

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

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

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

### Diretrizes de uso

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

Também pedimos que você:

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

### Sobre a **Arvoredoleite.org**

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

# REVISTA do INSTITUTO DE LATICÍNIOS "CÂNDIDO TOSTES"

DAIRY JOURNAL Bimonthly  
Published By The "Cândido  
TOSTES" DAIRY INSTITUTE

Nº 316 JUIZ DE FORA.SET/OUT DE 2000 VOL.54

GOVERNO do Estado de Minas Gerais  
SISTEMA Operacional de Agricultura  
EMPRESA de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais  
CENTRO Tecnológico  
INSTITUTO de Laticínios "Cândido Tostes"



# REVISTA DO INSTITUTO DE LATICÍNIOS "CÂNDIDO TOSTES"

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

### ÍNDICE - CONTENT

- 1 Qualidade microbiológica de queijos tipo "Minas Frescal" comercializados na região de São José do Rio Preto - SP. Microbiological quality of "Minas Frescal" cheeses commercialized in the area of São José do Rio Preto - SP. Fernando Leite Hoffmann; Crispin Humberto Garcia-Cruz; Tânia Maria Vinturim ..... 3
- 2 Estudo sobre ricota elaborada com leite de cabra. A study into ricotta cheese produced from goat's milk. Ismael Antonio Bonassi; Roberto de Oliveira Roça; José Santo Goldoni ..... 7
- 3 Utilização de proteínas do leite como ingrediente. Prof. Marco Antônio Moreira Furtado ... 11
- 4 Quantificação de proteínas do soro de queijo através de cromatografia líquida de fase reversa. Quantification of whey proteins by reverse phase liquid chromatographic. Abraham D. Giraldo Zuñiga; Renata C. Ferreira; Jane S. Reis Coimbra; Luís A Minim ..... 17
- 5 Correlação entre as técnicas de NMP e Petrifilm EC na determinação de coliformes em leite pasteurizado e queijo tipo mussarela. Elisa Helena Giglio Ponsano; Marcos Franke Pinto; Ádina Cléia Botazzo Delbem; Jorge Antonio Ferreira de Lara; Silvia Helena Venturoli Perri..... 22
- 6 Produtos modificados: Pesquisa avalia mercado. Maria Cristina Drumond e Castro; José Alberto Bastos Portugal; Danielle Braga Chellini; Soraia Augusta da Silva; Alunos do 1º ano do Curso Técnico em Leite e Derivados - ILCT/EPAMIG ..... 27
- 7 Empresa Rural: Uma visão moderna de administração. Maria Cristina Drumond e Castro ..... 35
- 8 Análise de linhagens de *Escherichia coli* isoladas do "leite bovino mastítico". Maria da Graça Portantiolo Corrêa; Inivaldo Corrêa; José Moacir Marin; Aduino de Matos Lemos ..... 41

Rev. Inst. Latic. "Cândido Tostes" - Juiz de Fora - Vol. 54 (316); 1-50 - Set/Out de 2000

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

Endereço: Revista do Instituto de Laticínios "Cândido Tostes"  
Tel.: 3224-3116 - DDD: 32 / Fax: 3224-3113 - DDD: 32  
36.045-560 - Juiz de Fora - Minas Gerais - Brasil

BIBLIOTECA  
CADASTRO / MICRO  
Funcionário

CEPE - ILCT



Governo do Estado de Minas Gerais  
Itamar Franco

Secretaria de Estado de Agricultura, Pecuária e Abastecimento  
Raul Décio de Belém Miguel

Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais  
Márcio Amaral - Presidente  
Marcos Reis Araújo - Diretor de Operações Técnicas  
Marcelo Franco - Diretor de Administração de Finanças

Centro Tecnológico - Instituto de Laticínios Cândido Tostes

#### Comitê Gerencial

Geraldo Alvim Dusi - Chefe do CT/ILCT  
José Alberto Bastos Portugal - Sec. Executivo Prog. Proc. Agroindustrial  
Regina Célia Mancini - 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

Área de Difusão de Tecnologia  
Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes

Luiza Carvalhaes Albuquerque  
Eduardo Hargreaves Surerus

#### Corpo Revisor

Edna Froeder Arcuri  
Geraldo Alvim Dusi  
José Alberto Bastos Portugal  
Luiz Ronaldo de Abreu  
Luiza Carvalhaes de Albuquerque  
Maria Cristina Drumond e Castro  
Paulo Henrique Fonseca da Silva

#### Jornalista Responsável

Vania Lucia Alves Lacerda  
Reg. Prof. 4.729/MG

*Os trabalhos apresentados são de inteira responsabilidade de seus autores.*

Juiz de Fora, março de 2001

EMPRESA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA DE MINAS GERAIS  
- EPAMIG -

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

v. ilustr. 23 cm

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

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

1. Zootecnia - Brasil - Periódicos. 2. Laticínios - Brasil - Periódicos  
1. Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais, Juiz de Fora, MG, ed.

ISSN 0100-3674

CDU 636/637(81)(50)

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

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

Fernando Leite Hoffmann<sup>1</sup>  
Crispin Humberto Garcia-Cruz<sup>1</sup>  
Tânia Maria Vinturim<sup>1</sup>

### RESUMO

Foram submetidas a análises microbiológicas treze amostras de queijos tipo "Minas Frescal" (100%) todas elas obtidas de feiras livres da região de São José do Rio Preto - SP. Os resultados obtidos demonstraram que de todas as treze amostras analisadas (100%) onze (84,6%) situaram-se fora dos padrões microbiológicos vigentes. Tais achados sugerem a qualidade inadequada das matérias primas utilizadas e/ou condições impróprias de processamento e estocagem.

### INTRODUÇÃO

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

Existem várias indústrias, principalmente aquelas de pequeno porte, que produzem queijos, dentre eles o queijo "Minas-Frescal", de fabricação relativamente simples e de baixo custo, que representa a maioria dos queijos comercializados em feiras livres, bares e mercearias. São também de fabricação caseira, existindo a tendência de comercializá-los em sacos plásticos comuns, amarrados ou fechados com um fecho metálico, porém sem usar vácuo. Durante a comercialização, esse saco plástico apresenta-se geralmente com um depósito de soro exsudado pelo produto. Essa dessora, que ocorre devido ao excesso de umidade nos queijos, além de proporcionar um aspecto pouco atraente ao produto, favorece o crescimento microbiano causando odores desagradáveis. Por essas razões, o queijo tipo "Minas-Frescal" apresenta, geralmente, uma vida de prateleira muito curta, no máximo duas semanas, mesmo em temperaturas adequadas de refrigeração (Oliveira, 1986).

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

A comercialização do queijo "Minas Frescal", fabricado artesanalmente, tem sido indiscriminada, assim como a fabricação de diferentes produtos derivados do leite por pequenos estabelecimentos; este fato pode acarretar prejuízos à saúde da população tornando-se então necessário um monitoramento microbiológico dos produtos por ela consumidos. Portanto, no presente trabalho queijos tipo "Minas Frescal", obtidos de feiras livres da região de São José do Rio Preto-SP, foram submetidos as seguintes análises microbiológicas: contagem de *Staphylococcus aureus*, determinação do número mais provável de coliformes totais e de coliformes fecais, pesquisa de *Escherichia coli* e de *Salmonella sp.*

### MATERIAL E MÉTODOS

#### Obtenção das amostras

As treze amostras de queijos tipo "Minas Frescal" (100%) foram coletadas com assepsia e

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

1 Professores e auxiliar acadêmico do Depto. de Engenharia e Tecnologia de Alimentos - UNESP - Campus de S. J. Rio Preto - SP.

transportadas adequadamente ao laboratório para análise imediata.

#### Preparo das amostras

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

#### Contagem de *Staphylococcus aureus*

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

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

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

#### Pesquisa de *Escherichia coli*

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

#### Pesquisa de *Salmonella* sp

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

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

#### RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos, após a realização das análises microbiológicas efetuadas nas treze amostras de queijos tipo "Minas Frescal" (100%) estão demonstrados na Tabela 1.

Nesta Tabela 1, e de acordo com o padrão da legislação em vigor (Brasil, 1987), pode-se observar que das treze amostras analisadas (100%) onze (84,6%) as amostras ns. 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 9, 10, 12 e 13 apresentaram contagens de *S. aureus* fora deste mesmo padrão estabelecido, destas onze, sete (63,6%) amostras ns. 2, 3, 4, 5, 6, 8 e 13 foram então classificadas pela mesma legislação como "produtos potencialmente capazes de causar toxinfecções alimentares" e portanto "produtos impróprios para o consumo" e as outras quatro (36,4%) amostras ns. 1, 9, 10 e 12 como "produtos em condições higiênico-sanitárias insatisfatórias". As amostras ns. 7 e 11 (15,4%) se apresentaram, quanto ao *S. aureus*, coliformes fecais e *Salmonella* sp dentro dos padrões da legislação, e portanto, podem ser consideradas adequadas ao consumo.

Comparando esses resultados com os encontrados na literatura, verificou-se que de sessenta amostras de queijo tipo "Minas" examinadas na cidade do Rio de Janeiro 38,4% apresentaram contagens de *S. aureus* superiores a  $10^3$  UFC/g (Silva, 1980). Encontrou-se também 20,3% de amostras contaminadas com esse microrganismo na cidade de Lavras (Carvalho et al., 1981). Foram constatadas que 67% das amostras analisadas no município de Belo Horizonte estavam contaminadas com essa bactéria em níveis variando entre  $10^1$  e  $10^5$  UFC/g (Mandil et al., 1982). Encontrou-se também contagens de *S. aureus* variando entre  $1,5 \times 10^2$  e  $1,2 \times 10^5$  UFC/g na cidade de São Paulo (Furlanetto et al., 1983). Foram encontradas 62,75% de amostras contaminadas por essa mesma bactéria na cidade de Ouro Preto (Nascimento et al., 1985). Alguns autores acreditam que este elevado número de bactérias do gênero *Staphylococcus*, são decorrentes das más condições higiênicas do leite cru destinado à produção do queijo tipo "Minas-Frescal" (Nascimento et al., 1985; Santos et al., 1981; Wilson, 1977).

Quanto a determinação de coliformes totais, sem padrão para este produto na legislação, pode ser verificada a presença deste grupo de microrganismos nas amostras ns. 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 12 e 13, isto é, em onze (84,6%) das treze (100%) amostras analisadas.

Com relação a determinação de coliformes fecais, nove (69,2%) das treze amostras analisadas (100%) apresentaram e confirmaram *E. coli*, entretanto só seis (66,7%) dessas nove (100%) amostras ns. 1, 3, 5, 6, 8 e 13 estavam em desacordo com o padrão estabelecido na legislação brasileira, podendo ser então classificadas, por essa mesma legislação, como "produtos inaceitáveis para o consumo direto". Algumas pesquisas similares já demonstraram altos resultados para estes microrganismos (Carvalho et al., 1981; Silva, 1980).

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

Já com relação a presença de *Salmonella* sp, excetuando-se a amostra n. 13 (7,7%), que se

apresentou em desacordo com o padrão da legislação federal, sendo então classificada como "produto potencialmente capaz de causar toxinfecção alimentar" e portanto "produto impróprio para o consumo", todas as outras doze (92,3%) não apresentaram e nem confirmaram *Salmonella* sp.

#### CONCLUSÃO

Os resultados obtidos demonstraram enfim, que das treze amostras analisadas (100%) onze (84,6%) situaram-se fora de um ou mais dos padrões microbiológicos vigentes, sendo que tais achados sugerem a qualidade inadequada das matérias primas e/ou condições impróprias de processamento e estocagem.

#### ABSTRACT

Thirteen samples of "Minas Frescal" cheeses (100%) were submitted to microbiological analysis; all samples were got from a fair in the region of São José do Rio Preto-SP. The results showed that eleven (84.6%) of the thirteen analysed samples (100%) set out of present microbiological standards. These results suggest an inadequate quality of raw material and/or inappropriate conditions of processing and storage.

Tabela 1 - Representação dos resultados obtidos após as diferentes análises microbiológicas.

Queijo Minas Frescal	<i>Staphylococcus aureus</i> (UFC/g)	Coliformes totais (NMP/g)	Coliformes fecais (NMP/g)	<i>Escherichia coli</i> (confirmativo)	<i>Salmonella</i> sp (-/+)
1	$7,0 \times 10^3$	> 1100	1100	+	-
2	$1,4 \times 10^4$	> 1100	9	+	-
3	$2,2 \times 10^4$	> 1100	1100	+	-
4	$7,0 \times 10^6$	> 1100	23	+	-
5	$8,2 \times 10^5$	> 1100	> 1100	+	-
6	$7,2 \times 10^6$	> 1100	> 1100	+	-
7	$5,0 \times 10^2$	43	43	+	-
8	$1,2 \times 10^6$	> 1100	> 1100	+	-
9	$1,0 \times 10^4$	> 1100	< 3	-	-
10	$1,0 \times 10^4$	< 3	< 3	-	-
11	$2,0 \times 10^2$	< 3	< 3	-	-
12	$1,9 \times 10^3$	> 1100	< 3	-	-
13	$3,3 \times 10^6$	> 1100	> 1100	+	+
Variação	$2,0 \times 10^2$	< 3	< 3	-	-
a		a	a	a	a
	$7,2 \times 10^6$	> 1100	> 1100	+	+
Padrão Federal (Brasil, 1987)	máximo $10^3$ /g		máximo $10^3$ /g		ausência em 25 g

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BEHMER, M.L.A. *Tecnologia do leite*. 13a. ed., São Paulo, Nobel, 1984, p. 155-156.

Brasil. Ministério da Agricultura. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. *Métodos analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes*. I. Métodos microbiológicos. Brasília, 1981.

Brasil. Leis, decretos, etc. Portaria nº. 001 de 28 de janeiro de 1987. *Diário Oficial*, Brasília, 25 de fevereiro de 1987. Aprova padrões microbiológicos para alimentos.

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

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

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

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

HOFFMANN, F.L.; Garcia-Cruz, C.H.; Vinturim, T.M. & Possebon, A. Qualidade microbiológica de queijo tipo "Minas Frescal" e queijos

condimentados comercializados na região de São José do Rio Preto-SP. *Anais do XII Congresso Nacional de Laticínios* (Instituto de Laticínios Cândido Tostes), p. 61-65, 1994b.

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

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

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

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

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

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

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

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

## ESTUDO SOBRE RICOTA ELABORADA COM LEITE DE CABRA

A study into ricotta cheese produced from goat's milk

Ismael Antonio Bonassi<sup>1</sup>  
Roberto de Oliveira Roça<sup>1</sup>  
José Santo Goldoni<sup>1</sup>

## RESUMO

O objetivo do trabalho foi de verificar o rendimento, característica físico-química e composição de ricota elaborada com leite de cabra comparativamente à fabricada com leite de vaca. Foi utilizado soro resultante da fabricação de queijos tipo Minas prensado elaborado com leite de vaca e de cabra. Constatou-se que o rendimento em ricota para o leite de cabra foi inferior ao de vaca. As ricotas obtidas de soro de leite de cabra apresentaram menor valor de pH e maior de acidez titulável comparativamente às ricotas elaboradas com soro de leite de vaca. A composição química da ricota de leite de cabra foi similar ao de vaca.

Palavras-chave: Ricota, leite de cabra.

## 1. INTRODUÇÃO

A ricota é de origem italiana, do sul da Itália, região costeira do mar mediterrâneo, que se caracteriza por alto teor de umidade, ao redor de 70% (Furtado & Neto, 1984). Trata-se basicamente de um precipitado das proteínas lactoalbumina e lactoglobulina, que são os principais componentes proteicos do soro, e não são coaguláveis pelo coalho (Emaldi, 1987 e Mincione et al, 1983). É conhecida também como queijo do soro ou queijo de albumina (Addeo & Coppola, 1983). Estas proteínas são facilmente desnaturadas e precipitadas pelo calor sob influência de acidificação, o que constitui o princípio básico da fabricação da ricota. Segundo Furtado & Neto (1984) o rendimento médio da fabricação é de cerca de 4 a 5%, sendo um produto de pouca durabilidade, quando na forma fresca. Em sua elaboração pode-se acrescentar leite integral ou desnatado ao soro, com a finalidade de aumentar o rendimento e para aprisionar as partículas de coalhada aglomeradas em unidades maiores, com isto melhorando-se também a textura e formando-se grãos uniformes.

