceitação do produto, foi realizada análise sensorial. Utilizou-se a Escala Hedônica de nove pontos, variando de "gostei extremamente" a "desgostei extremamente" de acordo com CHAVES E SPROSSER (1996). Foram selecionados 124 provadores não treinados, e a cada um pedido que escolhesse na ficha indicada a opção que melhor refletisse sua aceitação em relação ao produto.

3 - RESULTADO E DISCUSSÃO

3.1 - Análises físico-químicas

Os resultados obtidos nas análises quanto ao teor de sólidos totais, gordura, e proteínas são indicados no (QUADRO 2).

Quadro 2 - Resultado das análises físico-químicas

Amostra	Proteína (%)	Gordura bruta (%)	Sólidos totais (%)	Densidade aparente gramas/Litro
Sorvete de café	3,27	15,65	40,62	560,28

Os resultados obtidos indicam que o sorvete desenvolvido encontra-se dentro dos padrões de composição exigidos pelo Ministério da Saúde (ANVISA, 1999).

3.2 - Análise sensorial

O produto obteve uma média de 7,19 pontos, o que o coloca entre as opções "gostei moderadamente" e "gostei muito", isso demonstra uma boa aceitação por parte do público.

4 - CONCLUSÃO

O produto desenvolvido apresentou boas características sensoriais. Os atributos de textura, cor, bem como os de sabor e aroma desejados foram alcançados. A análise físico-química revelou um produto de excelente valor nutricional e que do ponto de vista comercial poderia ser classificado como "SUPER PREMIUM", demonstrando assim, ser alternativa de um novo produto lácteo capaz de atender às expectativas de diversificação disponíveis para os consumidores, e também de mais um componente no Mix de produtos das indústrias de laticínios, com potencial para reduzir as grandes diferenças de produção e vendas que existem ao longo do ano no setor de sorvetes no Brasil.

5 - ABSTRACT

The consumption of ice cream in Brazil is about 2,3 L/year for each habitant, most of it consumed in the summer. This work had the objective to develop a technological alternative for the ice cream production, which attempts the sensorial characteristics of the products that are commonly consumed in the winter. The product was made at the Technological Center of EPAMIG, Cândido Tostes Dairy Institute. The coffee ice cream that was obtained have 3,27%

of protein content, 15,65% of fat content and 40,62% of total solids. It was made a sensorial test, in which the product was accept by the judges.

6 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICA

Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Portaria nº 379 – SVS/MS, 26 de abril de 1999. Disponível em: HYPERLINK "http://www.anvisa.org.br" www.anvisa.org.br. Acesso: maio de 2006.

Associação Brasileira das Indústrias de Sorvete (Abis). Disponível em: HYPERLINK "http://www.abia.com.br" www.abia.com.br. Acesso em: Maio/2006.

BRANDÃO, S.C.C. *Tecnologia da fabricação*

de Manteiga e Sorvete. Viçosa, MG, UFV. 1997 (Notas de aula).

CHAVES. J.B.P., SPROSSER, R.L. Práticas de laboratório de análise sensorial de alimentos e bebidas. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, Imprensa Universitária, 1996. 81p

JONES, CHARLES I. *Introdução à teoria do crescimento econômico*; tradução de Maria José Cyhlar Monteiro. – Rio de Janeiro: Campus, 2000. 178p.

PEREIRA, D.B.C. SILVA, P.H.F; COSTA JUNIOR, L.C.G. OLIVEIRA, L.L. *Físico-química do leite e derivados – Métodos analíticos*. 2 ed. Juiz de Fora: Templo Editora 2001.

ILCT



Queijo Coalho - Nordeste do Brasil

Tradicional na culinária brasileira, é largamente fabricado e consumido no nordeste, seja ele assado, na brasa ou frito. Seu consumo se incorporou à cultura regional através de várias gerações, em estados como Pernambuco, Ceará, Rio Grande do Norte e Paraíba, onde se destaca entre os principais tipos de queijo.

Inicialmente, o queijo coalho era fabricado apenas de forma artesanal, feito sem pasteurização e com uso de fôrmas de madeira. Atualmente, algumas fábricas desenvolveram técnicas de fabricação em escala dentro de normas industriais de higiene e qualidade, e ainda, para dar um atrativo especial ao produto utilizam ervas aromáticas na enformagem como: cominho, erva-doce, orégano, cravo da índia, canela etc.

Para saber mais detalhes sobre o queijo, acesse www.fermentech.com.br.

DISTRIBUIDOR DOS PRODUTOS

DANISCO

First you add knowledge...

fermentech

Central de Atendimento

11 6193 4900 | www.fermentech.com.br

TIPIFICAÇÃO DE PROGRAMAS DE LEITE NA ESCOLA

Typifying School Milk Programs

Laura Fernandes Melo Correia¹
Carlos Arthur Barbosa da Silva²

RESUMO

A utilização do leite na merenda escolar tem sido adotada em vários países como veículo para promover o aumento do consumo deste produto. Os programas de Leite na Escola apresentam importância econômica, social e nutricional em países desenvolvidos e em desenvolvimento. Contudo, as justificativas para a sua existência diferem para os diversos ambientes de implantação. O presente trabalho teve como propósito identificar e tipificar os programas de Leite na Escola existentes no exterior e analisar a situação em que se encontram os programas brasileiros que promovem a distribuição de leite na merenda escolar. Os programas foram caracterizados com base em critérios que incluem a forma de financiamento, os objetivos para a sua existência, os custos para o aluno, o tipo de leite utilizado, os volumes distribuídos e a participação do governo, entre outros. A análise foi realizada por meio de um processo de revisão bibliográfica que teve como base principal materiais disponibilizados pela FAO (*Food and Agriculture Organization of the United Nations*), que compreende um survey realizado em 1998 e trabalhos apresentados em Conferências Internacionais sobre Leite na Escola por profissionais ligados a programas deste tipo em seus países. Outras fontes de informações utilizadas foram entrevistas com profissionais das Secretarias de Educação dos Estados e Municípios selecionados e a Internet. Pôde-se observar, que existem múltiplas alternativas para os programas de Leite na Escola com relação aos critérios mencionados. Como exemplo, o tipo de leite utilizado nos programas varia entre os países, podendo ser leite fluido (94,9% dos programas identificados) ou leite em pó combinado ao leite fluido (5,1%). A forma de financiamento também é outro fator que varia bastante, podendo ser feita entre outras formas pelo setor público (65,5% dos países) e pelo privado (24,1%), havendo várias alternativas possíveis.

As atividades de marketing utilizadas para promover o programa incluem inúmeras formas de estimular o consumo de leite, que vão desde a educação nutricional, na sala de aula, à distribuição de leite em shows e eventos esportivos. Os modelos tipificados neste trabalho podem ser úteis para orientar o planejamento de iniciativas similares no Brasil.

Palavras-chave: Leite, Consumo, Merenda Escolar.

1 INTRODUÇÃO

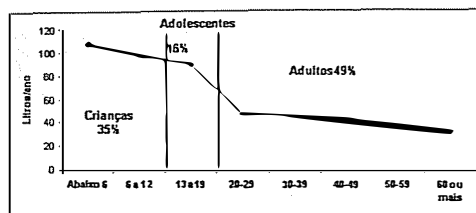
Os programas de distribuição de leite na merenda escolar são considerados importantes instrumentos de política pública para a promoção do setor laticinista, podendo ser utilizados para induzir o aumento do consumo de leite e, conseqüentemente, como estímulo ao desenvolvimento das indústrias de laticínios locais.

Contudo, a importância do leite e dos produtos lácteos nas escolas não deve ser vista apenas com relação ao seu potencial de influenciar o tamanho do mercado, mas também

com relação aos efeitos sobre seu público-alvo: as crianças. Inúmeras pesquisas têm demonstrado que hábitos de dieta são estabelecidos até os 12 anos de idade e, uma vez estabelecidos, permanecem durante a vida adulta. (GRIFFIN, 2001). Além disso, alguns estudos demonstraram que as crianças consomem mais leite que os adultos, fato que pode ser observado pelos dados resumidos na Figura 1. Portanto, as crianças, principais beneficiárias dos Programas de Leite na Escola, são consumidores estratégicos pois, além de serem os consumidores do futuro, representam um mercado promissor.

¹ Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos pela Universidade Federal de Viçosa

² Professor Titular – Universidade Federal de Viçosa – Departamento de Tecnologia de Alimentos



Fonte: NFO WorldGroup, Share of Intake Panel Study (SIP), 2002.

Figura 1 – Consumo de leite fluido (2002), nos Estados Unidos, de acordo com a faixa etária.

A alimentação escolar se enquadra nos programas de caráter social, exercendo papel fundamental “no acesso aos alimentos por uma população vulnerável e numericamente expressiva”. (PROJETO FOME ZERO, 2001). A compra dos produtos utilizados na merenda escolar representa uma parcela significativa do mercado de alimentos, sendo o setor público considerado um importante aliado do produtor, propiciando uma fonte de demanda segura. Outro ponto que evidencia o papel social exercido pelos Programas de Leite na Escola é a promoção do aumento do consumo de leite. Como consequência, tem-se um aumento na produção e um maior número de empregos gerados em toda cadeia de lácteos.

Além de ser importante economicamente e desempenhar um papel social, o leite apresenta enormes vantagens quando seu aspecto nutricional na dieta das crianças é analisado, principalmente quando é comparado a algumas bebidas competitivas, como sucos e bebidas carbonatadas. Segundo ÁLVARES, BERNARDES E NETTO (2002), o leite e seus derivados representam uma das principais fontes de proteína e cálcio na dieta da população brasileira, especialmente para as famílias de baixo poder aquisitivo.

Em função da magnitude dos benefícios proporcionados pelos Programas de Leite na Escola, é de fundamental importância que sejam estudadas todas as suas formas de administração, bem como as alternativas que melhor se adaptam a cada situação particular, em termos de custos, gerenciamento e vantagens nutricionais, entre outros, além do impacto social promovido nas regiões onde os programas são implementados.

Frente à necessidade de se promover o aumento no consumo de leite e assim propor novos mercados para o setor leiteiro, este trabalho teve como propósito identificar e caracterizar os Programas de Leite na Escola praticados no Brasil e no Exterior, como meio de apoio à tomada de decisões pelos órgãos competentes que queiram adotar iniciativas desta natureza.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O processo de tipificação envolveu a caracterização dos Programas de Leite na Escola com base nos seguintes critérios de avaliação: custo, logística, aspectos nutricionais, gerenciamento, existência de subsídios, necessidade de refrigeração, período de validade, quantidade e frequência administrada e armazenagem, entre outros. Para isto, foi realizado um processo de revisão bibliográfica no qual foram identificadas informações relacionadas aos programas existentes no exterior, e àqueles existentes no Brasil.

Grande parte deste processo de revisão bibliográfica foi realizado com o apoio da FAO (*Food and Agriculture Organization of the United Nations*), mediante a disponibilização de material escrito envolvendo os programas do exterior e suas características.

O material consultado inclui resumos que foram apresentados em algumas Conferências sobre Leite na Escola, em países como Canadá e México, por pessoas ligadas ao programa em seus países de origem. Nos eventos, estes profissionais tratam de suas experiências com o Leite na Escola, apresentando suas características, fatores de sucesso e desafios enfrentados.

Outra fonte de informações, também indicada pela FAO, refere-se a um *survey*, realizado em 1998, com o propósito de obter informações sobre as “experiências atuais de implementação dos programas leite escolar”, bem como “discutir tendências gerais no desenvolvimento de tais programas e desenhar conclusões sobre seu papel futuro como veículo para promover o consumo de leite”. (GRIFFIN, 2001)

Entrevistas também foram utilizadas como meio de pesquisa, servindo de ponto de apoio na obtenção de informações que dizem respeito aos Programas de Leite na Merenda Escolar existentes no Brasil. As entrevistas foram feitas junto ao pessoal capacitado de prefeituras selecionadas, Secretarias de Educação Municipais e Estaduais. Buscou-se identificar tais informantes em todos os estados da Federação e nos municípios onde se identificou a existência de programas de Leite na Escola.

A Internet, como veículo utilizado na troca de informações, também foi usada na pesquisa, constituindo uma ferramenta de grande utilidade nos processos de levantamento de informações deste trabalho.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em nível internacional, existem 64 países que declararam à FAO possuir algum tipo de

programa de distribuição de leite na escola. Neste trabalho, foram obtidas informações dos programas de 48 países, cuja tipificação foi realizada segundo o tipo de leite e volume de distribuição, custos para o aluno, embalagens utilizadas, formas de gerenciamento, financiamento e distribuição, aspectos de marketing e principais organizadores. Além dos países caracterizados, cuja relação é apresentada em anexo, Bélgica, Eslovênia, Espanha, Grécia, Hungria, Itália, Luxemburgo, Suíça, Turquia, Barbados, Uruguai, Israel, Paquistão, Etiópia, Tanzânia e Uganda, também possuem programas de distribuição de leite na escola. (GRIFFIN, School Milk List, 15 abril 2003)

Dentre os programas implementados, tem-se os que estão estabelecidos há algum tempo como os da Europa, América do Norte e Japão, os programas recentes do Sudeste da Ásia, China e América Latina e os programas que foram reordenados recentemente, como os da Austrália e Canadá. (SIMÕES, 2002)

3.1 Distribuição de leite no exterior

Conforme pode ser observado pela Figura 2, a maioria dos países pesquisados utiliza leite fluido (94,9%) em seus programas sendo que a opção por leite UHT (54,6%) ou leite pasteurizado (59,1%) não apresenta grandes diferenças. No entanto, não há informações disponíveis quanto ao tipo de leite fluido, UHT ou pasteurizado, para todos os países estudados, de modo que esta constatação deve ser tomada apenas como indicador de tendência. Neste aspecto, a utilização de leite em pó praticamente é uma exceção (5,1%), ocorrendo juntamente com a distribuição de leite fluido. Pela Figura 2, também pode-se observar que grande parte dos países possuem um volume médio de leite distribuído que se situa em torno de 230-350mL (48,8% dos países).

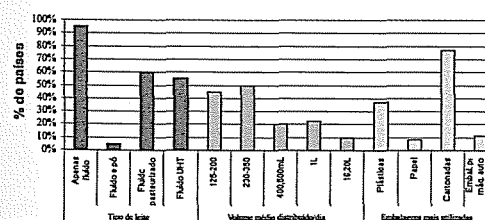


Figura 2 – Porcentagem dos países pesquisados segundo o tipo de leite, volume distribuído e embalagens mais utilizadas.

Quanto ao tipo de embalagem adotado nos programas, observa-se também pela Figura 2, que a grande maioria dos países pesquisados utiliza

embalagens cartonadas para distribuição de leite aos alunos, sendo esta utilizada isoladamente em países como a Malásia ou combinada a outros tipos, como na Moldova.

Com relação ao custo do leite, pode-se observar pela Figura 3 que a maioria dos países aqui caracterizados subsidia o preço do leite pago pelos alunos (43,9%). Em contrapartida, em 23,8% o leite é vendido aos alunos sem subsídios. Já o leite é gratuito para os alunos em 26,2% dos casos.

Pela Figura 3, também observa-se que nos países onde o leite é subsidiado ou distribuído gratuitamente, o financiamento é feito principalmente pelo governo (65,5%). Em segundo lugar, encontram-se os países dos alunos que pagam pelo leite em 31,0% dos casos. A indústria e a União Européia também financiam estes programas, ambas apresentando um percentual de participação de 24,1%. Já os produtores de leite aparecem em último lugar, financiando a distribuição de leite em 6,9% dos países. A Figura 3 também faz um paralelo entre os países desenvolvidos e em desenvolvimento (classificação segundo a Organização das Nações Unidas) com relação a participação do governo no financiamento dos programas. Dos países pesquisados, classificados como países em desenvolvimento, o governo financia o programa em 37,9% dos casos. Já entre os países desenvolvidos, este financiamento ocorre em 27,6% dos países. Interessante notar que países como Japão e alguns países da Europa, têm seus programas de Leite na Escola total ou parcialmente financiados pelo governo, enquanto que países pobres, visivelmente necessitados, têm seus programas interrompidos, devido à carência de recursos públicos.

Num país como o Brasil, onde o público-alvo do programa é bastante numeroso, o financiamento torna-se uma questão crucial. A utilização de recursos públicos, neste caso, é imprescindível, face à condição financeira da grande maioria dos estudantes beneficiários do programa. O apoio financeiro, dado pelos pais, em alguns países, como Austrália, Canadá e México, parece impraticável em larga escala no Brasil, visto que a presença na escola, é em muitos casos estimulada pelo oferecimento de uma refeição adequada, ou por programas sociais, como o Bolsa-Escola do Governo Federal. No entanto, existem várias possibilidades com relação ao financiamento, sendo possível diferenciar programas de distribuição de leite para crianças de baixa renda e para crianças pertencentes a classes mais altas. Essa diversificação permite, por exemplo, que programas destinados à crianças de baixo poder aquisitivo sejam mantidos pelo setor público, sendo o leite distribuído, gratuitamente. Por outro lado, pode-se ter programas nos quais não há participação

financeira do governo, podendo haver parcerias entre este e o setor privado, como por exemplo, em escolas particulares, onde o leite poderá ser vendido.