Trata-se de um produto macio, cremoso, com consistência delicada bem aceito para consumo direto ou para utilização em culinária (Furtado & Neto, 1984). Pelo seu baixo teor de gordura e alta digestibilidade é considerado um produto leve e dietético.

Segundo Prato (1992) a ricota propriamente dita, não é um queijo, mas um produto lácteo obtido pelo aquecimento do soro, resíduo da fabricação do queijo. O nome ricota deriva do

fato da proteína do leite sofrer um novo aquecimento, o nome deriva da palavra latina "recotus" ou seja aquecido duas vezes. Considera-se como primeiro aquecimento o realizado no tanque para a fabricação do queijo propriamente dito, e o segundo quando se aquece o soro residual para produzir especificamente a ricota. É fabricada principalmente com leite de ovelha, vaca e búfala (Mincione et al, 1983).

Ilardi (1980) salienta que a ricota é um produto usado principalmente na parte Sul e Central da Itália. É fabricada pelo aquecimento do soro visando coagular as proteínas. O soro é usualmente de leite de vaca ou ovelha, sendo raramente usado o leite de cabra.

Cossedu et al (1997) examinaram amostras de ricotas frescas do ponto de vista microbiológico. Concluíram que para aumentar a vida de prateleira da ricota fresca é necessário introduzir outros tipos de inibidores microbianos, antes do armazenamento refrigerado.

Embora tenha-se encontrado diversos trabalhos referentes à ricota, isto não ocorreu em relação à ricota efetuada com leite de cabra e especificamente em comparação à elaborada com leite de vaca. Tem-se conhecimento de difusão de técnica de elaboração de ricota com leite de cabra realizada pela EMBRAPA (s.d.), no Centro Nacional de Pesquisa de Caprinos (CNPQ) em Sobral (CE), cuja técnica está descrita em Albuquerque & Castro (1996). O objetivo deste trabalho foi verificar o rendimento e composição de ricota elaborada com leite de cabra comparativamente à fabricada com leite de vaca.

<sup>1</sup> Departamento de Gestão e Tecnologia Agroindustrial da Faculdade de Ciências Agrônomicas - Campus de Botucatu - UNESP, Caixa Postal 237, CEP. 18603-970 Botucatu - SP.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

O soro resultante da fabricação dos queijos tipo Minas prensado elaborados com 100% de leite de vaca e 100% de leite de cabra foram utilizados para elaboração de ricota de vaca (Tratamento 1 - T<sub>1</sub>) e de ricota de cabra (Tratamento 2 - T<sub>2</sub>). O processo de fabricação obedeceu a sequência indicada em Furtado & Neto (1984). O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com 4 repetições, sendo os resultados analisados através da análise de variância (ANOVA), conforme Snedecor & Cochran (1978).

Nas ricotas obtidas foi efetuado o cálculo de rendimento (m/m . 100) e efetuadas análises de pH (Atherton & Newlander, 1981), acidez titulável (A.O.A.C., 1984), umidade e extrato seco total (A.O.A.C., 1984), gordura pelo método de Van Gulik (Schmidt-Hebbel, 1956), proteína total (A.O.A.C., 1984 e Bailey, 1967), cinzas (A.O.A.C., 1984), nitrogênio solúvel (Kosikowski, 1978), e nitrogênio não proteico (Grippon et al, 1975). Foi também efetuado os cálculos na matéria seca da ricota.

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados das avaliações efetuadas são apresentados na Tabela 1. Nesta Tabela constam os valores médios do rendimento do processo

(g/100g), pH, acidez titulável, (g de ácido láctico/100g de ricota integral), umidade (g/100g de ricota integral), extrato seco total (g/100g de ricota integral), gordura (g/100g de ricota integral), cinzas (g/100g de ricota integral), proteína total (g/100g de ricota integral), nitrogênio solúvel (g/100g de ricota integral), nitrogênio não proteico (g/100g de ricota integral), acidez no extrato seco (g/100g calculada na matéria seca), gordura no extrato seco (g/100g calculada na matéria seca), cinzas no extrato seco (g/100g calculada na matéria seca), proteína no extrato seco (g/100g calculada na matéria seca), nitrogênio solúvel no extrato seco (g/100g calculada na matéria seca), nitrogênio não proteico no extrato seco (g/100g calculada na matéria seca).

Quanto ao rendimento (Tabela 1), o leite de cabra apresentou comportamento estatisticamente inferior ao de vaca (vaca = 5,95%, cabra = 3,99%). Conforme Prato (1992), a tecnologia tradicional da ricota baseia-se no princípio da coagulação a quente da lactalbumina em ambiente ácido. Como o soro que serve para sua preparação é obtido da separação da coalhada durante a fase de produção do queijo a composição química do soro varia em função do leite de origem e do tipo de queijo do qual deriva. Segundo Luquet (1990) as frações nitrogenadas do leite de cabra se repartem diferentemente ao de vaca, pois

Tabela 1 - Valor médio das avaliações efetuadas.

	Ricota elaborada com leite de		Média Geral	F	CV
	Vaca	Cabra			
Rendimento	5,95a <sup>(1)</sup>	3,99b <sup>(1)</sup>	4,97	15,65*	11,02
Ph	6,06a	5,71b	5,94	4,42	2,90
Acidez	1,50a	1,80a	1,66	2,12	10,63
Umidade	72,74a	72,10a	72,42	1,18	6,43
Extrato Seco Total	27,26a	27,90a	27,58	1,18	16,88
Gordura	12,27a	12,63a	12,44	1,72	12,20
Proteína Total	10,64a	10,53a	10,58	0,33	21,52
Cinzas	1,82a	2,14a	2,03	2,13	19,10
Nitrogênio Solúvel (NS)	0,10a	0,09a	0,094	0,28	33,70
Nitrogênio Não Proteico (NNP)	0,063a	0,063a	0,063	0,27	24,44
Acidez no Extrato Seco	5,5a	6,4a	6,11	14,44	7,75
Gordura no Extrato Seco	45,20a	45,64a	45,42	0,09	10,85
Proteína no Extrato Seco	39,09a	38,05a	38,57	1,01	11,77
Cinzas no Extrato Seco	6,79a	7,67a	7,23	5,34	8,07
NS no Extrato Seco	0,38a	0,32a	0,35	0,12	40,20
NNP no Extrato Seco	0,22a	0,24a	0,23	0,31	29,59

<sup>(1)</sup> Médias seguidas por letras distintas diferem entre si ao nível de significância de 5% de probabilidade (P<0,05).

apresenta cerca de 4 vezes menos de a lactoalbumina e 3 vezes menos soro albumina em relação ao leite de vaca, embora apresente teor maior de lactoglobulina. Este fato deve ter propiciado menor rendimento em ricota para o leite de cabra. O rendimento para a ricota de leite de vaca está dentro dos valores citados pela literatura (Furtado & Neto, 1984).

No que se refere às características físico-químicas relativas a acidez (pH e % de ácido láctico), verificou-se diferença entre as ricotas elaboradas com soro de leite de cabra e de vaca. As ricotas obtidas de soro de leite de cabra apresentaram menor valor de pH e maior de acidez titulável comparativamente às ricotas elaboradas com soro de leite de vaca. Esta diferença, relativa a acidez titulável, foi melhor observada ao se efetuar os cálculos em relação a matéria seca do queijo. Neste particular Andrade (1981), Andrade et al (1982), Damasio (1984) e Duitschaeffer (1978) observaram maior desenvolvimento de acidez em relação ao de vaca, em produtos de leite fermentados.

Para a composição química da ricota pode-se constatar que praticamente não houve diferença entre as ricotas elaboradas com soro de leite de vaca e de cabra. Segundo Furtado & Neto (1984) o teor de umidade da ricota no Brasil situa-se entre 70-73% e assim sendo, encontrou-se valores dentro desta faixa.

Não se observou diferença no teor de gordura entre as ricotas elaboradas com leite de vaca e de cabra. Entretanto os valores encontrados situam-se pouco acima da faixa observada por Prato (1982) em ricota do comércio com leite de vaca (4,32% a 10,20%). Embora este autor cite valores mais elevados para ricota com leite de búfala (17,25%) e de ovelha (18,45% a 22,19%).

Para proteína total também não se observou diferença entre as ricotas elaboradas com o leite das duas espécies e os valores encontrados são bem próximos (vaca = 10,64%, cabra = 10,53%). Na literatura encontrou-se valores desde 9,80% até 18,72% para ricota com leite de vaca (Prato, 1982). Em relação aos valores para nitrogênio solúvel e nitrogênio não proteico não se constatou diferença entre os produtos de vaca e de cabra, e não se encontrou dados na literatura consultada para comparação.

No que se refere a cinzas o teor encontrado nas ricotas elaboradas com soro de leite de cabra apresentaram valores ligeiramente maior que as de vaca (cabra = 2,14%, vaca = 1,82%). Este diferença foi mais acentuada ao se calcular em relação à matéria seca (vaca = 6,79%, cabra = 7,67%), porém sem diferença estatística. Não se encontrou explicação plausível para esta diferença, pois conforme relatado por Mens (1985) a composição

mineral do leite de cabra, pouco difere em relação ao leite de vaca.

## 4. CONCLUSÃO

- Dos resultados experimentais obtidos deste trabalho constatou-se que:
  - O rendimento em ricota para o leite de cabra foi inferior ao de vaca.
  - As ricotas obtidas de soro de leite de cabra apresentaram menor valor de pH e maior de acidez titulável, comparativamente as ricotas elaboradas com soro de leite de vaca.
  - A composição química da ricota de leite de cabra foi similar ao de leite de vaca.

## 5. SUMMARY

The objective of this work was to compare yield, chemico-physical characteristics and chemical composition of goat's milk ricotta to those from cow's milk. The resulting whey from Minas cheese production from cow and goat's milk has been used. A lower ricotta yield has been reported for goat's milk. The ricotta cheese from goat's milk whey has presented lower pH and higher titratable acidity than that from cow's milk whey. Chemical composition of both milk ricottas has been similar to that of cow's milk.

Key words: ricotta, goat's milk.

## 6. AGRADECIMENTOS

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pelos auxílios concedidos.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADDEO, F.; COPPOLA, A. S. Aspetti tecnologici e microbiologici della trasformazione del latte di bufala in Mozzarella e Ricotta. *Latte*. v. 8, n. 10, p. 706-709, 711-715, 717-723, 1983.

ALBUQUERQUE, L.A.; CASTRO, M.C.D. *Do leite ao queijo de cabra*. Juiz de Fora. EPAMIG, 1996, 162 p.

ANDRADE, N.J. *Comportamento de Streptococcus lactis, Streptococcus cremoris e Streptococcus lactis diacetylactis em leite de vaca e de cabra tratados termicamente*. Viçosa: UFV, 1981. 76 p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Viçosa, 1981.

ANDRADE, N.J., COELHO, D.T., FERRERA, C.L.L., PEREIRA, A.S. Produção de ácido láctico

por *S. lactis*, *S. diacetilactis* e *S. cremoris* em leite de vaca e de cabra tratados termicamente. Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes, v. 37, n. 219, p. 7-12, 1982.

A.O.A.C. ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. *Official methods of analyses*. 11 ed. Washington, 1984, 1141 p.

ATHERTON, H.V., NEWLANDER, I.A. *Chemistry and testing of dairy products*, 4.ed. Wetsport, Av. 5, 396 p, 1981.

BAILEY, J.L. *Miscellaneous analytical methods*. In: \_\_\_\_\_. *Techniques in protein chemistry*. 2 ed. Amsterdam. Elsevier, 1967, cap. 11, p. 340-52.

COSEDU, A. M.; DE SANTIS, E. P. L.; MAZZETTE, R.; FRESI, A.; LAI, G. Ricotta bovina fresca confezionata: caratteristiche microbiologiche di interesse igienico-sanitario. *Latte*. v. 22, n. 7, p. 76-81, 1997.

DAMASIO, M.H. *Caracterização físico-química e sensorial do leite de cabra e seus produtos: coalhada e queijo Minas frescal*. Campinas: UNICAMP, 1984. 164p. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, UNICAMP, 1984.

DUITSCHAEVER, C.L. Yoghurt from goat milk. *Cultured Dairy Prod. J.*, v. 13, n. 14, p. 20-23, 1978.

EMALDI, G. G. Formaggi di capra. *Scienza e Tecnica - Lattiero Casearia*. v. 38, n. 1, p. 46-53, 1987.

EMBRAPA. Faça queijo com leite de cabra. Programa de apoio ao pequeno produtor rural. Sobral (CE). Catálogo informativo, s.d.

FURTADO, M.M.; NETO, J.P. de M.L. *Tecnologia de queijos - manual técnico para a*

*produção industrial de queijos*. 1 ed., São Paulo: Dipemar, 1984. 118 p.

GRIPPON, J.C.; DESMAZEAUD, M.J.; LEBARS, D.; BERGERE, J.L. Etude du role des microorganismes et des enzymes au cours de la maturation des fromages - II. Influence de la pression commerciale. *Lait*, v. 55, n. 548, p. 502-516, 1975.

ILARDI, S. La ricotta: un prodotto da disciplinare. *Revista della Società Italiana di Scienze dell'alimentazione*. v. 9, n. 6, p. 441-444, 1980.

KOSIKOWSKI, F. *Cheese and fermented milk foods*. 2a. ed. Brooktondale, Kosikowski, 1978. 711 p.

LUQUET, F.M. *Lait et produits laitiers. Vache, brebis, chèvre. Les produits laitiers - transformations et technologies*. Paris, Lavoisier, v. 2, 637 p, 1990.

MENS, P. Le lait de chèvre. Propriétés physico-chimiques nutritionnelles et chimiques. In: LUQUET, F.M. *Lait et produits laitiers*. Paris, tec. Doc. Lavoisier, 1985, v. 1, parte 3, cap. 1, p. 349-368.

MINCIONE, B.; MUSSO, S. S.; MATTEO, M. Di; COPPOLA, S. FRANCISCIS, G. De. La ricotta di bufala: caratteristiche, chimiche, microbiologiche e nutritive. *Latte*. v. 8, n. 11, p. 786-792, 1983.

PRATO, O. S. del Tecnologia - La ricotta. *Latte*, v. 17, n. 8, p. 708-719, 1992.

SCHMIDT-HEBBEL, H. *Química y tecnología de los alimentos*. Santiago. Editorial Salesiana, 1956, 319 p.

SNEDECOR, G.W., COCHRAN, W.G. *Statistical methods*. 6 ed. Ames: Iowa State University Press, 1978. 583 p.

## XVIII CONGRESSO NACIONAL DE LATICÍNIOS

TEMA CENTRAL  
Produtos Lácteos como Alimentos Funcionais

16 a 20 de Julho de 2001

## UTILIZAÇÃO DE PROTEÍNAS DO LEITE COMO INGREDIENTE

Prof. Marco Antônio Moreira Furtado<sup>1</sup>

### 1. INTRODUÇÃO

Mais que um ingrediente nutricional, as proteínas do leite, quando isoladas, constituem produtos de excelentes propriedades funcionais. O início da comercialização destes produtos ocorreu em 1970, com um pequeno número de produtos comerciais, existindo hoje no mercado mundial centenas de produtos à base de proteínas lácteas disponíveis (LAWSON, 1994).

As fontes mais tradicionais de proteína láctea usadas como ingredientes na indústria de alimentos são o leite desnatado e o soro de queijo (ambos em pó). Entretanto, vários produtos à base de proteínas lácteas podem ser obtidos, incluindo diferentes tipos de caseínas e caseinatos, concentrados e isolados protéicos de soro e proteínas totais do leite, hidrolisados etc. (KINSELLA, 1984; MORR, 1984; VUILLEMARD et al., 1989; LAWSON, 1994). O leite desnatado é o ponto de partida para a produção da grande maioria destes produtos, conforme ilustrado na Figura 1 a seguir.

Segundo MORR (1984), as caseínas e as proteínas do soro, quando utilizadas como ingrediente protéico em alimentos, atendem às principais características (ou requerimentos) desejáveis de um ingrediente para este fim, assim resumidas:

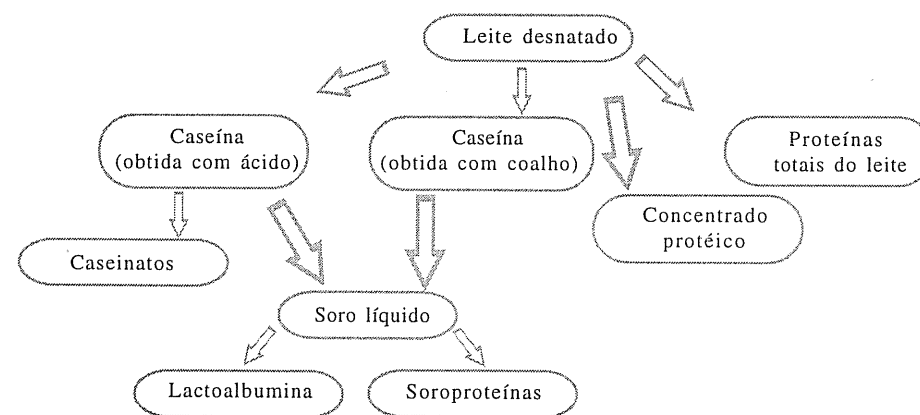
- (i) Ausência de fatores tóxicos;
- (ii) Mínima presença de odores e *off-flavors*;
- (iii) Alto conteúdo protéico;
- (iv) Mínimo teor de lipídeos;
- (v) Alto valor nutricional;
- (vi) Compatibilidade com outros ingredientes e processamento; e
- (vii) prontamente disponível e economicamente viável.

Também são substâncias reconhecidas como totalmente seguras (GRAS) para incorporação em alimentos formulados desde que, naturalmente, em sua produção sejam obedecidos os princípios de boas práticas de manufatura.

### 2. CO-PRECIPITADOS

Os produtos conhecidos como co-precipitados são aqueles em que foram reunidas, mediante precipitação em conjunto, as principais proteínas do leite.

Segundo MULLER (1971), o maior desenvolvimento destes produtos se deu a partir da década de 60, quando várias tecnologias de produção foram implementadas e seu uso bastante difundido. O desenvolvimento inicial, produção e o uso de co-precipitados nesta época ocorreram



Fonte: Adaptado de GIESE (1994).

Figura 1 - Fluxograma de produção de produtos lácteos protéicos

<sup>1</sup> Professor do Departamento de Alimentos e Toxicologia / Faculdade de Farmácia e Bioquímica / UFJF CEP 36036-330 - Campus Universitário - Juiz de Fora - MG. - E-mail: mfurtado@fbio.ufjf.br

quase que de forma simultânea nos EUA e na Rússia. Entretanto, a primeira organização a comercializar o produto foi a *CSIRO - Commonwealth Scientific and Industrial Research Organization*, na Austrália.

Segundo SOUTHWARD e GOLDMAN (1975), seu desenvolvimento foi motivado por diversos fatores, destacando-se:

- Aumento da produção de proteínas obtidas do leite;
- Valorização de uma série de propriedades funcionais dos alimentos; e
- Incremento da qualidade nutricional da proteína do leite, em virtude da combinação das proteínas do soro.

## 2.1. Tecnologias de produção

Vários são os procedimentos utilizados na produção de co-precipitados de proteínas do leite, sendo que as variações observadas entre as metodologias ocorrem principalmente em virtude das características desejadas no produto final, definidas pelo seu campo de aplicação.

As etapas que envolvem o processamento industrial dos principais tipos de co-precipitados são apresentadas na Figura 2. Elas dizem respeito à produção de co-precipitados na forma convencional, onde o produto final é granular (insolúvel) ou desidratado, para uso em forma de dispersão.

O uso de processos de ultrafiltração para se obter tipos mais comuns de co-precipitados não é citado com frequência na literatura. Sua aplicação maior está direcionada para a produção de isolados de proteína de leite destinados a usos mais nobres, como é o caso de formulados para dietas médicas especiais, suplementação nutricional, nutrição desportiva etc., existindo vários destes produtos no mercado atual. Estes processos envolvendo a ultrafiltração para isolamento de proteínas do leite

na produção dos co-precipitados ou de proteínas totais do leite constituem tecnologias relativamente recentes, sendo objeto de patente pelas indústrias produtoras (MULVIHILL, 1989).

Em trabalho recente, FURTADO (1999) descreveu a produção e a caracterização de hidrolisados lácteos protéicos obtidos a partir de dois tipos de co-precipitados (utilizando cálcio ou ácido). Estes foram produzidos para estudos de hidrólise enzimática e caracterização de seu perfil de peptídeos e propriedades funcionais. Os resultados obtidos demonstraram haver influência do tipo de co-precipitado no perfil do produto, em razão do grau de hidrólise aplicado. Na determinação das propriedades funcionais foi possível observar aumento na solubilidade, em virtude do grau de hidrólise aplicado, especialmente naqueles obtidos de co-precipitados com cálcio. Na maioria das outras propriedades avaliadas foi possível observar maior influência do pH e de aspectos relacionados à composição dos hidrolisados que propriamente do grau de hidrólise aplicado.

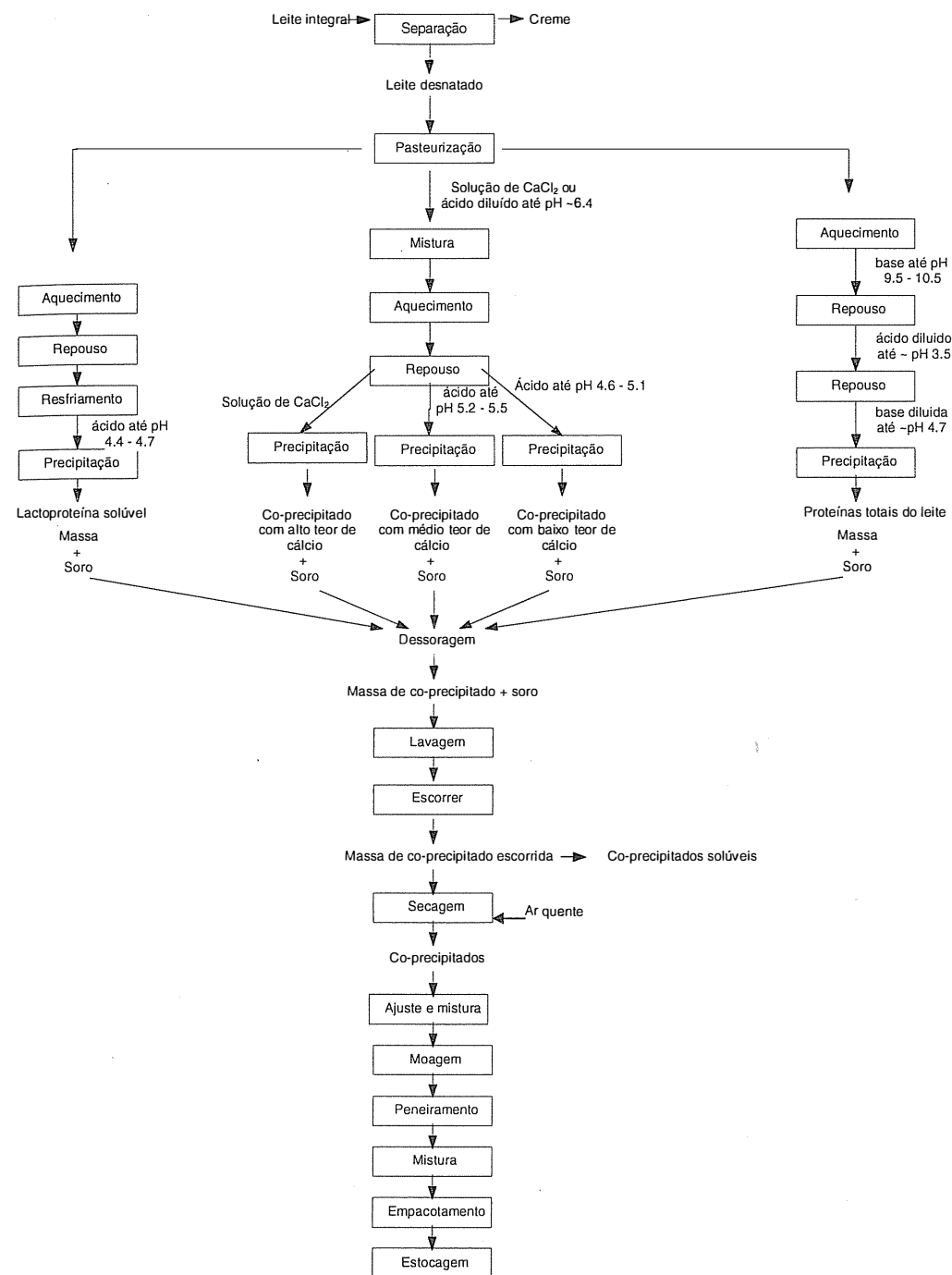
## 2.2. Utilização na indústria alimentícia

Existem basicamente hoje no mercado dois grupos ou tipos de co-precipitados (também chamados de *Total Milk Protein*). O primeiro, produzido com o emprego de técnicas tradicionais, tem seu uso direcionado para a indústria de alimentos como ingrediente funcional, principalmente em produtos lácteos, bebidas, panificação, embutidos etc. O segundo, produzido por meio de tecnologias mais recentes como a ultrafiltração, tem seu uso direcionado principalmente para outro segmento alimentar, sendo aplicado em dietas médicas especiais, nutrição desportiva, suplementação etc. Um resumo de diversas aplicações dos co-precipitados na indústria de alimentos é apresentado no Quadro 1.

Quadro 1 - Aplicações de co-precipitados na indústria de alimentos

Produto	% Aplicada	Propósito/Efeito	Tipo de co-precipitado
Biscoitos	6,5 a 16,4	Nutricional, textura, aparência	Com baixos e altos teores de cálcio
Coberturas	63,4	Cor, brilho	Solúvel, com alto teor de cálcio
Queijos processados	4 a 6	Emulsificante	Solúvel, com alto teor de cálcio
Bebidas lácteas fermentadas	5	Aumento do valor biológico	—
Leite com baixo teor de gordura	1	Nutricional	—
Produtos lácteos fundidos	5 a 10	Textura	—

Fonte: Adaptado de SOUTHWARD (1989).



Fonte: MULVIHILL (1989)

Figura 2 - Diagrama para produção de co-precipitados.

SANCOR (1997) recomenda a utilização de seu produto co-precipitado na indústria de laticínios como estabilizante das proteínas de leite na fabricação de iogurtes, sobremesas, flans, leites aromatizados, *milk shake*, doce de leite, queijo em pó e queijos processados. Recomenda sua aplicação também em áreas diferentes da indústria de laticínios, como em embutidos, maioneses, cremes batidos etc. Cita ainda sua aplicação na indústria pesqueira, como anticongelante.

### 3. HIDROLISADOS PROTÉICOS

#### 3.1. Principais produtos e aplicações

As proteínas podem ser hidrolisadas por intermédio de tratamento ácido, alcalino ou enzimático para produção de peptídios e, eventualmente, aminoácidos. Na produção de hidrolisados destinados à nutrição, a hidrólise enzimática é preferencial aos tratamentos químicos, pelo fato de possibilitar a produção de hidrolisados com perfil de peptídios mais bem definido; somado ao fato de que os tratamentos químicos podem ainda causar perdas nutricionais pela destruição e transformação de alguns aminoácidos essenciais.

Segundo MAHMOUD (1994), os hidrolisados protéicos utilizados em nutrição podem ser classificados de acordo com o seu grau de hidrólise (parcial ou total) ou em três categorias: (i) Fórmulas para crianças com alergia à proteína (intacta) ou problemas congênitos de metabolismo; (ii) Fórmulas especializadas para nutrição de adultos com função gastrointestinal prejudicada ou doenças específicas em alguns órgãos (rins, fígado); (iii) Suplementos nutricionais para fornecimento de nitrogênio em forma facilmente assimilável.

Segundo LAHL e BRAUN (1994), além da melhoria das características nutricionais, pelo fato de possibilitar maior oferta (biodisponibilidade)

de peptídios e aminoácidos, a hidrólise protéica é também realizada para incrementar as propriedades funcionais em alimentos processados; prevenir interações indesejáveis; e também para remover compostos inibidores, tóxicos, odores ou promotores de off flavors. Assim, todos os produtos derivados de proteínas lácteas (incluindo vários tipos de caseínas e caseinatos, concentrados e isolados protéicos de soro e de proteínas totais do leite, co-precipitados etc.) podem ser tratados enzimaticamente para produção de seus respectivos hidrolisados, visando principalmente à melhoria de algumas propriedades funcionais.

### 4. PROPRIEDADES FUNCIONAIS

#### 4.1. Conceitos e definições

Segundo POUR-EL (1981), funcionalidade ou propriedade funcional é definida como qualquer propriedade de uma substância, além da nutricional, que afeta sua utilização. Estas podem ser agrupadas, conforme Quadro 2, a seguir.

#### 4.2. Aplicações em produtos lácteos protéicos

Segundo VUILLEMARD et al. (1989), em razão de sua estrutura, as caseínas apresentam em seu estado nativo propriedades funcionais de superfície bastante interessantes, atuando como agente emulsificante e espumante. Já as soroproteínas destacam-se por sua boa solubilidade e habilidade na formação de géis após tratamento térmico. As propriedades funcionais das proteínas lácteas estão intimamente relacionadas com suas características físico-químicas (peso molecular, distribuição e composição de aminoácidos); aspectos do meio em que se encontram (pH, temperatura, força iônica, concentração) além

Quadro 2 - Principais classes de propriedades funcionais em alimentos

Propriedades e sua definição	Alguns termos específicos
Hidrofílica: depende da afinidade da proteína pela água e por outros solventes polares.	Solubilidade, capacidade de hidratação e retenção de água etc.
Interfásica: definida pela habilidade de as moléculas de proteína formarem filmes entre duas fases imiscíveis.	Emulsificação, formação de espumas, retenção de gordura etc.
Intermolecular: refere-se à habilidade de as moléculas de proteína formarem ligações cruzadas entre si ou com outros componentes.	Viscosidade, formação de fibras e filmes, geleificação etc.
Sensorial: que se manifesta por intermédio dos órgãos dos sentidos.	Cor, sabor, aroma etc.

Fonte: Adaptado de POUR-EL (1981).

de aspectos ligados ao processamento (aquecimento, bombeamento, secagem); e modificações químicas, físicas ou enzimáticas).

MORR (1984) acrescenta que as propriedades funcionais dos produtos à base de proteínas lácteas são amplamente determinadas pelas suas propriedades químicas e físico-químicas, enfatizando que estas propriedades básicas são fortemente influenciadas pela composição da matéria-prima utilizada na produção destes produtos, assim como o processo empregado para seu isolamento.

Logo, além das características próprias de qualidade da matéria-prima empregada, os aspectos relacionados ao processamento são determinantes na definição das propriedades funcionais do produto protéico lácteo. Isto pode ser exemplificado pelas mudanças ocasionadas nas propriedades químicas e físico-químicas das proteínas lácteas submetidas a diversos tratamentos (Quadro 3).

Segundo KINSELLA (1984), a concentração de proteínas do leite em diferentes produtos

de laticínios, necessária para alcançar determinada funcionalidade, é bastante variável, oscilando entre 3,5 e 30%. Entretanto, como ingrediente funcional em formulações alimentícias, a quantidade usualmente empregada varia entre 0,5 e 10%. Logo, ao discutir a funcionalidade das proteínas lácteas, deve-se observar esta diferenciação quanto ao produto aplicado.