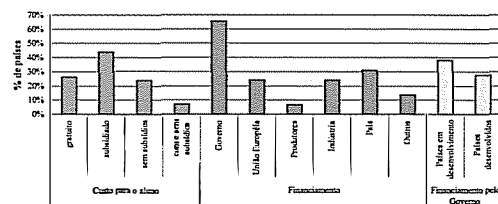


Figura 3 – Porcentagem dos países pesquisados quanto ao custo do leite para o aluno e às formas de financiamento, englobando um paralelo entre países desenvolvidos e em desenvolvimento.

Como pode-se observar pela Figura 4, o gerenciamento dos Programas de Leite na Escola é feito principalmente pela direção das escolas e professores, assim como pelos funcionários das cantinas, ambos os grupos apresentando um percentual de 65,8%. Os alunos e pais também auxiliam na função de gerenciar os programas, sendo relevante, neste caso, a participação dos primeiros (34,2%). Outros dois setores da sociedade, indústria e governo, também participam do gerenciamento dos programas. Neste sentido, destaca-se a baixa participação do governo nesta função, em torno de 13,2%.

Pela Figura 4, também pode-se observar os setores da sociedade que organizam com maior frequência os Programas de Leite na Escola. A indústria desponta em primeiro lugar participando desta função em 52,8% dos países, seguido do governo (50%). Relevante neste sentido, é a participação da comunidade (33,3%) que se iguala ao percentual representado pelas escolas.

O que se observa após a análise dos resultados é que o papel exercido pelo governo nos programas de Leite na Escola, se combina, em muitos países, ao papel exercido por outros setores da sociedade. Isso se deve ao fato de ser praticamente impossível levar adiante um programa do porte do Leite na Escola com base em iniciativas isoladas, havendo a necessidade de unir os setores público, social e privado, em torno de objetivos comuns.

Quanto às formas de distribuição, pode-se observar também pela Figura 4 que a maioria dos países pesquisados distribui o leite aos alunos em cantinas (79,4%). A segunda opção adotada em 67,6% dos países é a distribuição em salas de aula. Já a adoção de máquinas automáticas, bares e balcões de leite é feita por 52,9% países.

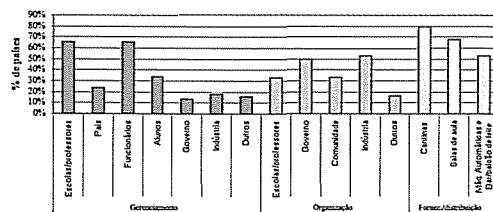


Figura 4 – Porcentagem dos países pesquisados quanto ao gerenciamento e organização dos programas e quanto às formas de distribuição.

Com relação aos objetivos estabelecidos ao implantar Programas de Leite na Escola, pode-se observar que praticamente todos os países pesquisados apontam como razão principal a melhora dos hábitos alimentares, visando também uma melhora na saúde e nutrição dos beneficiários. Somando-se a este objetivo geral e explícito, encontram-se outros mais específicos e implícitos, tais como o desenvolvimento da indústria, o fortalecimento dos produtores de leite, o estímulo à frequência às aulas, diminuindo a evasão e a repetência escolares, entre outros.

No que diz respeito aos aspectos de marketing, a maioria dos programas existentes pelo mundo enfoca em suas atividades promocionais o papel nutricional exercido pelo leite. Desta forma, campanhas promocionais envolvendo celebridades, competições esportivas, fornecimento de material educacional, são algumas das alternativas utilizadas, principalmente pela indústria, para promover o consumo de leite. No entanto, mesmo com todas as atividades promocionais o que se constata após análise dos Programas, é que ainda há a necessidade de esclarecer os benefícios de se tomar leite junto às crianças, pais e autoridades educacionais e de saúde.

3.2 Distribuição de leite no Brasil

A distribuição de leite para crianças no Brasil já fez parte de programas do Governo Federal no passado, como o Programa Nacional do Leite para Crianças Carentes (PNLCC), criado em 1986, no Governo Sarney.

Atualmente, o programa de distribuição de leite no Brasil, na maioria dos estados, está incluído no Programa Nacional de Alimentação Escolar (PNAE), que teve início em 1954, sendo o mais antigo programa social do Governo Federal, dentro da área da Educação. (www.fnde.gov.br, 2002)

A dificuldade de obtenção de informações acerca dos programas de distribuição de leite nas escolas, impossibilitou a completa caracterização de tais programas no Brasil. No entanto, os

contatos feitos com todos os Estados da Federação demonstraram a existência de poucos programas formalmente constituídos. Admite-se, entretanto, a possível existência de outros programas que realizam compras isoladas, como reflexo do processo de descentralização da merenda escolar. Os dados obtidos permitiram a caracterização dos programas dos Estados do Paraná, Pernambuco e Rio Grande do Sul, e da cidade de São Paulo.

De acordo com os resultados, observa-se que o leite utilizado nos programas brasileiros é predominantemente leite em pó, com exceção do Estado de Pernambuco, que distribui leite fluido pasteurizado e UHT. Esta prática permitiu a este Estado recuperar sua Bacia Leiteira, criando novas frentes de trabalho e abrindo espaço para os produtores locais que estavam desempregados e, agora possuem como alternativas de trabalho, as fazendas produtoras de leite e os postos de distribuição.

A distribuição do leite, feita principalmente nas cantinas das escolas, é realizada de forma gratuita aos alunos da rede pública. Na capital paulista, onde o leite é distribuído para ser consumido em casa, a concessão do benefício está vinculada à frequência às aulas de no mínimo 90%, nos meses anteriores à distribuição.

A organização dos programas fica a cargo do Governo Federal, no Paraná e no Rio Grande do Sul, dos Governos Federal e Estadual em Pernambuco e da Prefeitura de São Paulo, na capital paulista.

Como pode-se observar, a distribuição de leite na escola, no Brasil, não é considerado um programa prioritário, como acontece em outros países. O que se observa é que são poucos os Estados e municípios que possuem programas deste tipo e, na maioria dos casos estes se baseiam em decisões isoladas. No Brasil, o não reconhecimento da importância de tais programas permite que os programas já existentes sejam descontinuados frente a uma mudança de orientação política, corte de verbas ou qualquer outra justificativa.

Um dos principais problemas que dificultam esta distribuição de leite se refere a exigência dos processos licitatórios, utilizados para aquisição de produtos destinados à merenda escolar, o que acaba prejudicando pequenas empresas, que muitas vezes, não têm como preencher todas as exigências destes processos.

4 CONCLUSÕES

Pelo que foi observado, pode-se concluir que programas como os aqui enfocados apresentam enorme importância em todos os países nos quais foram implementados, havendo uma variação no nível de relevância entre as regiões estudadas, no que diz respeito ao papel social e econômico por eles desenvolvido.

Programas de distribuição de leite na escola exercem um importante papel na saúde dos estudantes, haja vista o valor nutricional deste alimento. A utilização do leite pode também ser benéfica para a economia de um país, na medida em que previne uma série de doenças, entre estas a osteoporose, as quais poderiam provocar gastos onerosos do poder público.

No entanto, um programa de Leite na Escola deve ser visto não apenas sob a ótica da saúde e nutrição, mas também deve ser encarado como um instrumento de política que fomenta o desenvolvimento econômico, através da geração de empregos, da melhoria da renda e da arrecadação de impostos. Ademais, estimula o desenvolvimento rural e industrial e o crescimento da indústria de laticínios, além do papel social exercido, na medida em que é utilizado, em vários países, como um veículo para diminuir a evasão e a repetência escolares.

SUMMARY

The use of milk in school meal programs has been adopted in various countries as a means to promote an increase in the use of this product. School Milk Programs have an economic, social, and nutritional importance in developed and developing countries. However, the reasons for their implementation differ according to the several types of environments. This work aimed to identify and typify the School Milk Programs established abroad and analyze the Brazilian programs which currently promote milk distribution in schools. The programs were characterized on the basis of criteria including financial conditions, objectives, student costs, type of milk utilized, volume distributed and government participation, among others. Analysis was conducted by a bibliographic review based mainly on material made available by FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations), comprising a survey carried out in 1998 and works presented at international conferences on School Milk by professionals involved with similar programs in their countries. Other sources of information used were interviews with professionals from selected state and municipal Secretaries of Education and the Internet. It can be observed that multiple alternatives are available for School Milk Programs in regard to the mentioned criteria. For instance, the type of milk utilized in the programs varies from country to country, from fluid milk (94.9% of the programs identified) or a combination of powdered and fluid milk (5.1%). Financing is another varying factor, ranging from public (65.5%) to private (24.1%), with various other alternatives being possible. The marketing activities utilized to promote the program include several forms of

stimulating milk consumption, such as nutritional education inside the classroom and milk distribution at cultural and sport events. The models typified in this work may be useful in guiding the planning of similar initiatives in Brazil.

Key-words: milk, consumption, school meal

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABDULAH, A. **Seminário**. Conferencia Internacional sobre Leche Escolar, México, maio 2002.
- ÁLVARES, J.G., BERNARDES, P.R., NETTO, V.N. **Políticas para o agronegócio do leite: conquistas e desafios**. In: BRESSAN, M., et al. (Editores). O agronegócio de leite e políticas públicas para o seu desenvolvimento sustentável. Embrapa Gado de Leite, 2002. Cap. 1, p.11-27. Juiz de Fora – MG.
- BAOWEN, H. E. Z. **School Milk Program in China**. Conferencia Internacional sobre Leche Escolar, México, maio 2002.
- BAUERNFRIED, M. **School Milk in Áustria**. Conferencia Internacional sobre Leche Escolar, México, maio 2002.
- BEIRUTE, J. **Dairy Outlook List**, 17 março 2002.
- BISHOP, B. **Government support has allowed us to significantly grow the Ontario School Milk Program**. Conferencia Internacional sobre Leche Escolar, México, maio 2002.
- BRANDÃO, A. S. P. LEITE, J. L. B. **O desempenho e as perspectivas para o agronegócio do leite brasileiro no mercado internacional**. In: BRESSAN, M., et al. (Editores). O agronegócio de leite e políticas públicas para o seu desenvolvimento sustentável. Embrapa Gado

- de Leite. 2002. Cap. 8, p.105-149. Juiz de Fora – MG.
- EUA: estudo mostra que leite escolar ajuda a melhorar a nutrição das crianças**. PR Newswire, National Dairy Council, publicado em Dairy Herd Management, 2002. Disponível em <www.milkpoint.com.br> Acesso em: 04 outubro 2002.
- Governo do Estado do Paraná, 20 setembro 2002.
- Governo do Estado de Pernambuco – CEAGEPE, Secretaria de Produção Rural e Reforma Agrária, 07 novembro 2002.
- Governo do Estado do Rio Grande do Sul (Secretaria de Estado da Educação – Assessoria de Comunicação Social), 17 junho 2002.
- GRIFFIN, M. **School Milk List**, 15 abril 2003.
- GRIFFIN, M., **The Success and Role of School Milk Programmes around the World**. 1st North American Conference on School Milk, Canadá, junho 2001. 53 p. Leve-Leite. Disponível em <www.prodam.sp.gov.br/semab/produtos/leveleite.htm> Acesso em: 06 junho 2002.
- Merenda Escolar (www.fnde.gov.br)
- Prefeitura de São Paulo, Departamento de Alimentação e Suprimento, 22 outubro 2002.
- Projeto Fome Zero**, Uma Proposta de Política de Segurança Alimentar para o Brasil, Instituto Cidadania, outubro/2001, 118p..
- SANTOS, J. A. **Leite – Marketing para estimular o consumo e fortalecer o setor**. Leite & Derivados, nº 67, Edição Novembro/Dezembro de 2002. Disponível em <www.lacteabrasil.org.br/pagina_indice.asp?iditem=328> Acesso em: março 2003.
- SIMÕES, A. **Panorama Internacional sobre los Programas de Leche Escolar**. Conferencia Internacional sobre Leche Escolar, México, maio 2002.

6 ANEXO

Tabela 1 - Relação de países que possuem Programas de Leite na Escola, identificados neste trabalho.

1 África do Sul	17 Finlândia	33 Moldova
2 Alemanha	18 França	34 Namíbia
3 Arábia Saudita	19 Guiana	35 Noruega
4 Argentina	20 Holanda	36 Nova Zelândia
5 Austrália	21 Índia	37 Omã
6 Áustria	22 Indonésia	38 Portugal
7 Bangladesh	23 Irã	39 Reino Unido
8 Canadá	24 Irlanda	40 República Checa
9 China	25 Islândia	41 Rep. Dominicana
10 Colômbia	26 Japão	42 Suazilândia
11 Dinamarca	27 Jordânia	43 Suécia
12 Egito	28 Lesoto	44 Tailândia
13 Eslováquia	29 Líbano	45 Trinidad Tobago
14 Estados Unidos	30 Malásia	46 Vietnã
15 Estônia	31 Malauí	47 Zâmbia
16 Filipinas	32 México	48 Brasil

MÉTODO DE PREPARO DE AMOSTRA DE REQUEIJÃO CREMOSO PARA AVALIAÇÃO POR MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (SEM)

Method for the preparation of samples of Requeijão cremoso for Scanning Electron Microscopy analysis (SEM)

Darlila Aparecida GALLINA¹
Ariene Gimenes Fernandes VAN DENDER²

RESUMO

Microscopia é um dos procedimentos de análises físico-químicas e mostra a distribuição espacial de componentes corpusculares e a estrutura global de ingredientes e produtos. A microscopia eletrônica tem sido usada para estudar a microestrutura dos componentes individuais de produtos lácteos como micelas de caseína e glóbulos de gordura, e mudanças nestes componentes sozinhos ou por interação com ingredientes durante o processo de fabricação. Este trabalho apresenta uma metodologia de preparo de amostra desenvolvida e adaptada para requeijão cremoso a partir de metodologias utilizadas para queijo processado, com o objetivo de avaliar a microestrutura do referido produto pela técnica de Microscopia Eletrônica de Varredura (SEM). Os resultados obtidos para uma amostra de requeijão cremoso avaliada sugerem que o método proposto neste trabalho pode ser empregado no preparo de amostra deste tipo de produto, para posterior exame e avaliação pela técnica de Microscopia Eletrônica de Varredura (SEM).

Palavras-chave: microscopia eletrônica; método de preparo de amostra; requeijão cremoso; microestrutura; microscopia eletrônica de varredura.

1 INTRODUÇÃO

Microscopia é um dos procedimentos de análises físico-químicas e mostra a distribuição espacial de componentes corpusculares e a estrutura global de ingredientes e produtos. A microscopia eletrônica estende a resolução a diversos nanômetros (1nm = 1 x 10⁻⁹m). Devido ao alto custo do microscópio e dos equipamentos auxiliares, o microscópio eletrônico ainda não é usado em análises de rotina na indústria de alimentos, sendo usado em pesquisas e desenvolvimentos, contribuindo para caracterização estrutural do material sob estudo e para correlacionar a estrutura e as propriedades físicas dos alimentos (KALAB, 1993).

Na técnica conhecida como Microscopia Eletrônica de Varredura ou SEM (sigla em inglês para "Scanning Electron Microscopy"), um feixe

de elétrons muito fino é focalizado na superfície da amostra. Alguns destes elétrons são refletidos e outros podem originar elétrons de muito baixa energia (secundários) a partir da camada de ouro que reveste a amostra. Estes elétrons secundários de baixa energia produzem uma imagem que é observada em um monitor e fotografada usando uma câmera acoplada, de acordo com o esquema mostrado na Figura 1 (KALAB, 2000). A técnica SEM mostra a superfície da amostra, e é utilizada para visualizar em detalhes objetos tridimensionais, como por exemplo, a rede de proteínas em queijos.

Em geral, produtos lácteos podem ser divididos em dois grupos com relação à sua composição: um consiste principalmente de proteínas do leite, que são caseínas e soro-proteínas e o outro de gordura. Em sua maioria,

¹ Estudante de pós-graduação – Doutorado. Universidade Estadual de Campinas - Departamento de Tecnologia de Alimentos- FEA-UNICAMP. darlila@ital.sp.gov.br

² Instituto de Tecnologia de Alimentos- Centro de Pesquisa e Desenvolvimento de Laticínios- TECNOLAT, Av. Brasil no 2880, Campinas-SP. adender@ital.org.br

os queijos são compostos de ambos, proteínas e gordura, e por isso requerem procedimentos especiais dependendo do objeto de interesse. Quando a microestrutura de produtos lácteos é estudada por microscopia eletrônica, a composição do produto é levada em consideração antes da técnica adequada ser selecionada.

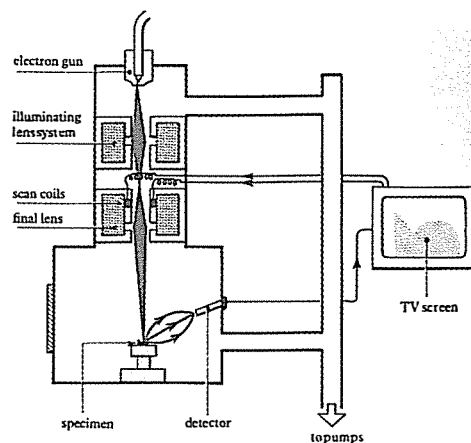


Figura 1 - Esquema do funcionamento do sistema do Microscópio Eletrônico de Varredura - SEM (KALAB, 2000).