Os principais produtos lácteos protéicos têm uso bastante diversificado como ingrediente funcional, com aplicações em quase todos os segmentos da indústria alimentícia. O uso das proteínas lácteas como ingrediente em alimentos pode ser mais bem resumido com exemplos de algumas propriedades funcionais exploradas e os respectivos produtos lácteos protéicos empregados para aquele fim específico. Assim, os produtos lácteos protéicos obtidos das caseínas e soroproteínas têm seu uso destacado na indústria alimentícia, especialmente nos segmentos de panificação, laticínios, bebidas, sobremesas, massas, confeitaria e produtos cárneos (MULVIHILL, 1992), conforme ilustrado no Quadro 4.

Quadro 3 - Algumas alterações das propriedades químicas e físico-químicas de proteínas lácteas em razão do processamento

Processamento	Consequências
Aquecimento	Interações entre soroproteínas e caseínas; Desnaturação de soroproteínas; Reação de Maillard entre proteínas e lactose; e Ativação de grupos sulfidríla das soroproteínas.
Tratamento ácido	Solubilização de fosfato coloidal das micelas de caseína; Diminuição da estabilidade térmica das proteínas; e Precipitação das caseínas e desnaturação das soroproteínas.
Adição de íons Ca++	Alterações na composição e estrutura da micela de caseína; Diminuição da estabilidade térmica; e Agregação das proteínas quando aquecidas

Fonte: Adaptado de MORR (1984).

Quadro 4 - Resumo de algumas propriedades funcionais exploradas em diversos grupos de alimentos com o uso de produtos lácteos protéicos

Propriedade explorada	Aplicação	Produto lácteo protéico
Solubilidade e dispersabilidade	Bebidas, pós para misturas instantâneas (sopas, bebidas etc.).	Concentrados e isolados de soroproteínas, caseinatos e co-precipitados de cálcio.
Viscosidade	Sopas, molhos, bebidas, iogurtes, bebidas lácteas.	Caseínas, caseinatos, leite em pó, concentrados de soroproteínas.
Retenção de água	Produtos cárneos, iogurte.	Concentrados de soroproteínas, caseínas e co-precipitados.
Geleificação	Produtos cárneos e de panificação, sobremesas.	Concentrados de soroproteínas.
Emulsificação	Embutidos, molhos.	Caseinatos, concentrados de soroproteínas.
Formação de espuma	Confeitaria, sobremesas aeradas, sorvetes.	Co-precipitados, <i>Total Milk Protein</i> , concentrados de soroproteínas.
Sensorial	Produtos de panificação e confeitaria, sobremesas.	Leite em pó integral e desnatado.

Fonte: Adaptado de LAWSON (1994) e GIESE (1994).

# BIBLIOGRAFIA CITADA

FURTADO, M. A. M. *Caracterização de hidrolisados de proteína láctea co-precipitada*. Viçosa:UFV, 1999, 129p. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos).

GIESE, J. Proteins as Ingredients: types, functions, applications. *Food Technology*, v. 48, p. 50-60, 1994.

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

LAHL, W. J. BRAUN, S. D. Enzymatic production of protein hydrolysates for food use. *Food Technology*, v. 48, p. 68-71, 1994.

LAWSON, M. A. Milk proteins as food ingredients. *Food Technology*, v. 48, p. 101, 1994.

MAHMOUD, M. I. Physicochemical and functional properties of protein hydrolysates in nutritional products. *Food Technology*, v. 48, p. 89-95, 1994.

MORR, C. V. Production and use of milk proteins in food. *Food Technology*, v. 38, p. 39-48, 1984.

MULLER, L. L. Manufacture and uses of casein and co-precipitate. *Dairy Science Abstracts*, v. 33, p. 659-674, 1971.

MULVIHILL, D. M. Caseins and caseinates: manufacture. In: FOX, P.F.(Ed.). *Developments in dairy chemistry. IV. Functional milk proteins*. London:Elsevier, 1989. p. 97-130.

MULVIHILL, D. M. Production, functional properties and utilization of milk products. In: FOX, P.F.(Ed.). *Advanced dairy chemistry. I. Proteins*. London:Elsevier, 1992. p. 369-405.

POUR-EL, A. Protein functionality: classification, definition, and methodology. In: CHERRY, J.P. (Ed.). *Protein functionality in foods*. Washington DC:ACS, 1981. p. 1-19.

SANCOR COOPERATIVAS UNIDAS. *Proteína hidrolizada de leche*. Buenos Aires, [s.d.] n. p. (Boletín de Especificaciones y Aplicaciones (Código do produto, 4501). (Fax-simile).

SOUTHWARD, C.R., GOLDMAN, A. Co-precipitates: a review. *New Zealand Journal of Dairy Science and Technology*, v. 10, p. 101-112, 1975.

SOUTHWARD, C. R. Uses of caseins and caseinates. In: FOX, P.F. (Ed.). *Developments in dairy chemistry IV. Functional milk proteins*. London:Elsevier, 1989. p. 173-244.

VUILLEMARD, J.C., GAUTHIER, S.F., PAQUIN, P. Les ingrédients à base de protéines laitières: obtention, propriétés et utilisations. *Lait*, v. 69, p. 323-351, 1989.

# QUANTIFICAÇÃO DE <sup>1</sup>PROTEÍNAS DO SORO DE QUEIJO ATRAVÉS DE CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE FASE REVERSA\*

Quantification of Whey Proteins by Reverse Phase Liquid Chromatographic

Abraham D. Giraldo Zuñiga<sup>1</sup>  
Renata C. Ferreira<sup>2</sup>  
Jane S.Reis Coimbra<sup>3</sup>  
Luís A Minim<sup>4</sup>

## RESUMO

Dentre as diferentes metodologias empregadas para quantificar proteínas de leite e de hidrolisados protéicos, destaca-se a cromatografia líquida de alto desempenho pelo seu elevado poder de resolução. No presente trabalho foi desenvolvido um procedimento para a análise das proteínas presentes em maior quantidade no soro de queijo, a-lactoalbumina ( $\alpha$ -la) e b-lactoglobulina ( $\beta$ -lg). O equipamento utilizado foi um cromatógrafo líquido (Shimadzu) controlado via Software (Shimadzu- Class- VP). O eluente foi monitorado usando detector de feixes de diodo (SPD-M10AVP- Shimadzu) a 210 nm. Foi usada uma coluna de fase reversa (CLC ODS-C18) de 250 x 4,6 mm e coluna de guarda (CLCG-ODS) de 10 x 4 mm. Todos os reagentes usados foram de grau analítico, água deionizada e acetonitrila grau cromatográfico. As condições otimizadas foram: fluxo 1 mL/min, pressão 11,76 Mpa, volume da amostra 20  $\mu$ L, solvente A (NaCl 0,15 M, pH 2,5), solvente B (acetonitrila), gradiente: 3 min 36 %B  $\rightarrow$  64%A; 27 min 48%B  $\rightarrow$  52% A; 30 min 0%B  $\rightarrow$  100%A. A técnica desenvolvida foi inicialmente avaliada através da determinação das concentrações de  $\alpha$ -la e  $\beta$ -lg no soro de queijo tipo mussarela in natura obtendo-se 1,12 mg/mL de  $\alpha$ -la e 2,56 mg/mL de  $\beta$ -lg. Estes valores encontram-se dentro da faixa citada por Morr & Há (1993). A metodologia mostrou-se também adequada para a quantificação das proteínas do isolado protéico de soro de queijo, apresentando uma boa eficiência na separação dos picos assim como um tempo de análise relativamente curto.

## 1. INTRODUÇÃO

O soro de queijo é um subproduto da indústria de queijos, de cor amarelo-esverdeada, obtido pela coagulação do leite. O seu sabor, ligeiramente ácido ou doce, e a sua composição dependem do tipo e do processo de fabricação do queijo, respectivamente. A composição do soro é de aproximadamente 93% de água, 5% de lactose, 0,9% de proteínas, 0,3% de gordura, 0,2 % de ácido láctico e pequenas quantidades de vitaminas (Bem-Hassan e Ghaly, 1994).

A presença de proteínas no soro, as quais são compostas por aminoácidos em quantidades equilibradas, torna-o um material adequado para uso na alimentação humana. Embora o soro de queijo concentrado seja empregado comumente na alimentação de animais, pode ser processado industrialmente visando isolar suas proteínas, como a  $\alpha$ -lactoalbumina ( $\alpha$ -la) e a  $\beta$ -lactoglobulina ( $\beta$ -lg) (Renner, 1989; Tosi et al., 1997).

A produção mundial do soro de queijo é de aproximadamente 120 milhões de toneladas anuais (Anualpec, 1999), equivalentes à produção de 720.000 toneladas de proteínas, o que justifica o interesse que elas despertam. O aumento da produção de soro de queijo causa sérios problemas de poluição, quando este é descartado diretamente no solo ou despejado em leitos de rios (Friedman, 1975).

As características nutricionais e funcionais das proteínas do soro de queijo estão relacionadas com a sua estrutura e função biológica. Nas últimas décadas observou-se um crescente interesse pela qualidade nutricional destas proteínas, visando o uso do soro na formulação de alimentos infantis e alimentos dietéticos (De with, 1998).

As duas proteínas presentes em maior quantidade no soro de queijo, a  $\alpha$ -la e a  $\beta$ -lg, são globulares, possuem elevadas propriedades nutricionais, funcionais, fisiológicas e terapêuticas, são eficazes na estabilização de emulsões, têm boa capacidade de retenção de água e são ingredientes

\* Trabalho realizado no laboratório de Processos e Separação/Departamento de Tecnologia de Alimentos (DTA)/UFV.

1 Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos / DTA - UFV.  
2 Estudante de mestrado do DTA/UFV.  
3 Prof, departamento de Tecnologia de Alimentos/UFV.  
4 Prof, departamento de Tecnologia de Alimentos/UFV.

# XVIII CONGRESSO NACIONAL DE LATICÍNIOS



EPAMIG  
CT / ILCT

TEMA CENTRAL

Produtos Lácteos como Alimentos Funcionais

16 a 20 de Julho de 2001

Governo do Estado de Minas Gerais  
Secretaria de Estado de Agricultura, Pecuária e Abastecimento  
Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais  
Centro Tecnológico - Instituto de Laticínios "Cândido Tostes"  
Rua Tenente Freitas, 116 - Bairro Santa Terezinha  
36.045-560 - Juiz de Fora - Minas Gerais - Brasil  
Tel.: (32) 3224-3116 / Telefax: (32) 3224-3113

alimentícios com potencial para substituir outros de maior custo, como, por exemplo, a ovalbumina (Hall e Iglesias, 1997). A vasta aplicabilidade das proteínas do soro de queijo aumenta a motivação para o desenvolvimento de processos de separação e purificação das mesmas para diferentes usos (Grasselli et al., 1997). Torna-se, no entanto, necessário estabelecer técnicas rápidas e precisas para determinação destas proteínas. Dentre as diferentes metodologias empregadas para quantificar proteínas do soro, desnaturadas e de hidrolisado protéico, destaca-se a cromatografia líquida de alta eficiência pelo seu elevado poder de resolução (Recio et al., 1996; Shaw, 1997).

A cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) é o mais importante membro de uma família inteira de técnicas de separação. Em particular, o uso de colunas de fase reversa, mostra-se eficiente na análise e quantificação de proteínas do leite e seus derivados, por apresentar alta resolução em seus cromatogramas (Strange et al., 1992) e também por reduzir o tempo de análise de dias para horas ou minutos. Essa eficiência é dada pelo emprego de resinas com diminutos tamanhos de partícula (de 50 Å até 10 mm) (Araujo, 1999), permitindo assim uma separação efetiva em um tempo de análise curto (Llano et al., 1990).

Mais de 70 % de todas as separações por CLAR usam fase reversa, as quais utilizam fase estacionária não-polar e fase móvel polar. Sendo a superfície das partículas sólida e polar, estas não são úteis na separação de compostos apolares, os quais possuem pouca afinidade pela superfície polar. Para resolver este problema é utilizada a fase reversa. A superfície reativa das partículas é alterada pela reação com compostos apolares, que são quimicamente ligados aos seus grupos polares (Regnier et al., 1980).

Pearce (1983) aplicou CLAE na análise de proteínas de soro de queijo, utilizando uma pequena coluna de fase reversa com um gradiente envolvendo uma solução salina acidificada e acetoneitrila, tendo como resultado a completa resolução da proteína albumina de soro bovino (BSA), mais a resolução das proteínas  $\alpha$ -lactoalbumina ( $\alpha$ -la) e  $\beta$ -lactoglobulina ( $\beta$ -lg) foi incompleta, pois através desta metodologia, não foi obtida uma boa resolução entre as variações genéticas A e B da  $\beta$ -lactoglobulina.

Esta pesquisa contribuiu a trabalhos na área de reaproveitamento de soro de queijo, para a separação das proteínas do soro mediante o uso de sistemas aquosos bifásicos, técnica que tem apresentado bons resultados na separação de  $\alpha$ -lactoalbumina e  $\beta$ -lactoglobulina (Zuñiga, 2000).

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Material

- Padrões: foram utilizadas as proteínas  $\alpha$ -lactoalbumina e  $\beta$ -lactoglobulina (grau eletroforético, SIGMA).
- Soro in natura obtido do laticínios da FUNARBE/UFV.
- Isolado protéico do soro de queijo em pó (BiPro, Davisco Foods).
- Equipamento: cromatografo líquido de alta resolução (HPLC-Shimadzu, modelo LC-10VP).

### 2.2 Métodos

#### 2.2.1. Quantificação de $\alpha$ -lactoalbumina e $\beta$ -lactoglobulina

As proteínas  $\alpha$ -la e  $\beta$ -lg foram quantificadas por cromatografia líquida de alta resolução, em um sistema HPLC-Shimadzu, modelo LC-10VP, equipado com:

- Auto Injetor (SIL-10ADVP)
- Bombas analíticas dosadoras (LC-10ADVP)
- Detector Fotométrico (UV- Visível-SPD-M10AVP)
- Forno para Aquecimento (CTO-10AVP)
- Sistema de Controle do HPLC (SCL-10AV)
- coluna de fase reversa: (CLC ODS-C18-Shimadzu) de 250 mm por 4,6 mm;
- coluna de guarda: (CLCG-ODS- Shimadzu) de 10 mm por 4 mm;

As análises foram feitas, usando diferentes soluções eluentes (propanol, metanol, acetoneitrila e uma solução de NaCl) e com diferentes condições de gradiente, sendo as melhores condições de análise as seguintes:

- fase móvel (A): NaCl 0,15 M, pH 2,5;
- fase móvel (B): Acetonitrila
- vazão da fase móvel: 1ml/min;
- temperatura do forno: 40°C;
- volume de injeção: 20  $\mu$ L
- comprimento de onda 210 nm.

Os reagentes empregados foram de grau analítico, a água deionizada e a acetoneitrila de grau cromatográfico. As amostras, preparadas com água deionizada e degaseificada, foram filtradas em membrana de acetato de celulose de 0,2  $\mu$ m. As análises foram feitas em duplicata.

#### 2.2.2. Curva Padrão

As curvas-padrão para a  $\alpha$ -la e  $\beta$ -lg foram construídas usando soluções de proteínas puras

em concentrações na faixa de 0,02 mg/mL a 2,0 mg/mL. As soluções de proteínas foram preparadas usando a fase móvel A (NaCl 0,15M, pH 2,5). O pH da fase móvel foi ajustado com uma solução concentrada de HCl e o coeficiente de determinação para cada curva padrão foi calculado por análise de regressão linear.

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O gradiente empregado na determinação analítica da  $\alpha$ -la e  $\beta$ -lg pode ser visto na Tabela 1. Cabe mencionar que esta metodologia apresentou uma boa eficiência na separação dos picos, assim como um tempo de análise relativamente curto, igual a 33 minutos. Os coeficientes de correlação foram elevados para  $\alpha$ -la e  $\beta$ -lg:  $R^2_a = 0,9974$  e  $R^2_b = 0,9972$ , respectivamente. A curva padrão obtida com soluções puras de  $\alpha$ -la está apresentada na Figura 1.

**Tabela 1** - Gradiente empregado na determinação analítica de  $\alpha$ -la e  $\beta$ -lg.

	Tempo (min)	Fase móvel B (%)
Gradiente	0 - 3	36
Gradiente	3 - 27	48
Gradiente	27 - 30	0

Na Figura 2 pode ser visto um cromatograma das amostras de proteínas puras usadas na construção das curvas padrão, onde foram obtidos dois picos para a  $\beta$ -lactoglobulina. Isto deve-se ao fato da  $\beta$ -lg ser um dímero formado por  $\beta$ -lg A e  $\beta$ -lg B (Cayot e Lorient, 1997). Observa-se que as condições cromatográficas

usadas permitiram uma boa resolução na separação da  $\beta$ -lg A e  $\beta$ -lg B em um curto tempo de análise. E sendo a  $\beta$ -lg considerada o principal componente alergênico do leite bovino, as variantes genéticas são as que provocam diferentes respostas alérgicas (Cayot e Lorient, 1997).

A metodologia mostrou-se também adequada para a quantificação das proteínas em amostras de soro de queijo in natura, oriundo do laticínios da FUNARBE-UFV, obtido durante a fabricação de queijo tipo mussarela. Como mostra a Figura 3 para o soro de queijo in natura também foram observados os dois picos para a  $\beta$ -lg. Foram também analisadas amostras de isolado protéico de soro de queijo em pó (BiPro, Davisco Foods), com boa resolução dos picos da  $\alpha$ -la e  $\beta$ -lg. As concentrações resultantes para ambas proteínas são apresentadas na Tabela 2.

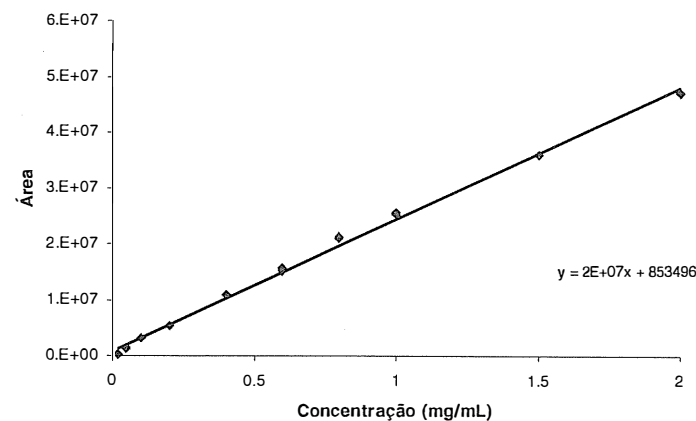
**Tabela 2** - Concentração de  $\alpha$ -la e  $\beta$ -lg no soro de queijo in natura e no isolado protéico.

Amostra	$\alpha$ -la	$\beta$ -lg
Soro in natura (queijo mussarela)	1,12 mg/mL	2,56 mg/mL
Isolado protéico do soro (WPI)	21,63 mg/mL	62,55 mg/mL

## 4. CONCLUSÃO

A metodologia mostrou-se adequada para a quantificação das proteínas do soro de queijo in natura e isolado protéico, apresentando uma boa eficiência na separação dos picos assim como um tempo de análise relativamente curto, de 33 minutos.

A técnica também mostrou-se eficiente na resolução dos picos de  $\beta$ -lg, sendo os dois picos da  $\beta$ -lg separados satisfatoriamente, e com um tempo de análise curto.



**Figura 1** - Curva padrão para  $\alpha$ -lactoalbumina.

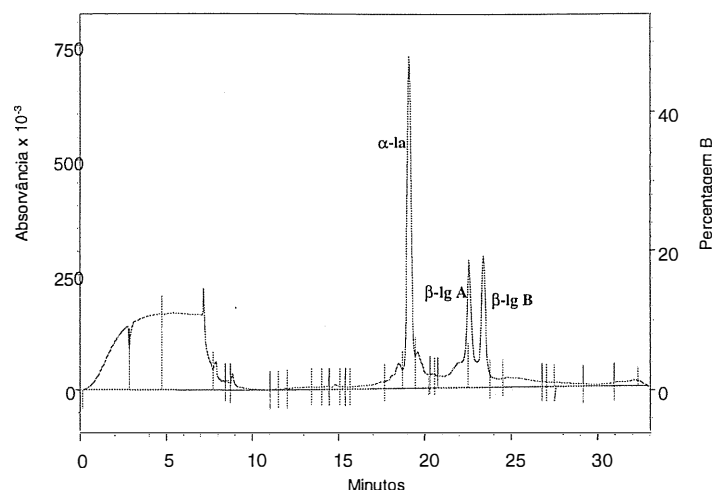


Figura 2 - Cromatograma típico dos padrões de  $\alpha$ -la e  $\beta$ -Ig.

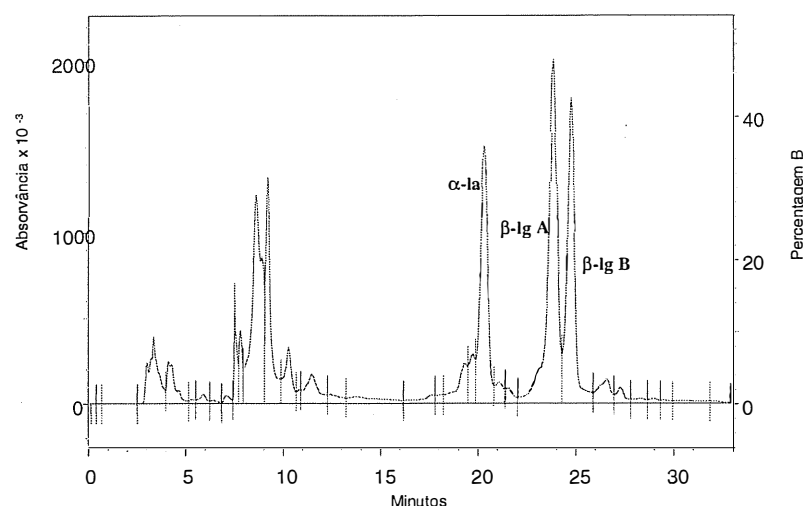


Figura 3 - Cromatograma do soro de queijo in-natura.

## SUMARY

Between the different methodologies made to quantify proteins of milk and of hydrolyzed whey, it stands out the liquid chromatography of high acting for its high resolution power. In the present work a procedure was developed for the analysis of the present proteins in larger amount in the cheese serum, to-lactoalbumina (the her) and  $\beta$ -lactoglobulina ( $\beta$ -Ig). The used equipment was a liquid chromatograph (Shimadzu) controlled through Software (Shimadzu - Class-VP). The eluente was monitored using detecting

of diode bunches (SPD-M10AVP - Shimadzu) to 210 nm. A column of reverse phase was used (CLC ODS-C18) of 250 x 4,6 mm and guard's column (CLCG-ODS) of 10 x 4 mm. All the used reagents was of analytic degree, water deionized and acetonitrile degree chromatographic. The conditions optimized was: flow 1 mL/min, pressure 11,76 Mpa, volume of the sample 20mL, solvent The (NaCl - 0,15 M, pH 2,5), solvent B (acetonitrile), gradient: 3 min 36 %B to for 64%A; 27 min 48%B to at 52% THE; 30 min 0%B to for 100%A. THE developed technique was evaluated initially through the determination of the concentrations of the her

and  $\beta$ -Ig in the serum of cheese type mussarela in natura being obtained 1,12 mg/mL of the her and 2,56  $\beta$ -Ig mg/mL. These values meet inside of the strip mentioned by MORR & HA [2]. The methodology was also shown adapted for the quantification of the proteins of the serum of cheese lyophilized, presenting a good efficiency in the separation of the picks as well as a time of analysis relatively short.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICA

ANUALPEC. *Anuário da Pecuária Brasileira*, 1999.

ARAUJO, J. M. A., *Química de Alimentos - Teoria e Prática*, editora UFV. 1999.

BEM-HASSAN, R. M., GHALY, A. E. Continuous propagation of *kluveromyces fragilis* in cheese whey for pollution potential reduction. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, v. 47, p. 89-105, 1994

CAYOT, P & LORIENT D. Structure-Function relationships of Whey proteins, in : *Food Proteins and Their Applications*, edited by Marcel dekker, 1997.

DE WITH, J. N. Nutritional and Functional characteristics of whey proteins in food products. *Journal Dairy Science*, v. 81, p. 597-609, 1998.

GRASELLI, M., NAVARRO, A., FERNANDEZ, H. L., MIRANDA, M. V., CAMPERI Y OSVALDO CASCONI. Que hacer con el suero de queso. *Ciencia Hoy*, v. 43, p. 27-35, 1997.

HALL, G. M and IGLESIA, O. Functional properties of dried milk whey. *Food Science and Technology International*, v. 3, p. 381-383, 1997.

LLANO, D. G., POLO, C., RAMOS, M. Update on HPLC and FPLC analysis of nitrogen compounds in dairy products. *Lait*, v. 70, p. 255-277, 1990.

MORR, C and HA, E. W. Whey protein concentrates and isolates processing and

functional properties critical reviews. In *food Science and Nutrition*. Columbus, v. 33, n. 6, p. 431-476, 1993

PEARCE, R., J. Analysis of Whey Proteins by High-Performance Liquid Chromatography. *The Australian Journal of Dairy Technology*, v. 13, p. 114-117, 1983.

RECIO, I., FRUTOS, D.M., OLANO, A., RAMOS, M. Protein Changes in Stored Ultra-High temperature- Treated Milks Studied by capillary Electrophoresis and High-Performance Liquid Chromatography. *J. agric. Food Chem*, v. 44, p. 3955-3959, 1996.

REGNIER, F. E., GOODING, K.M. High-Performance liquid Chromatography of proteins. Review. *Analytical Biochemistry* v. 103, p. 1-25, 1980.

RENNER, E. *Micronutrients in Milk and milk-based food products*, elsevier science publisher, England, 1989. 311p.

SHAW, C. Reverse-Phase HPLC Purification of Peptides Natural Sources for Structural Analysis. In : *Protein Sequencing Protocols*, edited by Bryan J. Smith. NJ, 1997.

STRANGE, E. D., MALIN, E. L., VAN HEKKEN, D. L., BASCH, J. Chromatographic and electroforetic methods used for analysis of milk proteins. Review. *Journal of Chromatography*, v. 62, p. 81-102, 1992.

TOSI, E., CAZOOPLY and CATALANO, O. Uso de la harina de triticale y suero de leche ultrafiltrado em polvo para la fabricación de pastas frescas. *Alimentaria*, v. 39, p. 39-41, 1997.

ZUÑIGA, A. D. G. *Sistemas Aquosos Polietilenoglicol-Sal: Separação de  $\alpha$ -Lactoalbumina e  $\beta$ -Lactoglobulina do Soro de Queijo e Hidrodinâmica em um Extrator Graesser*. Tese de Mestrado, Viçosa - MG, 2000.

ASSINE A REVISTA

ILCT

## CORRELAÇÃO ENTRE AS TÉCNICAS DE NMP E PETRIFILM EC NA DETERMINAÇÃO DE COLIFORMES EM LEITE PASTEURIZADO E QUEIJO TIPO MUSSARELA

Elisa Helena Giglio Ponsano  
Marcos Franke Pinto  
Ádina Cléia Botazzo Delbem  
Jorge Antonio Ferreira de Lara  
Sílvia Helena Venturoli Perri

### RESUMO

Este estudo determinou a correlação entre as técnicas de NMP e Petrifilm EC na pesquisa de coliformes totais e fecais em 119 amostras de leite pasteurizado e em 38 amostras de queijo tipo Mussarela de diversas marcas. Para as amostras de leite pasteurizado, os resultados revelaram um coeficiente de correlação (Spearman) de 0,793 entre NMP e Petrifilm EC na contagem de coliformes totais e de 0,433 na contagem de coliformes fecais. Para as amostras de queijo tipo Mussarela, as correlações encontradas foram de 0,940 para coliformes totais e 0,590 para coliformes fecais. Todas as correlações foram significativas ao nível de 5% ( $p < 0,05$ ). Estes resultados sugerem o uso de Petrifilm EC como uma opção confiável para a enumeração de coliformes em amostras de leite pasteurizado e queijo tipo Mussarela.

Palavras-chave: leite, queijo, NMP, Petrifilm®, coliformes, análise microbiológica

### 1. INTRODUÇÃO

O mercado consumidor de alimentos tem se tornado progressivamente mais exigente em relação à qualidade, sob diferentes aspectos. Dentre os vários parâmetros que determinam a qualidade de um alimento, as características microbiológicas são importantes por fornecer informações que permitem avaliá-lo quanto às condições de obtenção, processamento, armazenamento e distribuição, bem como estimar sua inocuidade e sua vida útil.

Isso se aplica para o leite e seus derivados, aos quais sempre se atribuiu um papel de grande importância na alimentação humana devido à valiosa composição nutricional que apresentam (Muller & Tobin, 1986; Amiot, 1991; Gurr, 1992). Entretanto, essa mesma riqueza nutricional torna o leite um excelente meio de cultivo para microorganismos deteriorantes e patogênicos, que podem causar problemas tecnológicos aos processamentos industriais, limitar sua vida de prateleira e provocar enfermidades humanas.

Felizmente, a combinação da aplicação de métodos higiênicos de obtenção com a correta utilização dos recursos tecnológicos de pasteurização e refrigeração diminui a incidência de alterações no leite e de transmissão de enfermidades,

originando um produto de qualidade sob o ponto de vista higiênico-sanitário e tecnológico (Amiot, 1991; Varnam & Sutherland, 1995).

Conscientes da necessidade de assegurar a sanidade do produto que colocam no mercado, as indústrias de processamento de alimentos vêm adotando práticas que visam estabelecer um melhor sistema de controle de qualidade de seus produtos através de programas já utilizados em outros países, tal como a Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC). Em função da necessidade de adequação aos modernos procedimentos de controle de qualidade das matérias-primas e dos produtos e visando o atendimento ao mercado internacional, o Ministério da Agricultura instituiu a obrigatoriedade da implantação do sistema nas indústrias de processamento de produtos de origem animal (Brasil, 1998). Nesta busca da qualidade, a necessidade de técnicas de análise microbiológica que apresentem os resultados de maneira mais rápida e com segurança torna-se imperativa.

Uma das formas de avaliação da qualidade higiênico-sanitária de um alimento é através da determinação de coliformes totais e de coliformes fecais, microrganismos considerados indicadores, e que indicam, respectivamente, contaminação de origem ambiental e fecal por falhas de higiene

nos processos de obtenção e/ou elaboração dos produtos. O método oficial utilizado no Brasil para a determinação desse grupo de microrganismos utiliza a técnica do Número Mais Provável (NMP), que fornece a contagem de coliformes totais e fecais através de uma estimativa baseada no número de tubos com crescimento microbiano positivo em uma série de diluições sucessivas, levando para isso, cerca de cinco dias de cultivo (Brasil, 1981; Roitman et al., 1988; Franco & Landgraf, 1996; Silva et al., 1997). O uso de Petrifilm® vem sendo sugerido como um método alternativo para a enumeração desses organismos, alcançando aceitação internacional pela praticidade de sua execução e pela redução no tempo de obtenção dos resultados (Ginn et al., 1986; Senyk et al., 1987; Curiale et al., 1989; Curiale et al., 1990; Curiale et al., 1991; Jordano et al., 1995; Bulte et al., 1998; Priego et al., 2000). Trata-se de filmes contendo diferentes meios de cultivo seletivos desidratados, capazes de detectar e permitir a enumeração de vários grupos de microrganismos em diversos alimentos.