Microscopia eletrônica tem sido usada para estudar a microestrutura dos componentes individuais de produtos lácteos, como micelas de caseína e glóbulos de gordura, e mudanças nestes componentes sozinhos ou por interação com ingredientes durante o processo de fabricação. Micelas de caseína são agregadas no leite durante a produção de queijos e glóbulos de gordura são aprisionados no coágulo. No estudo de microscopia por SEM é necessário remover a gordura da amostra. No preparo da amostra o queijo é fixado em solução de glutaraldeído, pós-fixado com OsO_4 , desidratado em uma série alcoólica, desengordurado com clorofórmio e seco em ponto crítico (COHEN, et al., 1981).

Na metodologia SEM o glutaraldeído é o fixador mais comumente usado, porém fixa somente as proteínas. As concentrações usadas variam dentro de uma ampla faixa, assim como a duração da fixação. Lipídios insaturados em alimentos podem ser fixados usando tetróxido de ósmio após a fixação com glutaraldeído. O tetróxido de ósmio reage com as duplas ligações dos ácidos graxos insaturados, levando à formação de um diol e trióxido de ósmio, sendo que o ósmio é facilmente removido por hidrólise. A fixação com glutaraldeído e pós-fixação com tetróxido de ósmio preservam as membranas dos glóbulos de gordura que são compostas de lipoproteínas.

O alto teor de gordura ou a presença de glóbulos de gordura muito grandes em produtos lácteos pode causar dificuldades durante o fraturamento da amostra. A gordura (lipídios) é parcialmente fixada durante a pós-fixação com tetróxido de ósmio. A falta de um fixador de gordura, ou seja, a não pós-fixação com tetróxido de ósmio pode levar à presença de resíduos de gordura na amostra na forma de minúsculos glóbulos (KALAB, 2000).

Produtos com alto teor de gordura como queijos, preparados para serem analisados pela técnica SEM na forma seca, são geralmente desengordurados, pois a gordura presente na amostra pode causar várias dificuldades, como por exemplo escurecer a matriz protéica. A gordura pode ser extraída com acetona durante a desidratação da amostra, com uma mistura de éter de petróleo e éter etílico ou com clorofórmio. No caso de se utilizar o clorofórmio, após a desidratação o mesmo deve ser substituído por álcool, acetona ou acetato, os quais por serem miscíveis em CO_2 líquido facilitam a secagem posterior da amostra. A amostra é desidratada em uma série alcoólica gradual, desengordurada em solvente (acetona) e seca em ponto crítico em CO_2 . Como a secagem pode alterar a microestrutura original do produto, a rede protéica deve ser primeiramente fixada (COHEN, et al., 1981).

A secagem em ponto crítico, ou do termo em inglês Critical-Point Drying (CPD) é uma técnica apropriada para secagem da maioria dos produtos lácteos que tenham sido previamente fixados e desidratados em série gradual com etanol ou acetona. Esta técnica é baseada na conversão do CO_2 líquido, no qual a amostra desidratada é imersa em um sistema fechado e com o qual é gradualmente impregnada, para forma gasosa pelo aumento da temperatura acima do ponto crítico. Acima desta temperatura o CO_2 existe somente como um gás. A CPD é conveniente para a maioria dos produtos lácteos compostos principalmente por proteína e não deve ser usada em produtos que contenham amidos gelatinizados. A gordura também pode ser afetada durante a CPD devido ao fato do solvente orgânico e do CO_2 líquido apresentarem propriedades lipofílicas, portanto é necessário desengordurar a amostra de produtos com alto teor de gordura antes de se efetuar a secagem em ponto crítico (COHEN, et al., 1981).

As amostras secas são fraturadas antes de serem montadas em "stubs" de alumínio para SEM (Figura 2a). A fratura é feita manualmente com o auxílio de um microscópio de baixo aumento dotado de um foco de luz para facilitar a operação. Uma lâmina é comprimida na borda da amostra e esta é quebrada, ou, alternativamente, a amostra pode ser rompida pressionando-se as extremidades com o auxílio de duas pinças. Os fragmentos da

amostra são, a seguir, montados em "stubs" para SEM utilizando-se um cimento condutivo de prata coloidal; também foi relatado o uso de outros agentes para colagem, como brilho para unhas (esmalte) misturado com carbono (grafite). A importância de se usar o cimento de prata com uma consistência apropriada se deve ao fato de que um cimento fino ou fraco demais pode penetrar no fragmento seco e este se romper, ao passo que um cimento grosso ou denso demais pode não colar ou fixar o fragmento ao "stub" com segurança ou firmeza suficiente para proporcionar uma superfície condutora contínua. Para examinar a amostra pela técnica SEM, a mesma deve ser eletricamente condutora. Substâncias biológicas em geral apresentam dois problemas na aplicação da técnica SEM: a água deve ser removida sem destruir a estrutura e a amostra deve ser condutível. Porém, como material biológico não é condutível, isto pode ser conseguido por procedimentos químicos no qual a amostra é impregnada com ósmio ou, mais frequentemente, por revestimento físico com ouro (Figura 2b), ouro-paládio, platina, ou irídio; geralmente ambos os procedimentos são combinados (COHEN, et al., 1981).

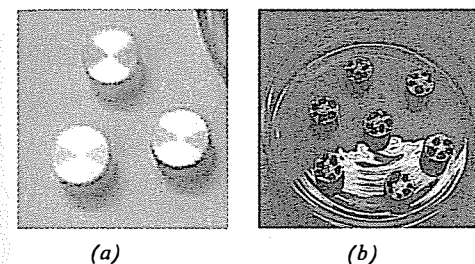


Figura 2 - "Stubs" de alumínio (a) e Amostra colada nos "stubs" e revestida com ouro (b).

Os fragmentos da amostra podem ser revestidos com ouro em altas pressões (13 a 133 mPa ou 10^{-4} a 10^{-3} Torr), o que permite que os átomos de ouro colidam com moléculas de nitrogênio e se depositem na amostra em várias direções. O revestimento da amostra com ouro (metalização) é feito à temperatura ambiente em evaporador a vácuo, com argônio. Devido à fina microestrutura dos produtos lácteos, para se obter a resolução necessária para aplicar a técnica SEM deve-se usar uma voltagem de 5 a 20 kv (COHEN, et al., 1981).

Diversos autores descreveram métodos de preparação de amostra de queijo processado para observação da microestrutura pela técnica SEM, com destaque para RAYAN, 1980 (apud COHEN, et al., 1981) e MARCHESSEAU et al. (1997).

A metodologia utilizada por RAYAN, 1980 (apud COHEN, et al., 1981) para preparar as amostras de queijo processado constou das seguintes etapas: as amostras foram fixadas em solução de glutaraldeído 1,4%, desidratadas em uma série alcoólica, desengorduradas em clorofórmio e secas em ponto crítico com CO_2 . As amostras secas foram então fraturadas e os fragmentos foram montados em "stubs", revestidos com carbono e ouro por evaporação sob vácuo e examinados em microscópio eletrônico operado em 20 kv para observar a microestrutura do referido queijo. Por outro lado, a metodologia de preparo da amostra de queijo processado utilizada por MARCHESSEAU et al. (1997) difere da anterior em algumas etapas e obedece ao seguinte protocolo: as amostras foram cortadas em pequenos blocos e fixadas por 2 horas a 20°C em solução de glutaraldeído 2,0% e tamponadas com tampão fosfato 0,05M no valor de pH do queijo. A seguir, as amostras foram desidratadas em triplicata por 15 minutos, com uma série de etanol (25, 50, 70, 80, 95 e 100%), desengorduradas em clorofórmio, retornando ao etanol e secando em ponto crítico com CO_2 . Após a secagem as amostras foram fraturadas e cimentadas em "stubs" de alumínio com cola de prata, revestidas com ouro e finalmente examinadas por SEM operando em 15 kv.

O presente trabalho apresenta um método desenvolvido e adaptado para o preparo da amostra de requeijão cremoso a ser avaliado por Microscopia Eletrônica de Varredura - SEM, com base nos métodos utilizados para queijo processado. O requeijão cremoso originou-se de fabricações caseiras visando o aproveitamento do leite coagulado, ou seja, da coalhada obtida por coagulação espontânea do leite devido à acidificação pela flora láctica natural do leite. A nível industrial o requeijão cremoso consiste atualmente em um produto lácteo fabricado a partir de leite desnatado cru ou pasteurizado, com ou sem adição de culturas lácticas, obtido pela fusão de massa fresca, gordura láctea e sais fundentes (FERNANDES, 1981; FERNANDES; MARTINS, 1980; OLIVEIRA, 1986; MUNCK; CAMPOS, 1984). Sua produção aumentou 144,32% entre os anos 1991 e 2000, o que coloca em evidência o grande valor comercial deste produto (ABIQ, 2002).

Entende-se, portanto, a importância de se desenvolver e/ou adaptar novas metodologias de análise para o requeijão cremoso, especialmente métodos que além de permitirem caracterizar o produto permitem também a avaliação do efeito de processos e de ingredientes na microestrutura do mesmo. Sendo assim, neste trabalho pretende-se disponibilizar um método especialmente adaptado para a preparação da amostra de um

produto tipicamente brasileiro para posterior avaliação de sua microestrutura pela técnica SEM.

3 MATERIAL E MÉTODOS

Adaptação de método de preparo da amostra de requeijão cremoso para avaliação pela técnica sem - Microscopia Eletrônica de Varredura.

O método de preparo das amostras de requeijão cremoso tradicional (copo) para aplicação da técnica de Microscopia Eletrônica de Varredura (SEM) foi adaptado a partir daquele preconizado para queijos processados, levando-se em conta a composição do produto, principalmente em relação ao teor de gordura e de proteína. Foram utilizadas amostras de requeijão cremoso tradicional contendo entre 18 e 21% de gordura e 10 e 13% de proteínas.

As amostras de requeijão cremoso tradicional foram inseridas em seringa plástica de 3 mL e impulsionadas em solução de glutaraldeído 2,5%

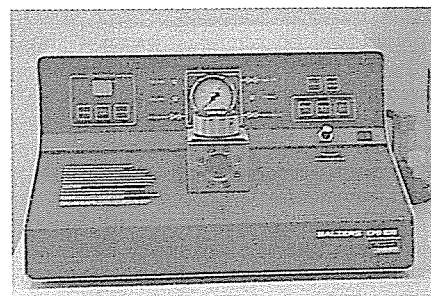


Figura 3 - Equipamento Critical Point Dryer Modelo CPD 030 utilizado para secagem das amostras em ponto crítico com CO₂ (a) e Microscópio de baixo aumento dotado de foco de luz utilizado para facilitar a operação de fratura das amostras (b).

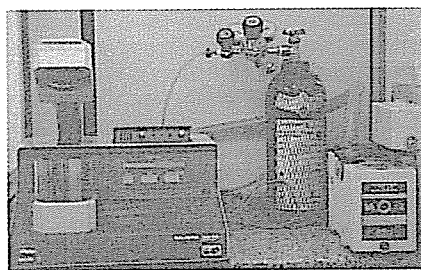


Figura 4 - Equipamento Sputter Coater SCD 050 utilizado para metalização das amostras fraturadas e coladas nos "stubs" de alumínio.

de maneira a formar finos cordões. A seguir foram fixadas durante 5 horas à temperatura ambiente, lavadas com tampão fosfato 0,1 M três vezes durante 30 minutos e então pós-fixadas com tetróxido de ósmio 0,1 M "overnight" (aproximadamente 15 horas). As amostras foram novamente lavadas com tampão fosfato 0,1 M por três vezes durante 30 minutos cada vez, sendo desidratadas em série alcoólica (etanol 70%, etanol 80%, etanol 90%, etanol 95%, e etanol 100%) e, em seguida, desidratadas em acetona 100%. As amostras foram embrulhadas em papel óptico, mantidas em acetona 100% e levadas para secagem em ponto crítico com CO₂ no equipamento Critical Point Dryer - modelo CPD 030 (Figura 3a). Posteriormente as amostras secas foram fraturadas com auxílio de microscópio de baixo aumento dotado de foco de luz (Figura 3b) e coladas em "stubs" de alumínio, metalizadas com ouro (40 mA) no aparelho Sputter Coater SCD 050 (Figura 4) por 240 segundos e examinadas em microscópio eletrônico de varredura (SEM) JEOL, Modelo JSM 5800 LV (Figura 5) operando em 10 kv.

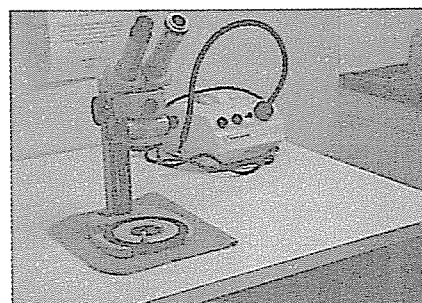


Figura 5 - Microscópio Eletrônico de Varredura JEOL, Modelo JSM 5800 LV utilizado para observação da microestrutura da amostra de requeijão cremoso.

A Figura 6 apresenta as principais etapas do procedimento de preparação das amostras.

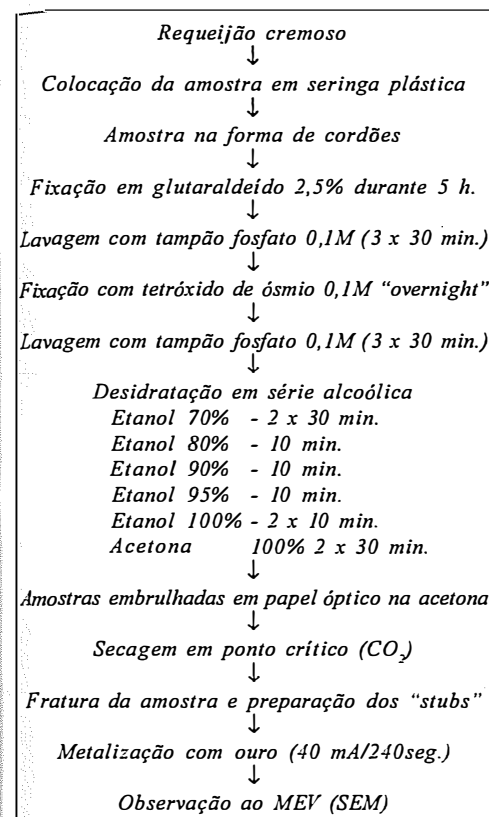


Figura 6 - Etapas do preparo das amostras de requeijão cremoso para observação da microestrutura pela técnica de Microscopia Eletrônica de Varredura (SEM).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Devido à estrutura do requeijão cremoso e à sua viscosidade, é inviável cortar as amostras em pequenos blocos, como foi citado por MARCHESSEAU et al. (1997). Para resolver esta questão optou-se por inserir a amostra no glutaraldeído de forma que os fragmentos obtidos tivessem a espessura adequada, ou seja, não fossem tão grossos que viessem a impossibilitar a devida penetração do glutaraldeído e do ósmio na amostra. Para isso utilizou-se uma seringa plástica de 3 mL obtendo-se então finos cordões da amostra que eram impulsionados na solução de glutaraldeído de tal forma que a espessura dos mesmos permitiu a adequada fixação e pós-fixação da amostra e a ruptura da amostra para preparação nos "stubs".

As amostras foram fixadas em glutaraldeído 2,5% durante 5 horas de maneira similar ao método de MARCHESSEAU et al. (1997), porém com concentração e tempo ligeiramente superiores, para garantir a fixação adequada.

As amostras foram pós-fixadas com tetróxido de ósmio, o que não foi utilizado nas metodologias de RAYAN, 1980 (apud COHEN, et al., 1981) e MARCHESSEAU et al. (1997). Neste caso optou-se por este procedimento, pois como o requeijão cremoso apresenta elevado teor de gordura, a presença da gordura poderia causar problemas durante o fraturamento da amostra. Como a gordura (lipídios) é parcialmente fixada durante a pós-fixação com tetróxido de ósmio esta etapa evita que a gordura seja totalmente extraída com solventes lipofílicos, como por exemplo a acetona durante o processo de secagem em ponto crítico com CO₂. O tetróxido de ósmio também exerce um papel fundamental, favorecendo a condutividade da amostra, o que possibilita que a mesma seja avaliada pela técnica SEM. O tempo de pós-fixação com tetróxido de ósmio deve ser tal que permita a penetração e impregnação do mesmo no interior da amostra.

O procedimento empregado na desidratação das amostras foi ligeiramente diferente daquele utilizado por MARCHESSEAU et al., 1997 (25, 50, 70, 80, 95 e 100%), utilizando-se uma série alcoólica gradual de etanol (70, 80, 90, 95 e 100%). Após a desidratação RAYAN, 1980 (apud COHEN, et al., 1981) e MARCHESSEAU et al. (1997) utilizaram clorofórmio para desengordurar a amostra antes da secagem em ponto crítico com CO₂. A gordura pode ser extraída com acetona durante a desidratação da amostra, com uma mistura de éter de petróleo e éter etílico ou com clorofórmio. No caso de se utilizar o clorofórmio, o mesmo deve ser substituído por álcool, acetona ou acetato, os quais por serem miscíveis em CO₂ líquido facilitam a secagem posterior da amostra. Portanto, decidiu-se utilizar a acetona para desengordurar a amostra, já que o uso de tal solvente facilita a próxima etapa, ou seja, a secagem em ponto crítico.