Petrifilm EC, placas de Petrifilm® para contagem de coliformes totais e *E. coli* contém nutrientes, agentes seletivos e corantes indicadores em uma base de goma guar, laminada entre dois filmes unidos em uma das extremidades. As bactérias do grupo coliformes se desenvolvem em forma de colônias vermelhas devido à redução do corante trifeniltetrazólio incorporado ao gel, com produção de gás pela fermentação da lactose. O gás produzido fica retido pelo filme e aparece como uma ou mais pequenas bolhas associadas à colônia. As colônias de *E. coli* apresentam-se de forma diferenciada, com coloração azulada devido à presença de 5-bromo-4-cloro-3-indolil- $\beta$ -D-glucuronida, um indicador de glucuronidase, enzima encontrada em 97% das linhagens de *E. coli* (Curiale et al., 1991). Esse método apresenta como principais vantagens a facilidade de execução, redução de etapas na análise e economia de tempo para leitura dos resultados.

Estudos colaborativos foram realizados por vários laboratórios nos Estados Unidos, com o objetivo de comparar o método que utiliza placas de Petrifilm® com os métodos oficiais daquele país na enumeração de diferentes grupos microbianos em diversos alimentos, incluindo leite e derivados. Os resultados gerais indicaram a adequação do Petrifilm® como método alternativo para determinação de bactérias aeróbias totais, coliformes e bolores e leveduras em alimentos, permitindo a recomendação para a adoção oficial do método pela Association of Official Analytical Chemists – AOAC (Ginn et al., 1986; Curiale et al., 1989; Curiale et al., 1990; Curiale et al., 1991; Knight et al., 1997).

As placas de Petrifilm® para contagem de aeróbios, coliformes totais/fecais, *E. coli* 0157:H7 e bolores e leveduras também foram aprovadas em outros países como França, Bélgica e Canadá, tendo sido adotadas como métodos oficiais para análise de alimentos.

No Brasil, a Divisão de Operações Industriais do Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal – DIPOA, através da Circular DOI nº 004/95, autorizou o uso de Petrifilm CC para contagem de coliformes, Petrifilm EC, para contagem de coliformes totais e fecais e de Petrifilm HS alta sensibilidade para contagem de coliformes em produtos de origem animal (exceto produtos açucarados), após a aprovação dessas placas em estudo realizado pelo Laboratório Regional de Referência Animal – LARA, do Rio Grande do Sul (Brasil, 1995).

O presente trabalho teve por objetivo determinar a correlação entre as técnicas do Número Mais Provável e Petrifilm EC na determinação de coliformes totais e coliformes fecais em amostras de leite pasteurizado e queijo tipo Mussarela, a fim de se obter informações que assegurem a adoção do método alternativo de Petrifilm® em nossa rotina de trabalho.

### 2. MATERIAIS E MÉTODOS

#### 2.1. Materiais

##### 2.1.1. Amostras

Cento e dezenove amostras de leite pasteurizado de diferentes tipos e 38 amostras de queijo tipo Mussarela comercializados na região de Araçatuba (SP) foram utilizadas para as análises de coliformes totais e coliformes fecais.

##### 2.1.2. Meios de cultura

As diluições necessárias à realização das análises foram realizadas em água peptonada a 0,1% (peptona bacteriológica Difco) e a pesquisa de coliformes totais/fecais pelo método do NMP foram efetuadas em Caldo Verde Brilhante Bile Lactose – BRILA (Merck).

##### 2.1.3. Placas de Petrifilm®

A enumeração de coliformes totais/fecais através dessa metodologia foi realizada utilizando-se placas de Petrifilm *E. coli* 6404/6414 (Petrifilm EC).

#### 2.2. Métodos

A determinação de coliformes totais e fecais pela metodologia do NMP foi executada de acordo com os procedimentos recomendados pelo Laboratório Nacional de Referência Animal

Departamento de Apoio, Saúde e Produção Animal - Medicina Veterinária - UNESP - Caixa Postal 341 CEP16050-680 Araçatuba SP.  
e-mail: elisahgp@fmva.unesp.br

(Brasil, 1981). Para a enumeração desses microrganismos em placas de Petrifilm EC, 1 ml das amostras de leite e 1 ml de diluições apropriadas das amostras de queijo foram transferidas direta e assepticamente para as placas, que foram incubadas a 35°C por 24 horas, conforme instruções do fabricante.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As médias dos resultados obtidos para número de coliformes totais e fecais nas amostras de leite pasteurizado e de queijo tipo Mussarela através das duas metodologias estão apresentadas na Tabela 1. A presença de coliformes totais em um alimento não pode necessariamente ser considerada indicativa de contaminação fecal ou da ocorrência de enteropatógenos, mas a ocorrência de altos números desses organismos indica, seguramente, falhas higiênicas na obtenção, manipulação ou armazenamento, bem como falhas no processamento ou, ainda, contaminação pós-processamento. A pesquisa de coliformes fecais ou de *E. coli* em alimentos fornece informações mais seguras sobre as condições sanitárias do produto e melhor indicação da eventual presença de patógenos. Embora existam algumas restrições quanto à pesquisa desses microrganismos como indicadores da sanidade de alimentos, já que que não cobrem perfeitamente todos os requisitos necessários a um microrganismo indicador, coliformes totais/fecais ainda são bastante utilizados na avaliação da qualidade microbiológica, uma vez que nenhum outro grupo de microrganismos indicadores apresenta vantagens superiores capazes de suplantar a tradição de seu emprego (Roitman et al., 1988; Franco & Landgraf, 1996).

Para leite pasteurizado, as médias de coliformes totais e coliformes fecais encontradas no NMP foram ligeiramente maiores do que as observadas no Petrifilm EC, o que se justifica pela tendência do método tradicional em superestimar

o número de células viáveis (Curiale et al., 1991). Também por isso o método exhibe altos graus de variabilidade, o que pode ser verificado pelo maior desvio padrão, comparado ao encontrado para Petrifilm EC. O mesmo fato pôde ser verificado para a média de coliformes fecais nas amostras de queijo Mussarela o que, no entanto, não foi verdadeiro para coliformes totais, onde as placas de Petrifilm EC exibiram média de contagem maior que os valores estimados pelo método de NMP.

O Quadro 1 mostra os valores oficiais vigentes como requisitos microbiológicos para o queijo tipo Mussarela (Brasil, 1996; 1997) e os valores propostos para os diferentes tipos de leite pasteurizado, pela Portaria nº 56 do Ministério da Agricultura e Abastecimento (Brasil, 1999). A abertura do mercado verificada principalmente com a intensificação de negócios entre os países do Mercosul exigiu a modernização dos padrões de identidade e qualidade dos produtos nacionais. Com isso, os padrões microbiológicos passaram a adotar planos de amostragem aceitos internacionalmente, sugeridos pelo ICMSF (International Commission on Microbiological Specifications for Foods). Nesses planos, n indica o número de unidades a serem analisadas, retiradas de um único lote; g representa o número máximo aceitável de unidades que podem exceder o número máximo de microrganismos tolerado. O Quadro 1 apresenta planos de duas e três classes. Num plano de duas classes, esse número máximo tolerado de microrganismos é representado por m. A unidade analisada pode ser classificada como aceitável ou inaceitável com base nesse valor. Num plano de três classes, há dois valores limites, representados por m e M. A unidade amostral é considerada aceitável se apresentar valor inferior a m e inaceitável se apresentar valor superior a M. Resultados entre m e M conferem ao produto uma qualidade chamada marginal. O número máximo de unidades que podem apresentar valores nessa faixa é indicado por c (Franco & Landgraf, 1996).

**Tabela 1** - Números de coliformes totais e fecais encontrados nas amostras por NMP e Petrifilm EC

amostra	estatística	coliformes totais / ml		coliformes fecais / ml	
		NMP	Petrifilm EC	NMP	Petrifilm EC
leite pasteurizado	média	20,82	18,53	0,17	0,11
	desvio padrão	104,70	76,71	0,84	0,72
	mediana	0,3	0	0	0
queijo tipo Mussarela	média	250,52	260,26	28,08	13,42
	desvio padrão	414,72	618,04	87,76	57,95
	mediana	3,60	15,0	0	0

**Quadro 1** - Requisitos microbiológicos para queijo tipo Mussarela e leite pasteurizado

grupo coliformes totais	produto			
	queijo Mussarela n=5; c=2 m=1000, M=5000	leite tipo A n=5; c=0, m<1	leite tipo B n=5; c=2; m=2; M=5	leite tipo C n=5; c=2; m=10; M=15
coliformes fecais	n=5; c=2; m=100; M=500	n=5; c=0; m=0	n=5; c=2; m=1; M=2	n=5; c=2; m=2; M=5

Fonte: Brasil, 1996; 1997; 1999.

A grande variabilidade dos resultados obtidos na análise das amostras levou ao grande desvio padrão observado em todos os casos, indicando o amplo limite de valores que podem ser encontrados na pesquisa desses microrganismos, por ambas as técnicas. Entretanto, comparando as medianas com os valores apresentados no Quadro 1, verifica-se que metade das amostras analisadas encontravam-se dentro dos valores considerados aceitáveis para os produtos estudados.

As correlações encontradas entre as duas metodologias empregadas na pesquisa de coliformes totais/fecais foram todas significativas ao nível de 5% (Tabela 2), indicando a confiabilidade e a eficiência do método alternativo estudado. As correlações entre os dois métodos na pesquisa para coliformes totais nas amostras de leite pasteurizado e de queijo foram bastante altas (0,793 e 0,940, respectivamente), o que demonstra a forte relação linear entre eles. Embora significativas, as correlações entre os dois métodos na pesquisa para coliformes fecais foram menores do que as encontradas para coliformes totais, em ambos os tipos de amostras.

**Tabela 2** - Coeficientes de correlação de Spearman entre NMP e Petrifilm EC para cada amostra e grupo microbiano.

amostra	coliformes	
	totais	fecais
leite pasteurizado	0,793*	0,433*
queijo tipo Mussarela	0,940*	0,590*

\* significativo a nível de 5 % (P < 0,05)

Alguns autores compararam as metodologias de plaqueamento em Petrifilm® e VRBA na enumeração de coliformes em diferentes alimentos. Jordano et al. (1995) encontraram para leite pasteurizado e outros alimentos uma correlação de 0,861 entre as duas técnicas. Bulte et al. (1998) encontraram coeficientes de

correlação entre 0,88 a 0,96 na contagem de coliformes e de 0,77 a 0,98 na contagem de *E. coli*, também em vários alimentos, incluindo leite cru. Priego et al. (2000) utilizaram uma nova série de Petrifilm®, denominada Petrifilm 2000, que fornece resultados de contagem de coliformes em alimentos em menos de 12 horas, encontrando uma correlação de 0,860 entre as metodologias. Essa nova série foi testada em leite cru e outros alimentos, sendo indicada pelos autores como um método rápido e adequado à APPCC, que permite um eficiente controle da qualidade microbiológico de processamentos industriais.

### 4. CONCLUSÃO

Pela análise dos resultados encontrados nesse estudo, verificou-se que a contagem em placas de Petrifilm EC representa um método alternativo confiável, rápido e eficiente para a enumeração de coliformes totais e fecais em leite pasteurizado e queijo tipo Mussarela.

### 5. ABSTRACT

Correlations between MPN and Petrifilm EC methodologies for total and fecal coliforms counts were determined in 119 samples of pasteurized fluid milk and in 38 different brands of "mozzarella" cheese. For pasteurized fluid milk, results showed correlation coefficients (Spearman) of 0.793 between MPN and Petrifilm EC for total coliforms count and 0.433 for fecal coliforms count. For cheese samples, correlations were 0.940 and 0.590 for total and fecal coliforms counts, respectively. All correlations were significant under 5% significance level (p<0.05). Results suggest Petrifilm EC as a reliable alternative for coliforms counts, both for pasteurized milk and "mozzarella" cheese.

**Key-words:** milk, cheese, MPN, Petrifilm®, coliforms, microbiological analysis

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMIOT, J. *Ciencia y tecnologia de la leche*. Zaragoza: Acribia, 1991. 547 p.

BRASIL. *Métodos analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes - I. Métodos Microbiológicos*. Laboratório Nacional de Referência Animal. Ministério da Agricultura, Brasília, 1981.

BRASIL. Circular DOI n.004/95, 20/07/95. *Autorização do uso de métodos para contagem e determinação microbiológica*. Ministério da Agricultura, Brasília, 1995.

BRASIL. Portaria n. 146/96, 07/03/96. *Regulamento técnico geral para a fixação dos requisitos microbiológicos de queijos*. Ministério da Agricultura, Brasília, 1996.

BRASIL. Portaria n. 364/97, 04/09/97. *Regulamento técnico para fixação de identidade e qualidade do queijo mozzarella*. Ministério da Agricultura, Brasília, 1997.

BRASIL. Portaria n. 46/98, 10/02/98. *Sistema de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle - APPCC*. Ministério da Agricultura, Brasília, 1998.

BRASIL. Portaria n. 56/99, 07/12/99. *Regulamento técnico de produção, identidade e qualidade de leite tipos A, B e C*. Ministério da Agricultura, Brasília, 1999.

BULTE, M. et al. Comparative studies on the applicability of the Petrifilm™ methods in foods. Part I: Results with foods of animal origin. *Fleischwirtschaft*, v. 78, n. 6, p. 690-1, 1998.

CURIALE, M. S.; FAHEY, P.; FOX, T. L.; McALLISTER, J. S. Dry rehydratable films for enumeration of coliforms and aerobic bacteria in dairy products: collaborative study. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, v. 72, n. 2, p. 312-8, 1989.

CURIALE, M. S.; SONS, T.; McALLISTER, J. S.; HALSEY, B.; FOX, T. L. Dry rehydratable film for enumeration of total aerobic bacteria in foods: collaborative study. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, v. 73, n. 2, p. 242-8, 1990.

CURIALE, M. S.; SONS, T.; McIVER, D.; McALLISTER, J. S.; HALSEY, B.; ROBLEE, D.; FOX, T. L. Dry rehydratable film for enumeration of total coliforms and *Escherichia coli* in foods:

collaborative study. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, v. 74, n. 4, p. 635-48, 1991.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. *Microbiologia dos Alimentos*. São Paulo: Atheneu, 1997. 182 p.

GINN, R. E.; PACKARD, V. S.; FOX, T. L. Enumeration of total bacteria and coliforms in milk by dry rehydratable film methods: collaborative study. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, v. 69, n. 3, p. 527-31, 1986.

GURR, M. I. Health and nutrition aspects of dairy products: an up-to-the-minute report. *Food Aust.*, v. 44, n. 9, p. 421-6, 1992.

HALL, H. E.; BROWN, D. F. e LEWIS, K. H. Examination of market foods for coliform organisms. *Appl. Microbiol.*, v. 15, p. 1062-9, 1967.

JORDANO, R. et al. Comparison of Petrifilm method to conventional methods for enumerating aerobic bacteria, coliforms, *Escherichia coli* and yeasts and molds in foods. *Acta Microbiol. Immunol. Hung.*, v. 42, n. 3, p. 255-9, 1995.

KNIGHT, M. T. et al. Comparison of the Petrifilm rehydratable film and conventional culture methods for enumeration of yeasts and molds in foods: collaborative study. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, v. 80, n. 4, p. 806-23, 1997.

MULLER, H. G.; TOBIN, G. *Nutricion y ciencia de los alimentos*. Zaragoza: Acribia, 1986. 321 p.

PRIEGO, R.; MEDINA, L. M.; JORDANO, R. Evaluation of petrifilm series 2000 as a possible rapid method to count coliforms in foods. *J. Food Prot.*, v. 63, n. 8, p. 1137-40, 2000.

ROITMAM, I.; TRAVASSOS, L. R.; AZEVEDO, J. L. (ed.). *Tratado de Microbiologia*. São Paulo: Manole, v. 1, 1988. 186p.

SENYK, G. F. et al. Comparison of dry culture medium and conventional plating techniques for enumeration of bacteria in pasteurized fluid milk. *J. Dairy Sci.*, v. 70, n. 6, p. 1152-8, 1987.