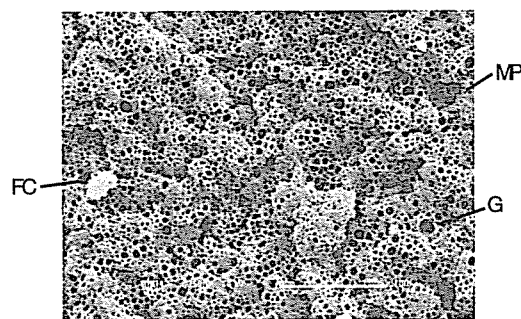
Após a secagem, as amostras são fraturadas manualmente e coladas ou cimentadas em pequenos artefatos de alumínio denominados "stubs". A colagem pode ser feita utilizando cola de prata coloidal, porém devido ao alto custo da cola de prata uma alternativa viável consiste no uso de esmalte incolor contendo carbono (grafite), de forma a garantir a condutividade da amostra.

As amostras são metalizadas por evaporação sob vácuo, ou seja, revestidas com uma fina camada de ouro, proporcionando a condutividade da mesma necessária para sua observação pela técnica SEM.

Devido à fina microestrutura dos produtos lácteos, para obter a resolução necessária ao emprego de SEM deve-se usar uma voltagem de 5

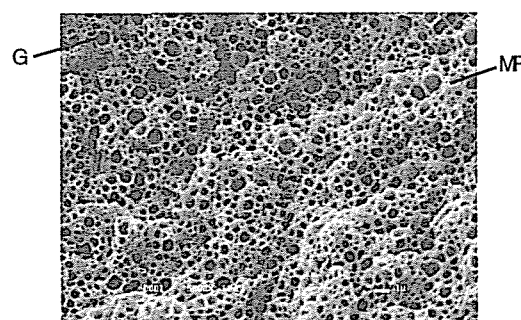
a 20 kv. RAYAN, 1980 (apud COHEN, et al., 1981) observou as amostras de queijo processado em 20 kv e MARCHESSEAU et al. (1997) em 15 kv. Para as amostras de requeijão cremoso avaliadas neste trabalho, a melhor resolução foi conseguida operando o microscópio em 10 kv.

Nas Figuras 7 e 8 observam-se os resultados da aplicação da técnica de Microscopia Eletrônica de Varredura (SEM) para amostra de requeijão cremoso tradicional (copo) preparada de acordo com o método proposto neste trabalho.



FC = cristais de fosfato de cálcio; MP = Matriz protéica; G = espaço vazio onde se encontrava o glóbulo de gordura.

Figura 7 - Microscopia Eletrônica de Varredura (SEM) de Requeijão cremoso tradicional (teor de gordura: 18,29%; teor de proteína total: 10,77%; massa obtida por acidificação direta a quente; tratamento térmico do produto até 90°C). Aumento de 3500 x, 10 kv.



MP = Matriz protéica; G = espaço vazio onde se encontrava o glóbulo de gordura.

Figura 8 - Microscopia Eletrônica de Varredura (SEM) de Requeijão cremoso tradicional (teor de gordura: 20,40%; teor de proteína total: 12,52%; massa obtida por acidificação direta a quente; tratamento térmico do produto até 90°C). Aumento de 5000 x, 10 kv.

Os espaços vazios na matriz protéica observados nas Figuras 7 e 8 indicam a presença inicial de partículas de gordura e seus agregados nas amostras, as quais foram extraídas durante a preparação das mesmas para a observação pela técnica SEM (TAMIME et al. 1990). A matriz protéica é visível com espaços abertos de várias formas e tamanhos, representando os glóbulos de gordura. Quanto maior o conteúdo de gordura, maior o número de espaços vazios. Um grande número de glóbulos de gordura é eventualmente distribuído dentro da matriz protéica com tamanhos e formas variáveis, produzindo uma estrutura como "esponja" (MISTRY; ANDERSON, 1993). Segundo ADHIKARI (1993), numerosos pequenos "vazios" foram encontrados ao longo da matriz dos produtos avaliados em seu trabalho pela técnica SEM (Khoa e Gulabjamun), produzindo uma típica estrutura de "favo de mel". Estrutura semelhante pode ser observada no requeijão cremoso tradicional (copo) apresentado nas Figuras 7 e 8.

5 CONCLUSÕES

Os resultados obtidos neste trabalho demonstraram que o método de preparo de amostra adaptado para requeijão cremoso é adequado para observação posterior do produto em Microscópio Eletrônico de Varredura, sugerindo-se, portanto, o seu uso em análises microscópicas para avaliar a microestrutura de referido produto pela técnica SEM.

6 SUMMARY

Microscopy is one of the most useful physical-chemical analysis techniques that shows the spatial distribution of corpuscular components and the global structure of ingredients and products. Electronic microscopy has been extensively used to study the microstructure of individual components of dairy products, such as casein micelles and fat globules and to investigate changes affecting these components either alone or by interaction with other ingredients or substances during the manufacturing process. This study describes a sample preparation technique for Scanning Electron Microscopy (SEM) analysis originally developed for studying the microstructure of processed cheese and especially adapted for *requeijão cremoso*. The results obtained with the use of this preparation technique with a sample of *requeijão cremoso* suggest that the method proposed in this paper may be used in microscopic analysis (SEM) to examine and evaluate the microstructure of this kind of product.

7 BIBLIOGRAFIA

ADHIKARI, A. K. Microstructure and texture of Khoa and Gulabjamun made from cows' milk: heat-induced changes during processing and frying. *Journal Science Food Agriculture*. v. 61. p. 7-15. 1993.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS DE QUEIJO. *Produção brasileira de produtos lácteos de estabelecimentos sob inspeção federal*. São Paulo, 2002.

COHEN, S. H.; DAVIS, E. A.; HOLCOMB, D. N.; KALAB, M. Studies of food microstructure. *Scanning Electron Microscopy, Inc.* AMF O'Hare. 1981.

FERNANDES, AG; MARTINS, J. F. P. Fabricação de Requeijão cremoso a partir de massa obtida por precipitação ácida a quente de leite de búfala e de vaca. *Revista do Instituto de Laticínios "Cândido Tostes"*. v. 35, n. 212, p. 7-13, nov/dez, 1980.

FERNANDES, A G. 1981. Processamento: tipos e cálculos. In: MARTINS, J. F. P.; FERNANDES, A G. *Curso sobre processamento de requeijão cremoso e outros queijos fundidos*. Campinas, ITAL, 1981, cap.7, p.1-14.

KALAB, M. *Foods under the microscope*. Update: 16/03/2000. Disponível em: < <http://anka.livstek.lth.se:2080/microscopy> > Acesso em: 26 nov. 2004.

KALAB, M. Practical aspects of electron

microscopy in dairy research. *Food Structure*. Chicago, v. 12. p. 95-114. 1993.

MARCHESSEAU, S. GASTALDI, E., LAGAUE, A., CUQ, J. L. Influence of pH on protein interactions and microstructure of process cheese. *Journal of Dairy Science*. v. 80. p. 1483-1489. 1997.

MISTRY V. V., ANDERSON, D. L. Composition and microstructure of commercial full-fat and low-fat cheeses. *Food Structure*. Chicago, v. 12. p. 259-266. 1993.

MUNCK, A.V.; CAMPOS, W. A. Requeijão: um produto brasileiro. *Informe Agropecuário*. v.42, n.115, p.35-38, 1984.

TAMIME, A. Y.; KALAB, M.; DAVIES, G.; YOUNIS, M. F. Microstructure and firmness of processed cheese manufactured from cheddar cheese and skim milk powder cheese base. *Food Structure*. Chicago, v.9, n.1, p.23-37, 1990.

AGRADECIMENTOS

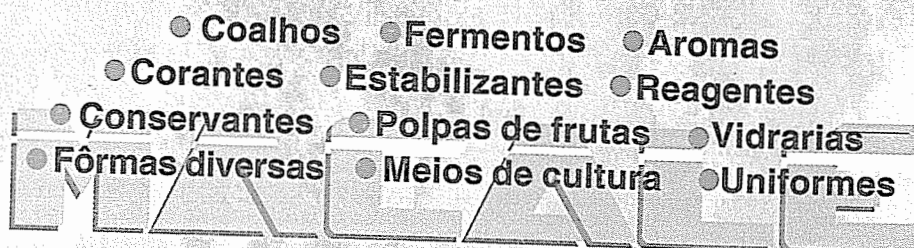
- À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo - FAPESP, pelo financiamento através da Bolsa de Doutorado e Reserva Técnica.
- Ao Laboratório de Microscopia Eletrônica - Depto. Biologia - Unicamp, pela colaboração e disponibilização dos equipamentos.
- Ao Laboratório de Microscopia Eletrônica - DEPAN - Unicamp, pela colaboração no desenvolvimento da metodologia.

ASSINE A REVISTA

ILCT

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
Telefendas: (32) 3224-3035
E-mail: macalejf@terra.com.br

STATUS HIGIÊNICO-SANITÁRIO DE QUEIJOS DO TIPO MINAS PRODUZIDOS DE FORMA ARTESANAL E COMERCIALIZADOS EM PELOTAS, RS

Hygienic and sanitary status for the handmade "Tipo Minas" cheese commercialized in Pelotas City Brazil

Wladimir Padilha da Silva¹
Ana Eucares von Laer³
Andréia Saldanha de Lima⁴
Silvana Carro Techera²
Márcia Magalhães Mata⁵
Márcia Monks Jantzen²

RESUMO

O queijo tipo Minas é muito produzido e tem grande aceitação de consumo em quase todo o país, sendo um dos derivados lácteos mais difundidos no Brasil. Quando produzido artesanalmente é importante que se mantenham as condições higiênico-sanitárias desde a obtenção do leite até sua distribuição e comercialização, dando ênfase à pasteurização da matéria-prima. O leite e os laticínios têm veiculado diversas enfermidades para o homem, por essa razão objetivou-se avaliar a qualidade higiênico-sanitária de queijos tipo Minas produzidos artesanalmente e comercializados em Pelotas, RS, utilizando-se como referência os parâmetros microbiológicos estabelecidos pela legislação brasileira. Foram analisadas 30 amostras provenientes de cinco pontos comerciais da cidade, verificando-se que 96,7% encontravam-se em desacordo com a legislação vigente no país. Dessas, 87,5% estavam em desacordo para *Estafilococos coagulase positiva*, 50% para *Coliformes fecais* e 26,7% para *Listeria monocytogenes*. Das 54 linhagens de *L. monocytogenes*, 76% pertenciam ao sorotipo 1c, 9,2% ao sorotipo 4b, 3,7 % ao sorotipo 6a e 7,4% ao sorogrupo 1, enquanto 3,7% dos isolados não foram identificados sorologicamente. Nenhuma das amostras apresentou contaminação por *Salmonella* spp. Os resultados demonstram o risco potencial à saúde pública pelo consumo desse tipo de alimento comercializado na cidade de Pelotas, RS.

INTRODUÇÃO

O Brasil é um dos maiores produtores de leite do mundo, produzindo, anualmente, mais de 21 bilhões de litros. Quase metade dessa produção não é submetida à fiscalização sanitária, sendo chamada de "informal" ou "clandestina", a qual, além de não recolher os impostos devidos, pode colocar em risco a saúde da população. Uma parte dessa produção informal é comercializada na forma de leite fluido, no entanto, a maior parte é transformada em derivados lácteos, dos quais sobressaem-se os diversos tipos de queijos. Esses produtos são comumente chamados de "artesanais"

ou "coloniais" e normalmente são produzidos a partir de matéria-prima sem tratamento térmico, embora a legislação brasileira determine que todo o leite utilizado na produção de derivados lácteos deve ser pasteurizado. Culturalmente, parte da população relaciona produtos lácteos não industrializados e/ou sem fiscalização a alimentos "mais naturais", contribuindo assim para a permanência desse hábito.

Dentre os queijos produzidos artesanalmente, o tipo Minas é amplamente produzido em todas as regiões do país pela baixa necessidade de recursos tecnológicos para sua fabricação, aliado ao seu alto rendimento e grande aceitação por

- 1 Professor do Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial da UFPel
- 2 Médica Veterinária, doutoranda em Ciência e Tecnologia Agroindustrial da UFPel
- 3 Bióloga, Mestranda em Ciência e Tecnologia Agroindustrial pela UFPel
- 4 Química de Alimentos, Mestranda em Ciência e Tecnologia Agroindustrial pela UFPel
- 5 Estudante de Ciências Biológicas, bolsista PIBIC de Iniciação Científica da UFPel

parte dos consumidores. O leite, por si só, apresenta características físico-químicas que favorecem a multiplicação de microrganismos e quando há déficit sanitário do rebanho leiteiro e/ou condições higiênicas insatisfatórias na sua obtenção, há grande chance de contaminação do leite por diversos microrganismos potencialmente patogênicos e/ou deteriorantes. Particularmente no caso de derivados lácteos, a manipulação a que são submetidos contribui ainda mais para a inclusão de novas bactérias.

Diversos surtos e casos de toxinfecções alimentares têm sido relatados e relacionados a diferentes tipos de queijos em todo o mundo, entretanto, a notificação dos surtos e a informação sobre os alimentos e os principais microrganismos envolvidos em doenças de origem alimentar são pouco difundidas no Brasil. Pelo fato do queijo tipo Minas ser muito consumido, pela forma como é armazenado e comercializado e por ser produzido, em muitos casos, a partir de leite cru, realizou-se este trabalho com o objetivo de avaliar as condições microbiológicas desse tipo de produto comercializado na cidade de Pelotas, RS.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram avaliadas 30 amostras de queijo tipo Minas, produzido de forma artesanal, as quais foram obtidas em cinco pontos comerciais do município de Pelotas/RS. Avaliou-se a presença de *L. monocytogenes* e *Salmonella* spp., a contagem de Estafilococos coagulase positiva e o número mais provável (NMP) de coliformes a 45°C, estabelecidos pela legislação brasileira vigente (Brasil, 2001).

O isolamento e caracterização de *L. monocytogenes* seguiram a metodologia proposta por Farber *et al.* (1994), a qual utiliza um enriquecimento primário em caldo de enriquecimento para *Listeria*, formulação UVM-1 (CM 863 acrescido do suplemento SR 141E, Oxoid), com incubação por 24h a 30°C. Após esse período, foi realizado um enriquecimento secundário, em caldo Fraser (CM 895 acrescido do suplemento SR 165E, Oxoid), que foi incubado por 48h a 37°C. A partir desses cultivos foram semeadas, por esgotamento, placas de Petri contendo os ágares Oxford (Oxoid) e Palcam (Oxoid) a fim de obter o isolamento de colônias típicas de *Listeria* spp., as quais foram incubadas por 48h a 37°C. A partir de cada uma dessas placas, foram escolhidas entre 3 e 5 colônias típicas do gênero *Listeria*, que foram submetidas a identificação em nível de espécie, utilizando-se os testes de produção de catalase, motilidade a 25°C (Motility Test Medium, Difco), β -hemólise em ágar Sangue de Cavalo (ágar Tripton de soja com 7% de sangue desfibrinado de cavalo) e de fermentação de dextrose (Reagen), ramnose (Inlab), xilose (Vetec) e manitol

(Vetec). As linhagens confirmadas como *Listeria monocytogenes* foram encaminhadas ao Laboratório de Zoonoses Bacterianas do Instituto Oswaldo Cruz, onde foram submetidas a sorotipagem.

A contagem de Estafilococos coagulase positiva foi realizada segundo metodologia preconizada pelo Food and Drug Administration (FDA, 1992), semeando-se, por espalhamento, diluições decimais da amostra em placas de Petri contendo ágar Baird Parker (Oxoid), as quais foram incubadas a 37°C durante 48h. Após esse período, realizou-se a identificação das colônias suspeitas através dos testes de coloração de gram, de produção de catalase e de produção de coagulase livre, utilizando-se plasma de coelho.

Para a análise de *Salmonella* spp. utilizou-se a metodologia recomendada pela American Public Health Administration (APHA, 2001), que consta de um pré-enriquecimento em água peptonada tamponada (Acumedia), com incubação por 24h a 37°C, seguido de um enriquecimento em caldo Tetrationato (Acumedia) e caldo Rappaport-Vassiliadis (Acumedia), incubados por 24h a 37°C e 42°C, respectivamente. Após esse período, semeou-se, por esgotamento, placas de Petri contendo os ágaros Xylose Lysine Desoxycholate (XLD, Oxoid) e Hektoen-enteric (HE, Oxoid), as quais foram incubadas por 24h a 37°C. A identificação bioquímica das colônias suspeitas foi feita nos ágaros Tríplice Açúcar Ferro (TSI, Oxoid), Lisina Ferro (LIA, Oxoid) e Uréia (UA, Oxoid), com incubação a 37°C por 24h. Para a identificação sorológica utilizaram-se os soros anti-*Salmonella* somático e flagelar (PROBAC do Brasil).

A enumeração de Coliformes a 45°C seguiu a metodologia recomendada pelo FDA (1992), realizando-se diluições decimais seriadas, as quais foram submetidas a pré-enriquecimento em caldo Lauril Sulfato (LST, Acumedia), com incubação a 37°C por 48h. Após esse período foram transferidas alíquotas para tubos de ensaio contendo caldo EC (Oxoid), a partir das amostras que apresentavam produção de gás, os quais foram incubados por 48h a 45°C. Para a interpretação do resultado utilizou-se a tabela de Hoskins (ICMSF, 1978).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A legislação brasileira (Brasil, 1997) determina que o leite para a produção de derivados lácteos deve ser submetido a tratamento térmico. O descumprimento dessa norma, aumenta o risco à saúde pública, pois poderá veicular uma grande variedade de microrganismos patogênicos, haja vista que diversos surtos ou casos esporádicos de doenças de origem alimentar têm sido causados pelo consumo de leite e/ou seus derivados (FSIS, 2004).

Apesar da proibição legal em diversas cidades do país, os queijos produzidos de forma artesanal são comercializados tanto em feiras livres quanto em pequenos estabelecimentos comerciais, com ou sem refrigeração. Neste trabalho, coletaram-se amostras em diferentes pontos comerciais na cidade de Pelotas-RS, sendo que nenhuma delas era proveniente de estabelecimentos submetidos à inspeção sanitária governamental, portanto, não se teve informação se a matéria-prima foi ou não tratada termicamente. Além disso, verificou-se que em somente um dos pontos de comercialização, as amostras eram mantidas sob refrigeração, o que contribui decisivamente para o aumento e diversidade da microbiota presente nos queijos.

No Brasil, o Ministério da Saúde, através da Resolução Normativa nº 12 (Brasil, 2001), estabelece os parâmetros microbianos máximos permitidos para que esse tipo de produto possa ser comercializado: 10^3 UFC.g⁻¹ de Estafilococos coagulase positiva; 5×10^3 NMP.g⁻¹ de Coliformes a 45°C e ausência de *Salmonella* spp. e de *L. monocytogenes* em 25 g de amostra.

Diversos pesquisadores têm avaliado as condições microbiológicas de queijos tipo Minas comercializados em diferentes regiões do Brasil e os resultados obtidos são bastante variáveis, tendo em vista que nem todos os autores diferenciam os produtos que foram submetidos a algum tipo de fiscalização sanitária daqueles que são oriundos do comércio informal (Casarotti *et al.*, 1994; Reibnitz & Tavares, 1995; Silva *et al.*, 1998; Loguercio & Aleixo, 2001; Almeida Filho *et al.*, 2002). Além disso, vários trabalhos reportam resultados baseados na legislação anterior (Brasil, 1997).

Apenas uma das 30 amostras avaliadas (3,3%) estava de acordo com os parâmetros estabelecidos pela legislação vigente, resultado semelhante ao de Loguercio & Aleixo (2001), os quais também encontraram que 96,7% (29/30) das amostras de queijo artesanal comercializado em Cuiabá, MT, estavam em desacordo com a legislação brasileira. Petrini *et al.* (2003) também obtiveram resultados similares ao analisarem 23 amostras de queijos comercializados em feiras-livres de Pelotas-RS, e verificaram que todas estavam fora dos limites microbiológicos máximos estipulados pela legislação vigente. Entretanto, são bastante contrastantes com os de Vialta *et al.* (2002), em Campinas, SP, que avaliaram 46 amostras de queijos produzidos de forma clandestina, e encontraram apenas 3 (4,9%) amostras fora dos parâmetros exigidos. Já Ornelas *et al.* (2002) e Rangel *et al.* (2002) em Minas Gerais, encontraram 56,7% (38/67) e 15% (3/20), respectivamente, de amostras em desacordo com a legislação vigente. As divergências nos

resultados refletem diferenças nas condições higiênico-sanitárias da matéria-prima, do processamento, armazenamento e comercialização dos produtos.

L. monocytogenes é uma bactéria ubíqua e um dos mais importantes patógenos de origem alimentar, sendo uma grande preocupação para a indústria de alimentos na atualidade. Sua incidência em leite é baixa (Moura *et al.*, 1993) e é um microrganismo sensível às temperaturas comumente utilizadas para a pasteurização do leite (Bell & Kyriakides, 1998), entretanto, como as amostras foram produzidas em locais em que não havia inspeção sanitária, não há informação sobre a utilização ou não de tratamento térmico na matéria-prima. Diversos surtos e casos esporádicos de listeriose têm sido relacionados a leite e derivados, principalmente queijos macios, porém, no Brasil há necessidade de um maior número de pesquisas com esse microrganismo, existindo relativamente poucos relatos de isolamento de *L. monocytogenes* nesse tipo de produto. Silva *et al.* (1998) avaliaram a incidência dessa bactéria em diversos tipos de queijos comercializados na cidade do Rio de Janeiro e verificaram que o queijo tipo Minas fresco foi o que apresentou a maior frequência de isolamento. Levando em consideração apenas os queijos Minas fresco de produção artesanal, esses autores relatam que a ocorrência desse microrganismo foi de 41,17% (7/17). Outros autores, em diferentes regiões do país, não isolaram *L. monocytogenes* nesse tipo de queijo (Casarotti *et al.*, 1994; Vialta *et al.*, 2002; Rangel *et al.*, 2002; Schitler *et al.*, 2002; Petrini *et al.*, 2003). No presente estudo, essa bactéria foi isolada em 8 das 30 amostras (26,7%), demonstrando o risco potencial para a saúde pública que representa o consumo desse tipo de produto, principalmente para determinados grupos da população como gestantes, crianças, idosos e imunocomprometidos. Além disso, *Listeria* spp. foi isolada em 53,3% (16/30) das amostras. Embora dentre os membros do gênero *Listeria*, apenas *L. monocytogenes* seja patogênica para humanos, a presença das outras espécies demonstra a possibilidade de ocorrência do patógeno no alimento, o que representa risco potencial aos consumidores, como foi relatado por Silva *et al.* (1998).

A sorotipagem de *L. monocytogenes* apresenta grande importância epidemiológica, pois, embora esse microrganismo apresente 13 sorotipos, 3 deles (1/2a, 1/2b e 4b) são os mais relacionados a casos e surtos de listeriose transmitida por alimentos, sendo que 95% dos isolamentos realizados em seres humanos acometidos da doença, pertencem a esses sorotipos (Rocourt & Cossart, 1997). Entre as 54 linhagens de *L. monocytogenes* verificou-se que 7,4% (4/54) pertenciam ao sorogrupo 1, não sendo possível

identificar o sorotipo, 76% (41/54) eram do sorotipo 1c, 9,2% (5/54) do sorotipo 4b, 3,7% (2/54) do sorotipo 6a, enquanto 3,7% (2/54) não foram tipificáveis sorologicamente. A prevalência do sorotipo 1c em alimentos tem sido relatada por outros autores (Kathariou, 2002; Lima, 2004), embora esse sorotipo raramente esteja implicado em casos de listeriose. Entretanto, a presença do sorotipo 4b causa preocupação, tendo em vista que tem sido envolvido não apenas em casos esporádicos de listeriose, como em numerosos surtos (Schuchat *et al.*, 1991; Pak *et al.*, 2002).

A pasteurização, quando eficiente, destrói as células vegetativas de *Staphylococcus aureus*, assim, a presença de células viáveis dessa bactéria em alimentos processados é indicativa de condições deficientes de processamento e/ou de recontaminação pós-processamento. Além disso, as enterotoxinas produzidas por esses microrganismos são termoresistentes. A Portaria 457 (Brasil, 1997) determinava a enumeração de *Staphylococcus aureus* em alimentos, entretanto, a atual legislação prevê a enumeração de *Estafilococos* coagulase positiva, tendo em vista que outras espécies de *estafilococos* (*S. intermedius* e *S. hyicus*) também são produtoras de coagulase e capazes de produzir enterotoxinas (Vanderzant e Splittstoesser, 1992). Essas três espécies podem estar presentes no produto final veiculadas através da matéria-prima, proveniente de animais acometidos de mastite ou por manipuladores, (Gandra, 2003) ou, ainda, da intensa manipulação que tais produtos sofrem.

Neste estudo verificou-se que 86,6% (26/30) dos queijos estavam com contagem de *Estafilococos* coagulase positiva acima do permitido pela legislação vigente (Tabela 1). Esses resultados foram semelhantes aos de Petrini *et al.* (2003) que analisaram 23 amostras de queijos comercializados em feiras-livres de Pelotas, de Neves *et al.* (2001), que avaliaram 19 amostras desse tipo de queijo também comercializado em feiras-livres de Pelotas e de Reibnitz & Tavares (1995), que coletaram amostras em feiras livres de Blumenau, SC, os quais verificaram que todas apresentavam contagens de *S. aureus* acima dos

parâmetros legais. Já Vialta *et al.* (2002) e Rangel *et al.* (2002) encontraram 15% (7/46) e 5% (1/20), respectivamente, de amostras em desacordo com a legislação. Os resultados obtidos neste trabalho são preocupantes, principalmente porque apenas um dos estabelecimentos armazenava o produto sob refrigeração, procedimento que diminuiria o risco de produção de enterotoxinas *estafilocócicas*, a qual só ocorre em temperaturas superiores a 10°C (Jay, 1992). Soma-se a isto o fato de 50% das amostras terem apresentado contagens de *Estafilococos* coagulase positiva superiores a 10⁵, tendo em vista que essas enterotoxinas só começam a ser produzidas quando a concentração microbiana atinge esse patamar (Jay, 1992; Franco & Landgraf, 2002).

Alguns microrganismos ou grupos microbianos são utilizados como indicadores de contaminação e seus índices são monitorados como forma de verificar as condições higiênicas sanitárias durante o processamento de alimentos ou pela possibilidade de ocorrência de microrganismos patogênicos (Franco & Landgraf, 2002). Dentre esses, destacam-se os Coliformes de origem fecal, que na legislação vigente são denominados de Coliformes a 45°C. Com relação a esse parâmetro microbiológico, neste trabalho encontrou-se que 50% (15/30) das amostras estavam em desacordo com a legislação. Loguerio & Aleixo (2001) também avaliaram 30 amostras desse tipo de produto, comercializado em Cuiabá, MT, e encontraram 93,3% das amostras acima do parâmetro máximo estabelecido. Salienta-se que esses autores levaram em consideração a legislação vigente à época, onde o valor máximo permitido era de 10² NMP.g⁻¹ (Brasil, 1997), entretanto, com a mudança da legislação, em janeiro de 2001, houve alteração dos parâmetros microbiológicos e, para Coliformes a 45°C, a contagem máxima permitida aumentou em um ciclo logarítmico nesse tipo de produto, diminuindo a probabilidade de uma amostra estar em desacordo com o permitido em lei, como foi relatado por Silva *et al.* (2002).

Salmonella spp. é uma das bactérias mais relacionadas a surtos e casos de doenças de origem

Tabela 1 - *Estafilococos* coagulase positiva (ECS), coliformes fecais, *L. monocytogenes* e *Salmonella* spp. em 30 amostras de queijo tipo Minas Frescal artesanal comercializado em Pelotas, RS.

Microrganismos	RDC nº 12*	Nº de amostras em desacordo	% de amostras em desacordo
ECS	10 ³ UFC. g ⁻¹	26	86,6
Coliformes fecais	5 x 10 ³ NMP. g ⁻¹	15	50
<i>L. monocytogenes</i>	Ausência em 25 g	8	26,7
<i>Salmonella</i> spp	Ausência em 25 g	0	0

* Parâmetros máximos permitidos pela Resolução RDC nº 12 de 01/2001, do Ministério da Saúde.

alimentar. Neste estudo, embora a contagem de Coliformes a 45°C tenha sido elevada, essa bactéria não foi isolada, o que também foi relatado por Petrini *et al.* (2003), Vialta *et al.* (2002) e por Rangel *et al.* (2002), nesse mesmo tipo de produto.

CONCLUSÕES

A elevada percentagem de amostras em desacordo com a legislação vigente (96,7%) e a presença de bactérias potencialmente causadoras de toxinfecções alimentares, como *Listeria monocytogenes* e *Estafilococos* coagulase positiva, é preocupante com relação à saúde dos consumidores desse tipo de alimento comercializado em Pelotas, RS. A ocorrência do sorotipo 4b de *L. monocytogenes* em 9,2% das amostras demonstra o risco inerente, em especial a determinados grupos da população, como gestantes, crianças, idosos e imunocomprometidos.

SUMMARY

The "tipo Minas" cheese, one of the most notable dairy products manufactured in Brazil, in which is largely consumed, is characterized as a semi-soft cheese. Mainly during its home-made production is very important to improve the hygienic and sanitary conditions: from milking to manufacturing, when pasteurization process is carefully required. Milk and dairy products have been a source of several human foodborne diseases. For this, the present work aim to evaluate the occurrence of hygienic and sanitary quality of handmade "tipo Minas" cheese commercialized in Pelotas city. The results were compared to the microbial parameters from Brazilian government legislation. It was used thirty cheese samples originated from five store places for evaluations. The results showed that 96,7% of these samples were in disagreement with the legislation, which means disapproved for consume. There were 87,5% of them over counted for *Staphylococcus* spp., 50% for faecal coliforms and 26,7% for *Listeria monocytogenes*. From 54 *L. monocytogenes* isolated, 76% belonged to the serotype 1c, 9,2% to the serotype 4b, 3,7% to the serotype 6a, 7,4% to the serotype 1 and 3,7% were not serotypable. Nevertheless, the cheese samples have not presented *Salmonella* spp.. According to the results there is a potential risk for population health by consuming of handmade "tipo Minas" cheese commercialized in Pelotas city.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ALMEIDA FILHO, E.S.; LINDNER, A.L.L.; ALMEIDA, D.S.; SIGARINI, C.O.; FERREIRA, M.B.

Perfil microbiológico de queijo tipo Minas frescal, de produção artesanal e inspecionada, comercializado no município de Cuiabá, MT. *Revista Higiene Alimentar*. v. 16, n. 92, p. 51-56, 2002.

2. APHA. *Compendium of Methods for Microbiological Examination of Foods*, 4th ed., Washington D.C.: American Public Health Association, 2001.

3. BELL, C. & KYRIAKIDES, A. *Listeria - Una aproximacion practica al microorganismo y su control en los alimentos*. Zaragoza (Espana): Acribia, 1998. 173p.

4. BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal. Secretaria da Defesa Agropecuária - divisão de Normas Técnicas, 1997a.

5. BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria Nacional de Vigilância Sanitária de Alimentos - DINAL. **Padrões Microbiológicos para produtos expostos a venda ou de alguma forma destinados ao consumo**. Portaria nº 451 de 19 de setembro de 1997. Diário Oficial da União, Brasília, p. 21005-21012, 22 de setembro de 1997b, seção I.

6. BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria Nacional de Vigilância Sanitária de Alimentos - DINAL. **Padrões Microbiológicos para produtos expostos a venda ou de alguma forma destinados ao consumo**. Resolução-RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001. Diário Oficial da União, Brasil, Brasília, nº7-E, p. 48-49, 10 jan. 2001, seção I.

7. CASAROTTI, V.; GALLO, C.R.; CAMARGO, R. Ocorrência de *Listeria monocytogenes* em leite cru, leite pasteurizado tipo C e queijo Minas frescal comercializados em Piracicaba, SP. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*. V. 44, n. 3, p. 158-163, 1994.

8. FARBER, J.M.; Warburton, D.W.; BABIUK, T. Isolation of *Listeria monocytogenes* from all food and environmental samples. *Government of Canada - HPB Method*, Quebec (Canada): Polyscience Publications, Sep. 1994.

9. FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, FDA. *Bacteriological Analytical Manual*, 7th ed. Washington, D.C.: AOAC Int., 1992.

10. FRANCO, B.D.G.M. & LANDGRAF, M. *Microbiologia dos alimentos*. São Paulo: Ateneu, 2ed. 182p. 2002.

11. FSIS - Food Safety and Inspection Service. Disponível: <http://w-ww.fsis.usda.gov/OA/recalls/prealease.htm> Acesso em 10 mai. 2004.

12. GANDRA, E.A.. Identificação de *Staphylococcus aureus*, *S. intermedius* e *S. hyicus* através de testes bioquímicos e da amplificação por PCR de

seqüências dos genes *coa* e *nuc*. Pelotas, 2003, 101f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Agroindustrial) – Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia Agroindustrial, Universidade Federal de Pelotas, 2003.

13. INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIAL SPECIFICATIONS FOR FOODS (ICMSF). Microorganisms in foods: their significance and methods of enumeration. 2 ed. Toronto, University of Toronto, v.1, 434p., 1978.

14. JAY, M. Gastroenteritis estafilocócica. *In*: Microbiología Moderna de los Alimentos. 4 ed. Zaragoza: Editorial Acribia S.A. Cap. 19, p.537-563. 1992.