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

VARNAM, A. H.; SUTHERLAND, J. P. *Leche y productos lácteos*. Zaragoza: Acribia, 1995. 476 p.

## PRODUTOS MODIFICADOS: PESQUISA AVALIA MERCADO

Maria Cristina Drumond e Castro<sup>1</sup>

José Alberto Bastos Portugal<sup>2</sup>

Danielle Braga Chellini<sup>3</sup>

Soraia Augusta da Silva<sup>4</sup>

Alunos do 1º ano do Curso Técnico em Leite e Derivados - ILCT/EPAMIG

## 1. INTRODUÇÃO

As indústrias de alimentos estão em busca de produtos que proporcionem diferencial ou aumentem a rentabilidade ao agregar valor ao produto final. Os alimentos modificados e surgem trazendo inovações pois estimulam a produção nacional de itens até então importados, e oferecem biotecnologia de ponta permitindo que os produtos nacionais sejam tão competitivos quanto o similar estrangeiro. (Alimentos e Tecnologia, 1998, p. 30).

Em janeiro de 98, o Brasil deu um grande passo à frente no campo dos alimentos mais saudáveis. As novas opções de alimentos "diet" e "light" têm encontrado nichos específicos, tais como os grupos jovens e pessoas com mais de 40 anos de idade e grupos especiais, diabéticos e obesos. No primeiro grupo, o consumo desses alimentos está ligado à estética corporal. No outro grupo, a procura prende-se à preservação ou manutenção da boa saúde.

A Portaria nº 27 da Secretaria de Vigilância Sanitária/Ministério da Saúde - Informação Nutricional Complementar - tem como característica a criação de atributos para os novos alimentos. Estão incluídos critérios para: baixo ("light"), não contém (free), alto teor, fonte de, muito baixo, sem adição de, reduzido e aumentado. (Legislação Comentada, 1998, p. 117)

A Portaria nº 29 da Secretaria de Vigilância Sanitária/Ministério da Saúde - Alimentos para Fins Especiais trata de todos os alimentos, em que pelo menos um de seus atributos tenham sido restringidos ou por algum motivo.

Regulamenta-se os alimentos especialmente formulado nos quais se introduzem modificações no

conteúdo de nutrientes. A categoria dos alimentos do tipo "diet" está coberta por esta Portaria.

Há muito se conhece a correlação entre o contexto social e a alimentação humana (hábitos alimentares), com influência mútua de um em outro campo, e o que se observa atualmente com relação aos alimentos modificados não é senão mais um exemplo dessa correlação.

## 2. CONCEITOS

## 2.1. Alimentos Modificados

Embora, ultimamente, as palavras "alimentos modificados" pareçam ser somente o começo da expressão "alimentos modificados geneticamente" ou "transgênicos", este termo é muito mais abrangente. Aliás, não existe em nossa legislação atual uma definição do que sejam alimentos modificados, embora algumas fontes literárias os tratem como sinônimos de alimentos enriquecidos (Bucione, Carvalho, Lerayer, 2000). Tampouco poderíamos nos referir ao alimento modificado como sinônimo do grupo de alimentos para fins especiais, segundo termos da legislação atual (Portaria n.º 29, de 13/01/1998, Secretaria de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde, atual Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVS), já que são excluídos desta portaria alguns grupos como os alimentos adicionados de nutrientes essenciais e as bebidas dietéticas e/ou de baixas calorias e/ou alcoólicas.

Assim, pela definição linguística da palavra "modificado", poderíamos empregar este termo ao fazer referência a qualquer produto alimentício que tenha sofrido alguma alteração, seja de origem, de etapa(s) do processamento tecnológico, ou

<sup>1</sup> Economista, Especialista em Administração Rural, Professora de Economia do Curso Técnico em Leite e Derivados do CT-ILCT/EPAMIG

<sup>2</sup> Biólogo, M.Sc., Professor de Biologia do Curso Técnico em Leite e Derivados do CT-ILCT/EPAMIG

<sup>3</sup> Bioquímica, Especialista em Tecnologia de Leite e Derivados, Professora de Química Prática e Tecnologia do Leite do Curso Técnico em Leite e Derivados do CT-ILCT/EPAMIG

<sup>4</sup> Nutricionista, Secretária Municipal de Agropecuária e Abastecimento da Prefeitura de Juiz de Fora, MG.

devido à adição de ingrediente diferencial, que o torne diverso do produto similar considerado convencional. Desta forma, seriam incluídos nesta designação os alimentos transgênicos, enriquecidos, fortificados, restaurados, recompostos, padronizados, para dietas, *light*, reduzido, aumentado, ou qualquer outro que seja diferenciado, sob algum aspecto do alimento usual, dito convencional.

## 2.2. Aditivos Alimentares

Aditivo alimentar é qualquer ingrediente adicionado intencionalmente aos alimentos, sem propósito de nutrir, com o objetivo de modificar as características físicas, químicas, biológicas ou sensoriais, durante a fabricação, processamento, preparação, tratamento. Ao agregar-se permanece no produto final. (Nova Legislação Comentada, 1998, p. 118)

## 2.3. Alimentos para Fins Especiais

São alimentos especialmente formulados ou processados, nos quais se introduzem modificações no conteúdo de nutrientes, adequados à utilização em dietas diferenciadas e/ou opcionais, atendendo às necessidades de pessoas em condições metabólicas e fisiológicas específicas. (Portaria n.º 29, 13/01/1998)

Estão incluídos: Alimentos para dietas com restrição de nutrientes (carboidratos, gorduras, proteínas, sódio e outros alimentos destinados para fins específicos), Alimentos para ingestão controlada de nutrientes (controle de peso, praticantes de atividades físicas, nutrição enteral, ingestão controlada de açúcares e outros alimentos destinados para fins específicos), e Alimentos para grupos populacionais específicos (de transição para lactentes e crianças de primeira infância, gestantes e nutrízes, a base de cereais para alimentação infantil, fórmulas infantis, para idosos, e outros alimentos destinados aos demais grupos populacionais específicos). A categoria dos alimentos do tipo "diet" está coberta por esta Portaria. (Nova Legislação comentada, 1998, p. 117)

Excluem-se desta categoria: alimentos adicionados de nutrientes essenciais, bebidas dietéticas e/ou de baixas calorias e/ou alcoólicas, suplementos vitamínicos e/ou de minerais e produtos que contenham substâncias medicamentosas ou indicações terapêuticas.

## 2.4. Alimentos Enriquecidos

Alimento fortificado/enriquecido é todo alimento ao qual for adicionado um ou mais nutrientes essenciais contidos naturalmente ou não no alimento, com o objetivo de reforçar o seu

valor nutritivo e/ou prevenir ou corrigir deficiência (s) demonstrada (s) em um ou mais nutrientes, na alimentação da população. A finalidade é repor, quantitativamente aquele componente reduzido durante o processamento e/ou armazenamento do alimento. O objetivo do nutriente é fornecer energia, crescimento, desenvolvimento e manutenção da saúde.

Classificam-se em: *Alimentos Enriquecidos/Fortificados, para fins de Programas Institucionais, para Fins Comerciais, Alimentos Restaurados ou com Reposição de ...* (especificando os nutrientes). São compostos por minerais, vitaminas ou amino-ácidos. (Nova Legislação Comentada, 1998, p. 131)

Com relação aos Alimentos Enriquecidos/Fortificados para fins institucionais verificamos uma necessidade de maior empenho do setor público no sentido de melhorar a qualidade dos alimentos de consumo popular (macarrão, pão, farinhas, etc) como já ocorre com o sal, cuja adição de iodo é feita obrigatoriamente para o combate ao bócio endêmico.

Alguns programas institucionais, como Merenda Escolar, seriam beneficiados com enriquecimento/adção de vitaminas e minerais sem contudo elevar custos, como o verificado no programa da Prefeitura Municipal de Juiz de Fora (Macarrão Vitaminado desenvolvido pela EMBRAPA). Verifica-se aqui a participação de Centros de Pesquisas Federais envolvidos na proposta de melhoria do valor nutricional.

## 2.5. Fatores de Qualidade

Na adição de nutrientes essenciais nenhuma substância nociva deve ser introduzida como consequência de processamento. As características sensoriais e físico-químicas devem obedecer aos Padrões de Identidade e Qualidade dos alimentos convencionais e a rotulagem deve ser especificada permitindo a identificação para o consumidor, possibilitando a este o conhecimento de que o produto foi modificado em sua composição original. (Nova Legislação Comentada, 1998, p. 133)

## 2.6. Produtos transgênicos

A tecnologia tem mudado a sociedade em que vivemos, pois o mundo está adentrando a era da revolução gênica através dos recursos da Biotecnologia para a agricultura.

A Biotecnologia vegetal é uma extensão de melhoramento convencional de plantas.

Os primeiros produtos comerciais gerados pela Engenharia Genética, vêm sendo colocados no mercado, sendo produtos geneticamente modificados (TGM<sub>3</sub>) de várias espécies como soja,

batata, milho, cana-de-açúcar, algodão, mamão, canola, fumo, dentre outros.

Os transgênicos são variedades desenvolvidas pela introdução de genes de outras espécies. Como exemplo, uma variedade transgênica de milho, pode ser obtida pela introdução de genes de bactérias, fungo, visando o desenvolvimento de uma variedade com maior valor nutricional ou, ainda, mais resistente a uma praga.

Existe uma dúvida muito grande da sociedade brasileira sobre os riscos dos alimentos transgênicos para a saúde humana.

Quando o melhorista introduz, em uma nova variedade novos genes de resistência a uma doença, por exemplo, vários outros genes ligados aos primeiros são incorporados à nova variedade, sem maior controle. No caso das variedades transgênicas, a introdução de genes é mais precisa e é possível controlar a incorporação de outros genes além dos de interesse, pois o processo é pontual.

Os genes para resistência a antibióticos inseridos em variedades transgênicas, poderiam ser transferidos para as bactérias causadoras de doenças nos homens, nas quais eles poderiam ser ativados a produzir enzimas que as protegessem dos antibióticos.

(Informe Agropecuário-Biotecnologia, 2000, p. 14:17)

Recente matéria alerta os consumidores para produtos transgênicos encontrados nos supermercados locais e os riscos. (Tribuna de Minas, 2000).

## 3. METODOLOGIA

Esta pesquisa procurou levantar os tipos produtos modificados encontrados nos supermercados de Juiz de Fora, MG; visando ampliar e esclarecer questões específicas para o mercado consumidor. As pesquisas foram realizadas pelos alunos do primeiro ano do Curso Técnico em Leite & Derivados da EPAMIG/CT-ILCT.

A amostra foi realizada com 110 entrevistados, entre consumidores e gerentes dos estabelecimentos.

A pesquisa foi realizada no mês de agosto de 2000, com o objetivo de identificar o grau de conhecimento dos consumidores sobre produtos modificados e seu hábito de consumo.

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Categorias de produtos pesquisados

As categorias de produtos modificados encontradas na pesquisa foram: chocolates, alimentos a base de soja, arroz, azeite, bebidas

Possíveis riscos	
Para os consumidores	Para o meio ambiente
Aumento de alergias; Microrganismos com maior resistência aos antibióticos; Potencializar os efeitos das substâncias tóxicas.	Criação de "superpragas" e "superinvasoras"; Produtos transgênicos mais resistentes aos efeitos de agrotóxicos; Aplicação de mais veneno nas plantações e aumento dos resíduos poluentes nos rios e solo Falta de controle sobre a natureza; Um gene introduzido no meio pode se propagar sem controle; Alteração do equilíbrio dos ecossistemas.

Fonte: Jornal Tribuna de Minas - 6 de agosto de 2000.

Produtos considerados transgênicos Testado pelo Idec e Greenpeace	
Bac'Os – chips sabor bacon Knorr – mistura preparo de sopa sabor milho verde. Cup Noodles – macarrão instantâneo sabor galinha Swift – salsichas tipo Viena ProSobbe – fórmula não Láctea, à base de proteína isolada de soja, isenta de lactose e sacarose Soy Milke – alimento à base de soja	Cereal Shake Diet – alimento para dietas e ingestão controlada de açúcares – cereais, fibras e frutas sabor morango. Supra Soy integral – alimento à base de soro de leite e proteína isolada de soja com ferro Nestogeno com Soja – fórmula infantil de seguimento à base de leite e soja, com ferro, para lactentes, a partir do sexto mês. McCormick – bac'On Pieces Pringles – batata frita original

Fonte: Tribuna de Minas - 6 de agosto de 2000.

isotônicas, biscoitos, café tipo cappuccino, cereais, extrato de tomate, farinha de trigo, fubá, gelatina, mingau, massas, margarinas, óleos vegetais, ovos, pizzas, maioneses, sucos de frutas, sucrilhos, entre outros.

Na categoria de produtos lácteos, nesta pesquisa, foram encontrados os produtos: bebidas lácteas, iogurte, leite integral, desnatado, semi-desnatado, leite em pó, leite condensado, leite de cabra, leites fermentados manteiga, pudins, queijo tipo petit-suisse, queijo prato, ricota fresca, requeijão cremoso, etc.

Analisamos a atual cesta básica de produtos alimentares (DIEESE) com a cesta básica *nutricional* (SMAA/preparada por nutricionistas com objetivo de verificar as deficiências nutricionais que a cesta referência tem, e se os consumidores adotassem a cesta nutricional, qual seria o desembolso efetivo que garantisse uma alimentação balanceada.

#### Variações de preços dos produtos por categoria

Na análise das tabelas vale ressaltar que, foram verificados produtos similares, ou seja, observando-se a mesma quantidade, peso, marca para que permitisse a comparação de preços entre os produtos.

#### ➤ Produtos lácteos (produtos mais encontrados)

Classe de Produto	Tipo de enriquecimento	Preço do produto tradicional	Preço do produto enriquecido	Percentual de variação (%)
Queijo petit-suisse	Ferro, cálcio, vitaminas e proteínas	1,75	2,25	29
Queijo petit-suisse	Multi cereais	0,70	0,99	41
Iogurte	Cereais e geléia de frutas	0,48	0,67	40
Iogurte	Vitaminas A, C, cálcio	1,39	2,15	55
Iogurte	Cereal, cálcio, e vitaminas	0,50	0,69	38
Farinha láctea	Vitaminas	2,59	1,85	40
Bebida láctea	Vitaminas A,D,E	1,39	1,95	40
Bebida láctea	Suco, iogurte	2,25	3,09	37
Leite em pó infantil	Vitaminas	0,65	0,79	22
Leite em pó integral	Vitaminas A, D, C e ferro	3,34	5,45	63
Leite condensado	Cálcio	1,35	2,09	51
Leite esterilizado	Vitamina A, Complexo B, ácido fólico	0,59	0,63	7

Fonte: dados da pesquisa, agosto de 2000.

- Percebeu-se que os principais ingredientes usados no enriquecimento de lácteos são: vitaminas, cálcio, ferro e proteínas.
- Foram observadas grandes variações de preço entre os produtos tradicionais e os modificados, com destaque para os iogurtes e leite em pó.

Observou-se que, havia grande diferença de preços nos produtos modificados em relação ao produto sem adição/redução de substâncias.

Foram constatadas diferenças de preços à maior e menor, mas a grande maioria de produtos modificados encontrada nos supermercados locais é mais cara que os produtos "tradicionais", conforme tabelas a seguir.

Considerando a composição da Cesta Básica proposta pelo DIEESE e a Cesta Básica Nutricional Proposta pela SMAA/PJF (Secretaria Municipal de Agricultura e Abastecimento da Prefeitura de Juiz de Fora, MG), verificamos que ambas fornecem quantidade de calorias adequadas, porém ambas com NDPcal inferior a 7% (índice de aproveitamento proteico adequado). Se produtos componentes dessas cestas fossem enriquecidos na forma institucional (como o sal iodado) conseguiríamos com o mesmo custo melhorar consideravelmente o aporte de vitaminas e sais minerais (principalmente Fe - grande limitante na manutenção de padrões de saúde). Como foi dito anteriormente, acreditamos que, com o enriquecimento de produtos de consumo popular (e já temos condições tecnológicas para isso bastando o interesse governamental) melhoraríamos os padrões de saúde da população carente.