15. KATHARIOU, S. *Listeria monocytogenes* virulence and pathogenicity, a food safety perspective. **Journal of Food Protection**, v. 65, p. 1811-2002, 2002.

16. LIMA, A.S. Disseminação de *Listeria monocytogenes* no processamento de lingüiça mista frescal avaliada por sorologia e RAPD. Pelotas, 2004, 54f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Agroindustrial) – Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia Agroindustrial, Universidade Federal de Pelotas, 2004.

17. LOGUERCIO, A.P. & ALEIXO, J.A.G. Microbiologia de queijo tipo Minas frescal produzido artesanalmente. Revista Ciência Rural, v. 31, n.6, p. 1063-1067, 2001.

18. MOURA, S.M.; DESTRO, M.T.; FRANCO, B.D.G.M. Incidence of *Listeria* species in raw and pasteurized milk produced in São Paulo, Brazil. *International Journal of Food Microbiology*, v. 19, p. 229-237, 1993.

19. NEVES, I.H.; GIL, R.L.; ROLL, R.J.; RIBEIRO, G.A. Verificação de *Staphylococcus aureus* em queijo colonial produzido e comercializado na cidade de Pelotas, RS. X CIC. Anais. Pelotas. 2001.

20. ORNELAS, E.A.; SILVA, K.Q.; RANGEL, F.F.; PENA, E.C.; SILVA, M.C.C. Perfil microbiológico de amostras de queijo comercializadas em algumas cidades mineiras. *Anais do XVIII Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos*. 04 a 07 de agosto de 2002, Porto Alegre- Brasil. ISBN: 85-89123-01-4.

21. PAK, S.; SPAHR, U.; JEMMI, T., SALMAN, M.D. Risk factors for *L. monocytogenes* contamination of dairy products in Switzerland, 1990-1999. **Preventive Veterinary Medicine**. V. 53, p. 55-65, 2002.

22. PETRINI, L.; MOREIRA, A.; ALMEIDA, S.; JUNIOR, B.; LUND, D.; VAGHETTI, D.; PIETRO, L.; RODRIGUES, M.; RIBEIRO, P.; CONCEIÇÃO, R.; RAMOS, R.; CARVALHAL, J. & ALEIXO, J. Avaliação bacteriológica de produtos de origem animal

comercializados em feiras-livres de Pelotas/RS. Anais de resumos do XII CIC, V ENPOS, UFPel, 2003.

23. RANGEL, F.F.; PENNA, C.F.A.M.; SILVA, M.C.C.; SOUZA, R.M.B.; SOUZA, M.R.; CERQUEIRA, M.M.O.P.; ORNELAS, E.A. Características microbiológicas de queijos com baixo teor de gordura comercializados em Belo Horizonte, MG. Anais do XVIII Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos. 04 a 07 de agosto de 2002, Porto Alegre-Brasil. ISBN: 85-89123-01-4.

24. REIBNITZ, M.G.R. & TAVARES, L.B.B. isolamento de *Staphylococcus aureus* coagulase e DNase positivos a partir de queijo colonial comercializado em Blumenau. Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos. v. 13, n. 1, p. 1-6, 1995.

25. ROCOURT, J.; COSSART, P. *Listeria monocytogenes*. In: DOYLE, M.P.; BEUCHAT, L.R.; MONTVILLE, T.J. eds. **Food microbiology. Fundamentals and frontiers**. Washington: ASM Press, p. 337-352, 1997.

26. SCHUCHAT, A.; SWAMINATHAN, B.; BROOME, C.V. Epidemiology of human listeriosis. **Clinical Microbiology**, v. 4, p.169-183, 1991.

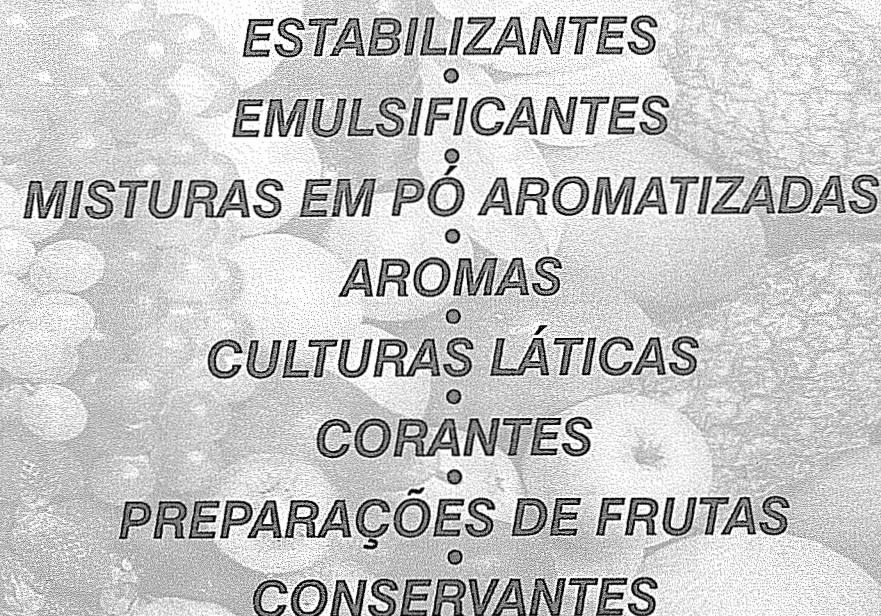
27. SILVA, M.C.D.; DESTRO, M.T.; TIBANA, A. Correlação entre população de coliformes fecais e a presença de *Listeria* sp. em queijos. Anais do XVIII Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos. 04 a 07 de agosto de 2002, Porto Alegre-Brasil. ISBN: 85-89123-01-4.

28. SILVA, M.C.D.; HOFER, E.; TIBANA, A. Incidence of *Listeria monocytogenes* in cheese produced in Rio de Janeiro, Brazil. **Journal Food Protection**, v. 61, n.3, p. 354-356, 1998.

29. SILVA, W.; GANDRA, E.; DUVAL, E.; JANTZEN, M.; TESSMANN, C. & LIMA, A: Qualidade microbiológica de linguiças mistas do tipo frescal produzidas na cidade de Pelotas (RS). *Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos (CEPPA)*, v.2, n.2, p. 257-266, jul./dez. 2002.

30. VANDERZANT, C.; SPLITTSTOESSER, D.F. Compendium of methods for the microbiological examinations of foods. 3 ed. Washington. American Public Health Association (APHA), 676 P., 2001.

31. VIALTA, A.; MORENO, I.; LERAYER, A.L.S.; VIEIRA, M.C.; BARBIERI, M.K.; GENOVEZ, M.E.; ROXO, E.; SCARCELLI, E.; GRASSO, L.M.P.S.; SOUZA, F.K.H.; ALMEIDA, A.R. Caracterização microbiológica e microscópica de Queijo Minas produzido informalmente. *Anais do XVIII Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos*. 04 a 07 de agosto de 2002, Porto Alegre- Brasil. ISBN: 85-89123-01-4.

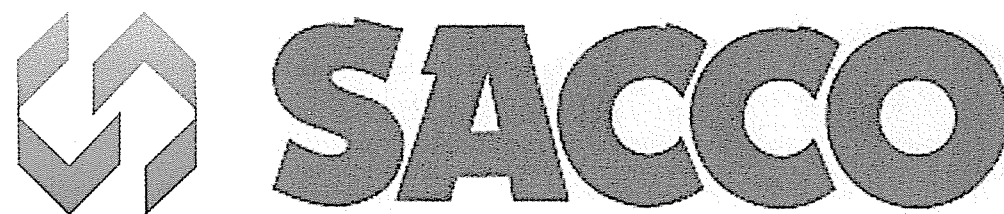


ESTABILIZANTES
•
EMULSIFICANTES
•
MISTURAS EM PÓ AROMATIZADAS
•
AROMAS
•
CULTURAS LÁTICAS
•
CORANTES
•
PREPARAÇÕES DE FRUTAS
•
CONSERVANTES



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





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

AVALIAÇÃO DO USO DA *CURCUMA LONGA* L., EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES, NA REDUÇÃO DE *ESCHERICHIA COLI* E *ENTEROBACTER AEROGENES* EM RICOTA¹

Evaluation of the use of *Curcuma longa* L., in different concentrations, in *Escherichia coli* and *Enterobacter aerogenes* reduction in ricotta cheese

Sandra Ribeiro Maia²
Luiz Ronaldo de Abreu³
Celso José de Moura⁴
Daise Aparecida Rossi⁵
Eliane Sayuri Miyagi⁶
Eduardo Fernandes⁷

RESUMO

Foi avaliada a eficiência do extrato alcoólico de cúrcuma adicionado à ricota, no controle de *Escherichia coli* e *Enterobacter aerogenes*, utilizando-se concentrações 0,0%, 0,5%, 1,0%, 1,5% e 2,0%. Cinco períodos (D, D+1, D+7, D+14 e D+21) foram utilizados para analisar a ricota, sendo o período D o dia da fabricação. Após 21 dias observou-se uma redução do número de *Escherichia coli* de, aproximadamente, dois ciclos logarítmicos, para os tratamentos utilizando-se concentrações de 0,5%, 1,0%, 1,5% e 2,0% de cúrcuma. Em relação ao *Enterobacter aerogenes*, foi observada uma redução menor de, aproximadamente, um ciclo logarítmico para os mesmos tratamentos. Os resultados das análises evidenciaram redução do número de células viáveis dos microrganismos avaliados, no entanto, a cúrcuma não deve ser o único meio preservativo pois não atende à legislação vigente aos requisitos microbiológicos para queijos considerando-se uma contaminação inicial de 10⁴ UFC/mL de *E.coli* e 10⁵ UFC/mL de *E. aerogenes*.

Termos para indexação: *Curcuma longa* L., ricota, *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes*, microrganismos patogênicos.

1 INTRODUÇÃO

As propriedades microbianas dos condimentos têm despertado interesse devido a perspectiva do uso de substâncias naturais presentes nos condimentos em substituição aos aditivos sintéticos utilizados no processamento dos alimentos com a finalidade de conservação, pois estudos apontam certos efeitos tóxicos causados por corantes sintéticos (Safford & Goodwin, 1985). Segundo Maia (2003), os condimentos e especiarias são produtos aromáticos de origem vegetal cuja finalidade é temperar alimentos e ainda

apresentam propriedades antimicrobianas, antioxidantes e medicinais. Existem cerca de 70 condimentos diferentes, cultivados e utilizados em todo o mundo, sendo que a concentração do condimento para inibir o crescimento bacteriano está na faixa de 1% a 5% (Shelef, 1983)

A *Curcuma longa* L., conhecida como açafrão da terra ou cúrcuma, vem despertando grande interesse pela possibilidade da sua utilização em substituição dos corantes sintéticos por apresentar atividade antimicrobiana. A espécie é a que possui maior importância comercial e utilização em alimentos (Govindarajan, 1980), apresentando a vantagem de

- 1 Parte da dissertação de Mestrado do primeiro autor
- 2 MS de Ciência de Alimentos – UFLA/MG
- 3 Professor Adjunto DCA – UFLA/MG
- 4 Professor Titular da Escola de Engenharia de Alimentos – UFG/GO
- 5 Professora Titular da Faculdade de Medicina Veterinária – UFU/MG
- 6 Zootecnista Doutoranda EV/DPA – UFG/GO
- 7 Médico Veterinário

não exigir tratamentos culturais especiais e uma boa produtividade, em média, 20/hectare e conter 6% de pigmentos curcuminóides (Nunes, 1989).

Alguns efeitos benéficos da cúrcuma, como antiinflamatórios (Ghatak & Bosu, 1972) e bactericida (Ramprasad & Sirsi, 1957), foram descritos. Segundo Perotti (1975), a curcúmina tem influência benéfica em certas afecções hepáticas, estimula a secreção biliar, favorecendo sua emissão no trato intestinal e ajuda a controlar o colesterol no sangue.

Atividades antimicrobiana e antiprototozoária têm sido demonstradas pelos extratos de cúrcuma e seus componentes. O extrato etanólico de cúrcuma inibiu o crescimento da maioria dos organismos em colicistites (Lutowski et al., 1974), enquanto os curcuminóides foram bacteriostáticos contra *Staphylococcus* (Ramprasad & Sirsi, 1956) e os óleos essenciais apresentaram atividades bactericida (Lutowski et al., 1974) e fungistática (Sawada et al., 1971).

A ocorrência de coliformes em queijos indica que as práticas de elaboração dos mesmos podem ter sido inadequadas sob o ponto de vista sanitário, além do que, são alimentos que apresentam boas condições para o desenvolvimento e crescimento de microrganismos patogênicos (Maia, 2003). Em vários países do mundo, a presença de *Escherichia coli* e de estirpes enteropatogênicas de *E. coli* têm sido pesquisadas em diferentes tipos de queijos. (Salvio, 1993).

Neste contexto, o trabalho teve o objetivo de verificar a viabilidade e eficiência do uso da cúrcuma na redução da *Escherichia coli* e *Enterobacter aerogenes* na produção do queijo ricota.

2 - MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Laboratório de Microbiologia da Usina Piloto de Laticínios da Escola Agrotécnica de Inconfidentes (EAFI), MG e no Laboratório de Laticínios do Departamento de Ciências dos Alimentos da Universidade Federal de Lavras (UFLA), MG.

O soro para a fabricação da ricota foi proveniente da fabricação de queijo Minas Frescal, produzido na usina piloto da EAFI. O pó de cúrcuma apresentou teor de curcúmina na ordem de 4,16%, sendo o solvente utilizado no preparo do extrato alcoólico, o etanol a 92,8° GL.

Os microrganismos usados para inoculação na ricota foram do padrão ATCC, na forma reativada, no qual as linhagens eram a *E. coli* (ATCC 25922) e *E. aerogenes* (ATCC 13048). Os meios de cultura utilizados foram o Chromocult Coliform ágar e Caldo Nutritivo (Merck).

O extrato alcoólico de cúrcuma foi preparado utilizando-se 100g de pó de cúrcuma

para 600 mL de etanol, deixando-se em repouso por 24 horas, e filtrado em papel de filtro.

O experimento foi realizado em esquema fatorial 5x5x3, sendo cinco concentrações do extrato alcoólico de cúrcuma, incluindo o controle, cinco períodos de estocagem e três repetições.

Em cada embalagem foram adicionadas 25g de ricota resfriada a 5°C, 0,4% de NaCl e o extrato alcoólico de cúrcuma, nas concentrações de 0,0%, 0,5%, 1,0%, 1,5% e 2,0%. Após a inoculação as embalagens foram fechadas e encaminhadas à câmara fria e mantidas a 5°C durante 21 dias.

As amostras foram coletadas para análises nos dias D, D+1, D+7, D+14 e D+21, considerando D o dia da fabricação, como pode ser verificado na Figura 1.

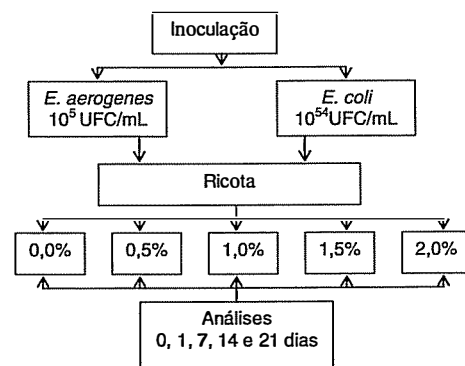


Figura 1 - Tratamentos aplicados e análises realizadas

Para o preparo do inóculo foi retirado do tubo *slant* uma alçada de cada cultura ativa de *E. aerogenes* e *E. coli* e colocada em um tubo de ensaio de 5 mL, contendo caldo infusão de cérebro e coração. As culturas foram incubadas e, a partir de 30 minutos até 2 horas, foi realizado o plaqueamento em 4 diluições a cada intervalo de 30 minutos para determinação da concentração das células. A determinação das células de *E. aerogenes* e *E. coli* em BHI foi realizada de forma simultânea por contagem em placas (*pour-plate*), utilizando-se o meio de cultura com incubação a 37°C, por 24 horas.

A inoculação foi feita imediatamente após a condimentação e mistura da ricota com o extrato alcoólico de cúrcuma, nas concentrações de 0,5%, 1,0%, 1,5% e 2,0%, sempre com 0,4% de NaCl. Também foi inoculada uma das amostras sem o extrato alcoólico de cúrcuma, que foi denominado controle. A inoculação de *E. coli* e *E. aerogenes* na ricota foi na ordem de 10⁴ UFC/mL e 10⁵ UFC/mL, respectivamente, sendo que esta concentração foi obtida a partir da incubação das duas culturas por 30 minutos a 37°C.

3 - RESULTADOS E DISCUSSÕES

A determinação das populações de *E. coli* e *E. aerogenes* são apresentadas nas Tabelas 1 e 2. No dia da fabricação (dia D) foram inoculados, em média, nos três lotes de ricota 8,2.10⁴ UFC/mL de *E. coli* (ATCC 25922) e 9,6.10⁵ UFC/mL de *E. aerogenes* (ATCC 13048).

Após 21 dias houve uma redução do número de células de *E. coli* de, aproximadamente, dois ciclos logarítmicos, nos tratamentos utilizados de 0,5%, 1,0%, 1,5% e 2,0% de cúrcuma. Ao observar os dias D+1 e D+7, pode-se verificar um ligeiro incremento do número de células viáveis de *E. coli* nos tratamentos de 1,5% e 2,0%, o que pode ser atribuído a uma maior disponibilidade de nutrientes inicialmente, podendo servir de substrato para a bactéria.

Para *E. aerogenes* a redução foi menor, de um ciclo logarítmico, de 10⁵ UFC/mL para 10⁴ UFC/mL, nos tratamentos 0,5%, 1,0%, 1,5% e 2,0% de cúrcuma. De acordo com Shelef (1983), as concentrações de condimento utilizados com a finalidade de inibir o crescimento bacteriano variam de 1,0% a 5,0%. Pela Tabela 2 verifica-se que nenhum dos dias avaliados o número de *E. aerogenes* na ricota tratado com extrato alcoólico

de cúrcuma, em nenhuma concentração, foi superior ao controle do dia da fabricação (dia D). A redução do número de células do controle de D+7 a D+14 pode ser atribuída a um decréscimo normal do número de células característico de uma curva normal de crescimento bacteriano, quando os metabólitos do próprio metabolismo dos coliformes concorrem para essa redução.

4 - CONCLUSÃO

O extrato alcoólico de cúrcuma nas concentrações de 0,5%, 1,0%, 1,5% e 2,0%, possui a propriedade de reduzir o número de *Escherichia coli* e *Enterobacter aerogenes* inoculados na ricota.

O uso da cúrcuma como aditivo natural na redução de *E. coli* e *E. aerogenes* é recomendada.

5 - SUMMARY

The efficiency of the ethanolic turmeric extract was evaluated added to the ricotta cheese, in the control of *Escherichia coli* and *Enterobacter aerogenes*, being used concentrations 0,0%, 0,5%, 1,0%, 1,5% and 2,0%. Five periods (D, D+1, D+7, D+14 and D+21) were used to analyze the ricotta cheese, being the period D the day of the production.

Tabela 1 - Contagem média de *Escherichia coli* na ricota tratada com extrato alcoólico de cúrcuma nas concentrações de 0,0 a 2,0%

Tratamento (% Cúrcuma)	Armazenamento (dias)				
	D	D+1	D+7	D+14	D+21
0,0%	8,2.10 ⁴	5,8.10 ⁵	1,4.10 ⁴	9,9.10 ³	2,4.10 ³
0,5%	8,2.10 ⁴	6,4.10 ⁴	1,6.10 ⁴	3,6.10 ³	4,6.10 ²
1,0%	8,2.10 ⁴	3,8.10 ⁴	1,6.10 ⁴	4,5.10 ³	8,8.10 ²
1,5%	8,2.10 ⁴	1,6.10 ⁴	3,8.10 ⁴	2,0.10 ²	4,7.10 ²
2,0%	8,2.10 ⁴	1,1.10 ⁴	4,4.10 ⁴	6,3.10 ²	1,8.10 ²

UFC - Contagem de unidades formadoras de colônias

Tabela 2 - Contagem média de *Enterobacter aerogenes* na ricota tratada com extrato alcoólico de cúrcuma nas concentrações de 0,0 a 2,0%

Tratamento (% Cúrcuma)	Armazenamento (dias)				
	D	D+1	D+7	D+14	D+21
0,0%	9,6.10 ⁵	1,2.10 ⁶	5,3.10 ⁶	1,5.10 ⁵	3,2.10 ⁵
0,5%	9,6.10 ⁵	6,0.10 ⁵	4,6.10 ⁵	8,2.10 ⁴	8,0.10 ³
1,0%	9,6.10 ⁵	4,6.10 ⁵	1,0.10 ⁵	6,4.10 ⁴	2,5.10 ⁴
1,5%	9,6.10 ⁵	5,4.10 ⁵	1,5.10 ⁵	7,2.10 ⁴	3,9.10 ⁴
2,0%	9,6.10 ⁵	3,9.10 ⁵	6,3.10 ⁴	5,0.10 ⁴	4,7.10 ⁴

UFC - Contagem de unidades formadoras de colônias

After 21 days was observed a reduction of the number of *Escherichia coli* of, approximately, two logarithmic cycles, for the treatments being used concentrations of 0,5%, 1,0%, 1,5% and 2,0% of ethanolic turmeric extract. In relation to the *Enterobacter aerogenes*, a smaller reduction was observed of, approximately, a cycle logarítmico for the same treatments. The results of the analyses evidenced reduction of the number of viable cells of the appraised microorganisms, however, the ethanolic turmeric extract should not be the only half preservative because it doesn't assist to the effective legislation to the requirements microbiological for cheeses being considered an initial contamination of 104 UFC/mL of *E.coli* and 105 UFC/mL of *E. aerogenes*.

6 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

GHATAK, G.; BOSU, N. Sodium curcumin as an effective anti-inflammatory agent. *Indian Journal Exper. Biol.* 10, p.235-239, 1972.

LUTOMSKI, J.; KEDZIA, B.; DEBSKA, W. Effect of an alcohol extract and active ingredients from *Curcuma longa* on bacteria and fungi. *Planta Medica*, v.26, n.1, p.9, 1974.

MAIA, S. R. Uso da *curcuma longa* L. Na redução de *Escherichia coli* (ATCC 25922) e *Enterobacter aerogenes* (ATCC 13048) em ricota. 2003. 63p. *Dissertação* (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.

NUNES, F.V. Cultivo da cúrcuma é fácil e lucrativo.

Manchete Rural, Rio de Janeiro, v.29, p.60, 1989.

PEROTTI, A.G. Curcumin – na useful vegetable colour not much well-known. *Industr. Alim.*, v.14, n.6, 66-68p., 1975.

RAMPRASAD, C.; SIRSI, M. Observations on the pharmacology of *C. longa* L. – Pharmacodynamic and toxicological studies of sodium curcumin. *Indian Journal Physiology*, n.1, 136-140p., 1957.

RAMPRASAD, C.; SIRSI, M. Observations on the pharmacology of *C. longa* L. – Studies in Indians plants *Curcuma longa* Linn – Effects of curcumin and essential oil of *C. longa* on bile secretion. *Journal Science Res. Inst.*, v.5, 212-216p., 1956.

SAFFORD, R.J.; GGODWIN, B.F.J. Immunological studies on tartrazine. *Int. Arch. Allergy Appl. Immunol.*, Basel, v.77, n.3, 331-336p., 1985.

SALVIO, J.L.M. Sobrevivência de *Escherichia coli* enteropatogênica clássica durante a maturação do queijo minas. 1993. *Dissertação* (Mestrado em Microbiologia Agrícola) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

SAWADA T. Evaluation of crude drugs by bioassay, III. Comparison with local variation of the contents and the fungistatic action of the essential oil from the roots of *Curcuma longa*. *Shoyakugaku Zashi*, Tokyo, v.25, n.1, p.11, 1971.

SHELEF, L.A. Antimicrobial affects of spices. *Journal Food Safety*, v.6, 29-44p., 1983.

Kilol®-L

O Higienizante Nobre dos Laticínios e das Fazendas

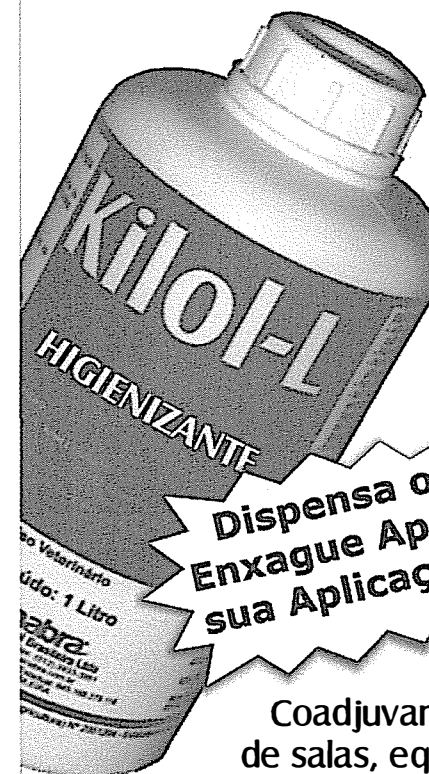
Tecnologia
100% brasileira
SENDO EXPORTADA PARA O PRIMEIRO MUNDO.

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

AVALIAÇÃO DO EFEITO INIBIDOR DA *CURCUMA LONGA* L., EM *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* EM RICOTA¹

Evaluation of the inhibiting effect of long curcuma l., in *Staphylococcus aureus* in ricotta cheese¹

Ana Cristina Ferreira²
Luiz Ronaldo de Abreu³
Celso José de Moura⁴
Daise Aparecida Rossi⁵
Eliane Sayuri Miyagi⁶
Eduardo Fernandes⁷

RESUMO

Foi avaliado o efeito de diferentes concentrações da cúrcuma em pó (*Curcuma longa* L.) e de extrato alcoólico de cúrcuma no controle de *Staphylococcus aureus* em ricota cremosa. As ricotas foram condimentadas com concentrações de 0,2%, 0,4%, 0,6%, 0,8%, 1,0%, 2,0%, 3,0%, 4,0%, 5,0% e 6,0% de cúrcuma em pó e estas mesmas concentrações de sólido no extrato alcoólico e inoculadas com $10^4 - 10^5$ UFC/g de *Staphylococcus aureus*. Uma amostra foi considerada tratamento controle com inoculação do microrganismo sem a condimentação de cúrcuma. As análises foram feitas nos dias 0, 1, 7, 14 e 21, sempre a 5°C. Verificou-se que a utilização somente da cúrcuma em pó não apresentou efeito inibitório ao fazer a contagem de microrganismos, o que não ocorreu ao utilizar-se o extrato alcoólico de cúrcuma. Observou-se queda do crescimento microbiano no primeiro dia após a fabricação, sendo que concentrações acima de 3,0% apresentou inibição total do *Staphylococcus aureus*. Esse resultado viabiliza a utilização do extrato alcoólico de cúrcuma na condimentação da ricota.

Termos para indexação: *Curcuma longa* L., ricota, *Staphylococcus aureus*, microrganismos patogênicos, condimentos.

1 - INTRODUÇÃO

Os condimentos possuem propriedades antimicrobianas, antioxidantes e medicinais, além daquelas que já são conhecidas. Segundo Shelef (1983), há aproximadamente 70 condimentos diferentes, cultivados e utilizados em todo o mundo e para que ocorra inibição de crescimento bacteriano a concentração dos condimentos deve estar na faixa de 1% a 5%.

Vários estudos têm evidenciado que os princípios ativos dos condimentos localizam-se na fração de óleo essencial (Parry, 1962; Hitokoto et al., 1980; Pruthi, 1980; Farag et al., 1989). Os

óleos essenciais dos condimentos são misturas complexas de diferentes compostos, que contribuem com as propriedades microbianas (Pruthi, 1980). A presença de óleos essenciais interfere também no mecanismo de reparo necessário para a divisão celular e, consequentemente, para a formação de colônias (Conner & Beuchat, 1984).

Estudos realizados por Barel & Yashphe (1989), em células de *Escherichia coli* tratadas com óleo essencial de *Achillea fragrantissima* reforçaram as evidências de que os óleos de plantas atuam principalmente na membrana bacteriana, inibindo a respiração celular, reduzindo o conteúdo de ATP. Os resultados apresentados por Nychas

et al. (1990) evidenciaram o aumento da permeabilidade da membrana plasmática com perda de constituintes celulares de *Staphylococcus aureus* cultivado na presença de compostos fenólicos extraídos de plantas. As propriedades antimicrobianas dos condimentos e de seus óleos essenciais têm sido estudadas, principalmente, com relação ao efeito inibidor de microrganismos patogênicos presentes em alimentos.

Shankar & Murthy (1991) observaram uma significativa supressão do crescimento de microrganismos pelo oleoresina da cúrcuma, sendo que o extrato alcoólico da cúrcuma induziu mudanças morfológicas em estreptococos, lactobacilos e estafilococos.

Deste modo o trabalho objetivou avaliar o efeito do uso do açafrão (*Curcuma longa* L.) no controle de *Staphylococcus aureus* em queijos ricota.

2 - MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado na usina piloto e laboratório de análises físico-químicas e microbiológicas da Escola Agrotécnica Federal de Inconfidentes e laboratório de laticínios do Departamento de Ciência dos Alimentos da Universidade Federal de Lavras.

O experimento foi dividido em duas fases onde a primeira fase constitui-se de 11 concentrações de cúrcuma em pó, 5 períodos de armazenamento e 3 repetições. A segunda fase constitui-se de 11 concentrações de sólidos no extrato alcoólico de cúrcuma, 5 períodos de armazenamento e 3 repetições (Tabela 1). As primeira fase foi executada em duas etapas conforme a Tabela 2. O esquema fatorial utilizado foi $11 \times 5 \times 3$.

O extrato alcoólico da cúrcuma foi preparado na proporção de 1:6 (cúrcuma e etanol 92,8%) à temperatura ambiente (25°C)/24 horas.

As ricotas foram acondicionadas em potes plásticos com tampa e, após atingirem temperatura ambiente, foram submetidas a análises

físico-químicas e condimentadas com açafrão em pó e inoculadas com a cultura de *S. Aureus*. Após a condimentação e inoculação, foram mantidas sob refrigeração a 5°C/21 dias para análises microbiológicas e de pH a cada tempo (0, 1, 7, 14 e 21 dias).

A cultura utilizada de *S. Aureus* foi o da subsp. *aureus* Rosenbach ATCC 12600 liofilizada. A cultura ativa foi repicada em caldo BHI e incubada em banho-maria a 36°C. A cada 30 minutos durante 3 horas, foi feita a determinação do número de células de *S. aureus* por contagem direta em placas, utilizando-se o meio de cultura ágar BP (Baird Packer), acrescido de solução aquosa de telúrito de potássio a 1% e emulsão de gema de ovo em solução salina a 0,85%.

Após a inoculação foram retiradas 25g de amostra para contagem direta em placas, segundo ABNT (1991). As demais amostras de ricota inoculadas com a cultura de *S. Aureus* foram armazenadas a 5°C por 1, 7, 14 e 21 dias após a fabricação para plaqueamento em ágar BP e observação do crescimento bacteriano.

3 - RESULTADOS E DISCUSSÕES

Na Tabela 3 são apresentados os valores médios obtidos das análises de acidez titulável, gordura e pH do soro utilizado para a fabricação das ricotas para o experimento.

Tabela 3 - Valores médios e desvio padrão das análises para acidez titulável, teor de gordura e pH do soro utilizado para a fabricação da ricota

Itens	Valor médio (desvio padrão)
Acidez titulável (°D)	12,0 (0,2)
Teor de gordura (%)	1,2 (0,1)
pH	6,4 (0,2)

A acidez titulável do soro, segundo a literatura, varia de 11° a 14°D de acidez,

Tabela 1 - Concentrações de extrato sólido de cúrcuma utilizado no extrato alcoólico na segunda fase do experimento

Concentrações (%) extrato sólido de cúrcuma										
0,0	0,2	0,4	0,6	0,8	1,0	2,0	3,0	4,0	5,0	6,0

Tabela 2 - Concentrações de cúrcuma em pó utilizadas na primeira fase do experimento

Concentrações (%) de cúrcuma em pó						
1ª Etapa	0,0	0,2	0,4	0,6	0,8	1,0
2ª Etapa	0,0	2,0	3,0	4,0	5,0	6,0

- 1 Parte da Dissertação apresentada como exigência para obtenção do título de Mestre-Departamento de Ciência de Alimentos - UFLA/MG.
- 2 MS em Ciência de Alimentos - DCA - UFLA/MG.
- 3 Professor Adjunto - DCA - UFLA/MG.
- 4 Professor Titular - Escola de Engenharia de Alimentos - UFG/GO.
- 5 Professor Titular - Faculdade Veterinária - UFU/MG.
- 6 Zootecnista Doutoranda - DPA - UFG/GO.
- 7 Médico Veterinário.

dependendo do tipo de queijo do qual o soro é proveniente. O resultado obtido encontra-se dentro do esperado, pois o soro é proveniente da fabricação de queijo minas frescal, que possui acidez pouco acentuada.

Nas Tabelas 4 e 5 encontram-se os valores de pH das ricotas condimentadas com cúrcuma em pó e extrato alcoólico de cúrcuma, respectivamente, ao longo de 21 dias de estocagem.

Utilizando-se a cúrcuma em pó e o extrato alcoólico de cúrcuma, foi observado um aumento de pH durante o período de estocagem. Pelos resultados obtidos não foi observado efeito inibidor do *S. Aureus* pela cúrcuma em pó nas concentrações de 0,2%, 0,4%, 0,6%, 0,8% e 1,0%. Segundo Shelef (1983), para que houvesse uma

inibição do crescimento bacteriano a concentração de condimento deve estar na faixa de 1% a 5%. Entretanto, utilizando-se concentrações de 2,0% a 6,0% de pó de cúrcuma foi observado crescimento bacteriano até 14 dias após a fabricação com queda aos 21 dias.

O efeito inibidor do extrato alcoólico de cúrcuma, acompanhado pela contagem de colônias, mostrou atividade antimicrobiana evidente no controle de *S. Aureus*. Nas concentrações de 0,2% e 0,4% não foi observado efeito sobre o crescimento bacteriano, ocorrendo crescimento até 14 dias após a dia da fabricação e pequena diminuição do crescimento após 21 dias. Já nas concentrações de 0,6% a 6,0%, o efeito inibidor foi acentuado. O extrato levou a um

Tabela 4 - Valores médios de pH da ricota condimentada com cúrcuma em pó durante 21 dias de estocagem

ConcentraçãoDias de cúrcuma em pó (%)	Dias				
	0	1	7	14	21
	Valores de pH na 2ª etapa				
0,0	5,45	7,20	6,96	6,90	6,20
0,2	5,66	7,23	6,02	5,94	6,03
0,4	5,37	6,96	6,13	6,52	6,18
0,6	5,69	6,82	6,26	5,63	5,87
0,8	5,6	6,34	6,04	6,20	5,56
1,0	5,89	6,37	6,12	5,79	5,92
	Valores de pH na 2ª etapa				
2,0	5,79	6,24	6,24	6,86	6,35
3,0	5,66	6,29	6,06	6,24	6,10
4,0	5,93	7,11	6,31	6,37	6,09
5,0	5,86	6,46	6,35	6,29	5,96
6,0	5,83	7,12	6,20	5,65	5,50

Tabela 5 -Valores médios de pH da ricota condimentada com extrato alcoólico de cúrcuma durante 21 dias de estocagem

Concentração de sólidos no extrato (%)	Dias				
	0	1	7	14	21
	Valores de pH				
0,0	5,45	7,20	6,96	6,90	6,20
0,2	5,80	6,87	6,34	5,92	5,64
0,4	5,61	6,37	6,45	6,24	6,10
0,6	5,59	6,51	6,34	6,40	6,18
0,8	5,68	6,44	6,38	6,39	6,12
1,0	5,54	6,34	6,42	6,30	6,27
2,0	5,54	6,44	6,31	6,50	6,16
3,0	5,57	6,34	6,51	6,20	6,20
4,0	5,61	6,36	6,50	6,37	6,16
5,0	5,65	6,34	6,34	6,39	6,10
6,0	5,59	6,38	6,52	6,32	6,21

aumento da inativação bacteriana após um dia de fabricação com a concentração de 6,0%.

Com as concentrações de 1,0% e 2,0% houve inibição total aos 21 dias de estocagem; nas concentrações de 3,0% e 4,0%, a inibição completa do crescimento de *S. Aureus* ocorreu aos 14 dias após a fabricação e com 5,0% de sólidos no extrato foi constatada inibição do crescimento com 21 dias de estocagem.

4 - CONCLUSÃO

Não houve inibição no crescimento do *Staphylococcus aureus* nas ricotas nos 21 dias de estocagem do produto, utilizando-se a cúrcuma em pó.

O uso da concentração a partir de 3,0# de sólidos no extrato alcoólico de cúrcuma eliminou o *Staphylococcus aureus* com 14 dias de estocagem da ricota.

Utilizando-se 6,0% de sólidos no extrato alcoólico, houve total inibição do microrganismo com um dia de estocagem.

5 - SUMMARY

The effect of different concentrations of the turmeric powder was evaluated (long Curcuma L.) and of alcoholic extract from turmeric in the control of *Staphylococcus aureus* in creamy ricotta cheese. The creamy ricottas cheese were seasoned with concentrations of 0,2%, 0,4%, 0,6%, 0,8%, 1,0%, 2,0%, 3,0%, 4,0%, 5,0% and 6,0% of turmeric powder and these same solid concentrations in the alcoholic extract and inoculated with 10^4 - 10^5 UFC/g of *Staphylococcus aureus*. A sample was considered treatment controls with inoculation of the microorganism without the turmeric. The analyses were made on the 0, 1, 7, 14 and 21, always to 5°C. It was verified that the use only of the turmeric powder didn't present effect inhibiting when doing the counting of microorganisms, what didn't happen when using the alcoholic extract of turmeric. Fall of the microbial growth was observed in the first day after the production, and concentrations above 3,0% presented total inhibition of the *Staphylococcus*

aureus. That result makes possible the use of the alcoholic extract of turmeric in the seasoning of the creamy ricotta cheese.

6 - REFERÊNCIASBIBLIOGRÁFICAS

BAREL, S.; YASHPHE, J. Effect of the essential oil from *Achillea frangantissima* on *Escherichia coli* cells. *Current Microbiology*, v.19, 9.337-341, 1989.

CONNER, D.E.; BEAUCHAT, L.R. Effects os essential oils from plants on growth of food spoilage yeasts. *Journal Food Science*, v.49, p.429-434, 1984.

FARAG, R.S.; DAW, Z.Y.; ABO-RAYA, S.H. Influence of some spice essential oils on *Aspergillus parasiticus* growth and production of aflatoxins in a synthetic medium. *Journal Food Science*, v.54, 9.74-76, 1989.

HITOKOTO, H. et al. Inhibitory effects of spices on growth and toxin production of toxinogenic fungi. *Applied and Environmental Microbiology*, v.39, p.818-822, 1980.

NYCHAS, G.J.E.; TASSOU, S.C.; BOARD, R.G. Phenolic extract from olives: inhibition of *Stahyloccocus aureus*. *Applied Microbiology*, v.10,p.217-220, 1990.

PARRY, J.W. *Spices: morphology, histology, chemistry*. Ney York: Chemical, 1962. v.2, 183p.

PRUTHI, J.S. *Spices and condiments: chemistry, microbiology, technology*. New York: Academic, 1980. 449p.

SHANKAR, T.N.B.; MURTHY, V.S. Indian Journal Exp. Biol., v.17, p.1363-1366, 1979 apud AMMON, H.P.T.; WAHL, M.A. Pharmacology of *Curcuma longa*. *Planta Medica*, v.57, p.1-7, 1991.

SHELEF, L.A. Antimicrobial effects os spices. *Journal Food Safety*, v.6, p.29-77, 1983.

AVALIAÇÃO DO TEOR DE NATAMICINA EM QUEIJOS GORGONZOLA ATRAVÉS DE QUANTIFICAÇÃO ESPECTROFOTOMÉTRICA

Evaluation of natamycin quantity in Gorgonzola cheese through spectrophotometric analysis

Talita Moreira de Oliveira¹
Nilda de Fátima Ferreira Soares²
Rodrigo Magela Pereira³
Kátia de Freitas Fraga⁴

RESUMO

A produção de alimentos com qualidade e segurança microbiológica é o principal objetivo e preocupação das indústrias alimentícias. Os aditivos nesse contexto exercem um papel fundamental no controle e prevenção das deteriorações que ocorrem nos alimentos, porém devem ser usados apenas quando estritamente necessários e na menor quantidade possível. Assim, o objetivo do trabalho foi determinar se os níveis de natamicina, um aditivo utilizado para controle de fungos e leveduras em queijos, como o Gorgonzola, estavam em conformidade com a legislação, testando a eficiência de um método espectrofotométrico derivativo. Os queijos apresentaram-se adequados e o método de detecção da natamicina foi satisfatório.

Palavras-chave: Natamicina, queijo Gorgonzola, espectrofotometria.

INTRODUÇÃO

A natamicina foi inicialmente isolada em 1955 de uma cultura de *Streptomyces natalensis*, um microrganismo encontrado em soja. O nome genérico natamicina, que é aprovado pela "Word Health Organization", é sinônimo de pimaricina e conhecida comercialmente como "Delvocid" (DAVIDSON e DOAN, 1992).

A natamicina pertence ao grupo de aditivos denominados conservadores, que, de acordo com a ANVISA, "são aquelas substâncias que impedem ou retardam a alteração dos alimentos provocada por microrganismos e enzimas" (Portaria nº 540/1997). É denominada pelo número E235. É usada para retardar principalmente o crescimento de fungos e leveduras especificamente na superfície de diversas variedades do queijo. A natamicina é aplicada imediatamente antes da perfuração do queijo, ou seja, entre sete a dez dias após o início da maturação, em solução aquosa de 0,2 a 0,4% por imersão (CHR HANSEN, 2000).

O uso de natamicina é permitido na legislação brasileira, no Mercosul e na Comunidade Européia como conservador (ANVISA, Res. nº 28, 2001). A concentração máxima de natamicina no produto final deve ser de 1 mg/dm² e um máximo de 5 mg/kg não detectável a 2 mm de profundidade (MERCOSUL/GMC/RES. nº 134/96).

Estudos realizados por "Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives" (1976) comprovaram que a natamicina não é absorvida de forma significativa pelo trato gastrointestinal humano. Não foram observados efeitos adversos na reprodução, e nenhum efeito carcinogênico, mutagênico, teratogênico ou alergênico em potencial desde que a ingestão diária seja menor que 0,3 mg/kg. Acima disso pode causar náuseas, vômitos, anorexia, diarreia e irritações na pele.

Métodos para a análise de natamicina incluem os procedimentos microbiológicos, imunoquímicos, espectrofotométricos e de cromatografia líquida. (FLETOURIS et al., 1995). A maioria desses não é apropriada para análises

1, 2, 3, 4 Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa - MG, 36570-000. Telefone: (31) 38992226 / 38991624.

1 e-mail: moreiratalita@yahoo.com.br
2 e-mail: nfsoares@ufv.br
3 e-mail: rodeali@yahoo.com.br
4 e-mail: katiareitasf@yahoo.com.br

de rotina de controle de qualidade devido à complexidade dos testes, tempo prolongado ou custo elevado das análises.

O objetivo desse trabalho foi determinar o teor de natamicina em queijos Gorgonzola visando à observação do cumprimento da legislação e avaliação da eficiência do método espectrofotométrico derivativo proposto por FLETOURIS et al. (1995).

MATERIAL E MÉTODOS

Foram obtidos 15 queijos Gorgonzola (12 cm de altura e 10 cm de diâmetro) no Laticínios da Universidade Federal de Viçosa, Departamento de Tecnologia de Alimentos. As análises em espectrofotômetro foram feitas de acordo com FLETOURIS et al. (1995).

As cascas dos queijos foram retiradas a aproximadamente 2 mm de profundidade após quarenta e cinco dias de maturação. As cascas retiradas de cada queijo (aproximadamente 5g) foram misturadas a 25 mL de solvente de extração, contendo 4 partes de acetonitrila e 1 parte de ácido fosfórico 1M. O material homogeneizado foi filtrado e submetido à análise em espectrofotômetro (GBC Model UV/VIS918, Melbourne, Australia). As curvas obtidas foram submetidas a terceira derivação e os valores de natamicina foram obtidos medindo-se a distância entre o pico situado a 317nm e a linha de base (Figura 1).

Da mesma forma, curvas foram obtidas para soluções de natamicina de concentrações conhecidas para determinação de uma curva padrão que foi usada para determinação da quantidade de natamicina presente nos queijos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

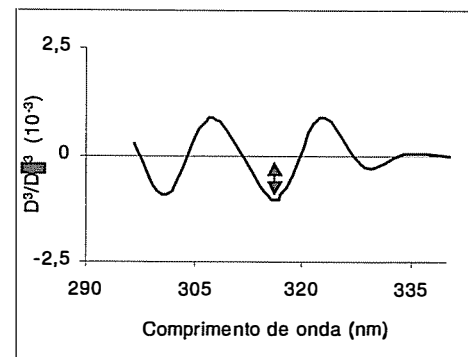


Figura 1: Curva demonstrativa da resposta dada pela terceira derivada do método espectrofotométrico

Um modelo do gráfico obtido no espectrofotômetro usado para determinação da concentração de natamicina nos queijos encontra-se na Figura 1.

A partir da equação da curva padrão (Figura 2), as concentrações de natamicina nos queijos foram encontradas em mg/mL e transformadas em mg/Kg pela multiplicação do valor por cinco, de acordo com a fórmula abaixo:

$$\text{Concentração de natamicina (mg/Kg)} = \frac{25 \text{ mL} \times C}{5 \text{ g}}$$

onde C é a concentração de natamicina em mg/mL

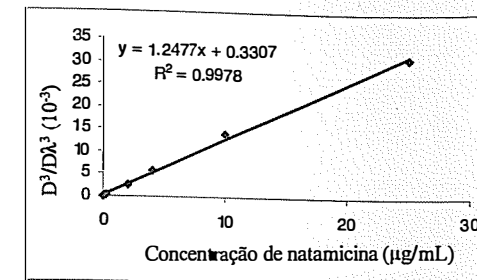


Figura 2. Curva padrão de natamicina

A média de valores encontrados nos queijos foi de 2,58 ± 0,21 mg/Kg de natamicina. Esses valores estão de acordo com a legislação, que permite um máximo de 5 mg/Kg não detectável a 2 mm de profundidade (MERCOSUL/GMC/RES. nº 134/96).

As análises de natamicina pelo método espectrofotométrico foram de fácil realização, de baixo custo e rápidas. O equipamento foi de fácil acesso e permitiu a geração instantânea da curva de terceira derivação.

CONCLUSÃO

Os queijos analisados apresentaram-se de acordo com a legislação, respeitando o limite máximo de aditivo no produto. O acompanhamento dos níveis de aditivos em alimentos é importante no sentido de se evitar fraudes que poderiam acarretar danos à saúde do consumidor. O método espectrofotométrico possui potencial para ser utilizado como padrão para análises rotineiras de natamicina em indústrias.

ABSTRACT

The food production with quality and microbiological safety is the main objective and concern of the food industries. The additives have a fundamental importance in the control and

prevention of deteriorations that occur in foods, however must be used when only strict necessary and in the lesser possible amount. Thus, the objective of this work was to determine if the levels of natamycin, an additive used for yeast and moulds control in cheeses, like Gorgonzola, were in compliance with the legislation, testing the efficiency of a derivative espectrofotometric method. The cheeses presented adequate level of natamycin and the method of natamycin detection was satisfactory.

Keywords: Natamycin, gorgonzola cheese, espectrofotometric method.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Portaria nº 540 - SVS/MS, de 27 de outubro de 1997. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/legis/portarias/540_97.htm e

Resolução RDC nº 28, de 23 de fevereiro de 2001, disponível em [http://www.anvisa.gov.br/base/visadoc/res/res\[1730-2-0\].htm](http://www.anvisa.gov.br/base/visadoc/res/res[1730-2-0].htm) Acessados em 31/03/05.

CHR HANSEN, INFORMATIVO HA-LA BIOTEC divisão laticínios. Ano X – nº 56 Março/Abril de 2000.

DAVIDSON, P. M.; DOAN, C. H. **Antimicrobials in Foods**. Second edition. Marcel Dekker, Inc. New York. 1992.

FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. Toxicological Evaluation of Certain Food Additives. Roma, 21-29 de Abril de 1976. Disponível em: <http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v10je09.htm>. Acessado em 31/03/04.

FLETOURIS, D.J.; BOTSOGLOU, N.A.; MANTIS, A. J. **Rapid Spectrophotometric Method for Analyzing Natamycin in Cheese and Cheese Rind**. Journal of AOAC International. Food Composition and Additives. Vol. 78, nº 4, 1995.

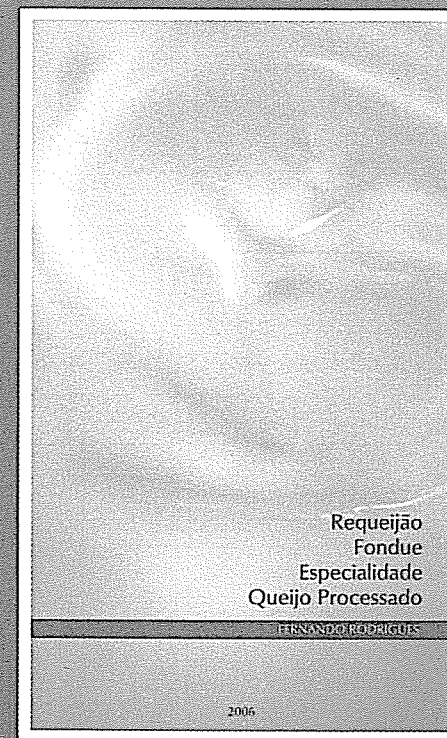
MERCOSUL/GMC/RESOLUÇÃO. nº 134/96, disponível em http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/mercosul/alimentos/134_96.htm. Acessado em 31/03/05.

ASSINE A REVISTA

ILCT

Lançamento!

Livro Técnico e Guia Completo:



Requeijão

Fondue

Especialidade

Queijo

Processado

É um título imperdível e inédito destinado a profissionais, estudantes e empreendedores da indústria de laticínios.

PEDIDOS: ☎ (32) 3224 1205 / (32) 3224 3016

**casa do
queijeiro**
PRODUTOS & SOLUÇÕES

**COMPLETA LINHA DE
SAIS FUNDENTES**

☎ (32) 3224 3016
(32) 3224 1205

LIGUE E SOLICITE NOSSO CATÁLOGO !



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 nosso *expertise* e obtenha
Vantagem competitiva no mercado.

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


Germinal
Aditivos para Alimentos

Uma empresa do grupo

INTERNATIONAL SPECIALTY PRODUCTS