#### ➤ Produtos alimentícios em geral

Classe de Produto	Tipo de enriquecimento	Preço do produto tradicional	Preço do produto enriquecido	Percentual de variação (%)
Biscoito recheado	Vitaminas B1, B2, B6, proteínas	0,46	0,79	61
Biscoito amanteigado	Proteínas, ferro, cálcio, vitaminas B1, B2.	0,90	1,59	77
Biscoito achocolatado	Vitaminas B1, B2, B6	0,82	1,85	118
Biscoito maizena	Vitaminas B1, B2, B6, PP,	0,84	0,65	29
Biscoito cream cracker	Fibras	0,78	1,09	40
Biscoito waffer	Cálcio, ferro	0,69	0,99	43
Suco natural	Cálcio, vitaminas A,C e ferro.	0,69	1,59	130
Suco natural	Vitamina C, potássio	1,49	1,78	20
Bebida isotônica	Vitamina C, E, B6, B12, sódio, Potássio, cloretos	0,89	1,65	
Cereal matinal	Ferro, vitaminas A, C, B1, B2, B6, B12, Niacina, Cálcio, Ácido Fólico, Zinco	2,95	3,79	28
Crema de arroz	Vitaminas A, B1, B2, proteínas, ferro, cálcio	0,65	0,69	6
Aveia em flocos	Ferro, niacina, vitaminas B1, B2, Sódio, Cálcio, fósforo	1,79	2,49	39
Massa para lasanha	Beta Caroteno	1,43	2,49	74
Macarrão Vitaminado (Programa de Mer.Esc/JF)	Vit A, B, B2, B6, PP, Lisina	0,95	1,81	91
Macarrão instantâneo	Vitaminas, Ácido fólico	0,75	1,52	103
Alimento instantâneo em pó	25 vitaminas + proteínas	9,90	14,90	50
Flocos de milho	12 vitaminas	2,95	3,49	18
Óleo de soja	Vitamina E	1,10	1,08	2
Pães tipo bisnaguinha	Vitaminas, cálcio e ferro	1,39	1,25	11
Torrada	Fibra de trigo, glúten	3,45	3,59	4
Alimento a base de soja integral	vitaminas	3,98	4,95	24
Alimento a base de soja integral	Vitaminas e proteínas	3,98	6,85	72
Ovos		1,90	2,95	55
Farinha de trigo	vitaminas	0,80	0,95	19
Margarina	7 vitaminas e ferro	1,15	1,79	56
Margarina	Ômega 3, vitaminas A, E.	0,70	1,35	93
Azeite	Ômega 3, 6 vitamina E	2,08	1,99	5
Bebida Isotônica	Vitaminas B6, B12, E, C	1,48	1,65	11

Fonte: dados da pesquisa, agosto de 2000.

- As variações de preços entre os produtos modificados e tradicionais, em lácteos, foi de no máximo 70%, já em outras categorias de produtos a variação pode chegar à 130%.
- É grande a variedade de ingredientes adicionados aos produtos destas categorias, destacando-se vitaminas, ferro, cálcio, proteínas e ácidos ômega.

## Custo da cesta básica por pessoa (25/08/00)

Produto	Quantidade	Preço Médio(r\$)	Gasto Total(r\$)
Carne de 2ª	6,0 Kg	3,96 kg	23,76
*Leite tipo C	7,5 l	0,90 l	6,75
Feijão preto tipo 2	4,5 kg	0,86 kg	3,87
Arroz longo fino 2	3,0 kg	0,71 kg	2,13
*Far.Trigo Especial	1,5 kg	0,73 kg	1,10
*Pão Sal Francês	6,0 kg	0,12 / 50 g	14,40
Café torrado Moído	0,6 kg	2,88 / 500g	3,46
Açúcar Cristal	3,0 kg	0,71 kg	2,13
Óleo soja	0,9 l	0,99 / 900ml	0,99
Manteiga comum	0,75 kg	1,36 / 200 g	5,10
Batata Inglesa	6,0 kg	0,73 kg	4,38
Tomate	9,0 kg	0,48 kg	4,32
Banana Prata	7,5 kg	0,64 kg	4,80
<b>TOTAL</b>			<b>77,19</b>

Fonte: Produtos e quantidades DIEESE - Preços médios Pesquisa de Preço SMAA/PJF.

\* Alimentos possíveis de enriquecimento

## 7. RESULTADOS

Foram apresentadas quatro questões para que os consumidores avaliassem relacionadas ao consumo de produtos modificados.

A primeira questão referia-se ao uso de alimentos enriquecidos, onde 51% dos entrevistados afirmou o consumo desse tipo de produto, 22% dos entrevistados não usa, 18% faz uso, eventualmente e apenas 9% desconhecem essa categoria de produtos.

A Segunda questão abordava o motivo que levava ao consumo dessa categoria de produtos. A grande maioria (45%) dos entrevistados disse consumir por vontade própria, 16% dos entrevistados não consumia produtos modificados, ou por falta de conhecimento ou por não achar necessário, já que preferem consumi-los *in natura*, entretanto, 12% dos entrevistados utilizam os produtos modificados para completar a dieta diária devido ao pouco tempo que dispõe para preparo de alimentos.

A terceira questão abordada foi a relação entre os preços dos produtos tradicionais e os enriquecidos, 56% dos consumidores acreditam que o enriquecido é mais caro, 32% acham que os preços são equivalentes e apenas 6% dos entrevistados acham o preço do produto enriquecido mais barato que o tradicional. Em que pese, em nossa pesquisa, a maioria dos preços dos produtos enriquecidos ser maior que os tradicionais, o inverso foi observado em algumas categorias de produtos. Entretanto, a frequência observada foi maior para os preços de produtos enriquecidos do que para os produtos tradicionais.

A Quarta questão buscava identificar aspectos sensoriais dos produtos, como os consumidores interpretavam o item sabor dos produtos. Dos entrevistados 43% não encontraram diferenças de sabor entre os produtos, portanto, os sabores eram equivalentes; 29% dos entrevistados achavam que o produto enriquecido é mais saboroso e 15% achavam o produto enriquecido muito mais saboroso que o tradicional.

## 8. CONCLUSÕES E DISCUSSÕES

Os alimentos modificados já são conhecidos pelos consumidores, devido à sua exposição em supermercados e pela mídia em geral. A grande maioria de produtos encontrados nos supermercados são os que recebem a adição de ferro, vitaminas e sais minerais.

Na alimentação natural, as principais fontes do mineral são a carne e o feijão, mas seria necessário a ingestão em grande volume destes dois alimentos para se alcançar a Ingestão Diária Recomendada (IDR).

Uma má alimentação sem a obtenção na medida certa de minerais pode causar a anemia em crianças. E essa doença pode ser bastante séria, pois em crianças de até dois anos, pode comprometer o crescimento, atrasar o desenvolvimento cerebral e diminuir as resistências às infecções. Num teste feito com crianças com anemia lhes foi dado um produto adicionado de minerais e verificou que o grupo que recebeu este produto a incidência de anemia foi bem menor. (www.cfm.com.br)

Produtos	Quantidade P/15 Dias	Preço Médio (R\$)	Embalagem	Gasto Total
<b>Construtores</b>				
Carne- Chã dentro	4,0 kg	5,525	Kg	22,100
Feijão Preto tipo 2	2,5 kg	0,860	Kg	2,150
Frango	3,5 kg	1,836	Kg	6,426
Iogurte	0,960 ml	1,599	6unid/120ml	2,132
Leite tipo C	24 l	0,900	L	21,600
Ovos	1,5 dz	1,350	Dz	2,025
Presunto	0,5 kg	6,340	Kg	3,170
Queijo Minas Frescal	2,25 kg	5,265	Kg	11,846
<b>Sub-total</b>				<b>71,449</b>
<b>Energéticos</b>				
Açúcar Cristal	2,5 kg	3,551	Pct . 5 kg	1,776
Arroz tipo 1	5,0 kg	4,158	Pct 5 kg	4,158
Batata Inglesa	1,5 kg	0	Pct. 200g	3,335
Biscoito Maisena	1,0 kg	0,667		
Far. Trigo Especial	0,5 kg	0,726	Kg	0,363
Far. Mandioca	0,6 kg	0,799	Kg	0,479
Fubá	0,5 kg	0,639	Kg	0,320
Macarrão c/ ovos	1,0 kg	0,906	0,5 kg	1,812
Maionese 0,250 kg	1,436	0,250 kg	1,436	
Manteiga comum	1,0 kg	1,359	0,2 kg	6,795
Óleo de soja	2 lt / 1,8 ml	0,998	Lt 900 ml	1,996
Pão Francês	150 unid.	0,123	50 g	18,450
Batata inglesa	1,5 kg	0,723	Kg	1,085
<b>Sub-total</b>				<b>42,005</b>
<b>Reguladores</b>				
Banana Prata	1,5 Kg	0,637	Kg	0,956
Cebola	0,3 Kg	0,729	Kg	0,219
Cenoura	1,5 Kg	0,679	Kg	1,019
Ervilha	1 Lt / 200 g	0,502	Lt/200g	0,502
Extrato tomate	1 lt / 370 g	1,157	Lt/370g	1,157
Laranja	4 dz	0,396	Dz	1,584
Maçã	1,5 kg	1,139	Kg	1,709
Milho Verde	1 lt / 200 g	0,660	Lt/200g	0,660
<b>Sub-total</b>				<b>7,806</b>
<b>Não classificado</b>				
Café torrado Moído	0,5 kg	2,883	0,5 kg	2,883
<b>TOTAL DA CESTA</b>				<b>124,14</b>

Fonte: Produtos e Quantidades SMAA - Preços Médios: Pesquisa de Preço SMAA.

\* Alimentos possíveis de enriquecimento

OBS: Colocamos algumas ressalvas à composição da Cesta Básica Nutricional com relação aos produtos hortigranjeiros, que podem apresentar grande variação de preços durante o ano e são perfeitamente substituíveis do ponto de vista nutricional (ex: Batata inglesa por inhame ou mandioca, quando estes estiverem com preços menores).

É preciso ressaltar que não é porque uma pessoa se alimenta em casa, que ela está se alimentando bem, pois quando se cozinha um alimento por muito tempo, pode-se comprometer a obtenção dos nutrientes. E essas deficiências podem atingir tanto os ricos como os pobres. Uma pesquisa feita em classes médias e altas mostrou que grande parte dos entrevistados apresentavam deficiência na alimentação. Já que grande parte das deficiências nutricionais vem de uma alimentação desequilibrada, rica em gorduras, sem horários regulares ou com armazenamento inadequado, o que vem agravar o que foi colocado anteriormente. (Revista Istoé, 2000)

É compreensível a confusão que acontece com consumidores diante da quantidade de produtos que eles encontram nas prateleiras dos supermercados. Mas é bom lembrar que cada faixa etária, precisa de uma alimentação diferenciada. As crianças e os adolescentes: mais cuidado na alimentação de ferro, cálcio, vitaminas do complexo B e vitamina C. Grávidas e as lactantes: mais atenção às vitaminas A, C, B6, B12 e ao ácido fólico e ao ferro. E é bom também tomar cuidado na substituição de alimentos. "Cada alimento tem a sua função e quantia adequada na alimentação. É importante variar e comer de tudo. Proteínas, carboidratos, gordura, vitaminas e minerais", explica o pediatra Mauro Fisberg. (www.planeta.com.br)

Portanto, a alimentação é fundamental para manter a saúde de uma pessoa, por isso os consumidores estão sendo atraídos cada vez mais por indústrias que investem na saúde e no prazer, empresas têm investido em produtos que contêm ácidos Ômega3 e Ômega6 que ajudam reduzir as taxas de gordura no sangue.

E nesse caso não se trata de propaganda enganosa, pois foi constatado que os ômega3 funcionam e são importantes para bebês prematuros e crianças de até três anos. O especialista em nutrição infantil, Jan Taminiau, ressaltou: "Os estudos mostram que uma suplementação com os ômega3 é benéfica para o desenvolvimento infantil".

Esses alimentos podem ser conceituados da seguinte forma: Um tipo de produto considerado funcional porque age além de seus aspectos nutricionais básicos e pode ajudar no tratamento e na prevenção de doenças. O que lhe confere tal propriedade são os chamados compostos bioativos, que são substâncias de nomes estranhos, como licopeno, flavonóides e ômega3, por exemplo, naturalmente presentes nos alimentos – em sua

grande maioria nas verduras, nos legumes e nas frutas, e no caso do ômega em óleo de peixes e frutos do mar. Outros exemplos desse tipo de comida são os cereais com alto teor de fibra e também os leites fermentados contendo lactobacilos.

O enriquecimento dos Produtos destacados na Cesta Básica e Cesta Básica Nutricional elevariam o valor nutricional podendo-se manter o custo se receberem incentivos do governo e apoio das Instituições de Pesquisa.

Cabe ressaltar ainda que o consumo crescente de produtos enriquecidos, fortificados ou modificados (como os diferentes tipos de leite aromatizados, achocolatados, biscoitos, leites modificados) por uma população de poder aquisitivo alto (visto o custo atual elevado dessa categoria de produtos) pode, em contrapartida, provocar danos à saúde, pelo excesso de minerais e vitaminas, somados à alimentação já tão calórica e à vida estressante com pouca atividade física, agravando-se em alguns casos a saúde de crianças expostas diariamente às propagandas agregadas à "brindes pelo consumo" (produtos diferentes agregados ao alimento).

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BORÉM, A. & GIUDICE, M.P.D. *Variedades Transgênicas: Soluções ou ameaças?* Informe Agropecuário – Biotecnologia. Belo Horizonte: EPAMIG, v. 21. n. 204, mai/jun 2000, p. 14-17.

COSTA F. *Transgênicos nas prateleiras dividem opiniões*. Jornal Tribuna de Minas, Juiz de Fora, 6 de agosto de 2000.

ESKINAZI, M. *Novidades oferecem diferencial e trazem maior valor agregado aos produtos*. Alimentos e Tecnologia. São Paulo: Ipsi, n. 79, 1998, p. 30-34.

LERAYER, A L S et al. *Nova Legislação Comentada – de produtos light, diet*. São Paulo: Fonte comunicações, 1998, 212p.

RODRIGUES, N. MANPRINI, L. *O Transgênico já é parte da sua vida*. Revista Veja. São Paulo: Abril, n. 32, 2000, p. 123.

STRINGUETO, K. *Sirva-se com o melhor*. 21 de julho de 1999. ([http:// www.istoe.com.br](http://www.istoe.com.br))

Outras páginas visitadas:  
<http://www.planetavida.com.br>  
<http://www.cfm.com.br>

## EMPRESA RURAL: UMA VISÃO MODERNA DE ADMINISTRAÇÃO

Maria Cristina Drumond e Castro<sup>1</sup>

No artigo supra citado, a economista americana Roberta Cook, da Universidade da Califórnia, destacou alguns pontos que fortalecem esta posição:

- **Hábitos de consumo:** Demanda cada vez mais influenciada por crianças e jovens. Grande influência do "fast food" americano e do sabor global, em que marcas globais são responsáveis pela homogeneização das preferências alimentares.
- **Aumento de consumo:** Resultado do crescimento econômico e da renda.
- **Conveniência:** Demanda de alimentos de conveniência e fracionados em função da crescente participação da mulher no mercado de trabalho e redução do tamanho das famílias.
- **Saúde:** A crescente preocupação com a nutrição tem aumentado a demanda por linhas saudáveis de alimentos tipo "lean cuisine", "no fat", "free", "diet".
- **Nicho verde:** Segurança alimentar em relação ao uso de adubos químicos e agrotóxicos. Os consumidores manifestam desejo de comprar alimentos que não apresentem resíduos, inclusive durante o processo de produção.
- **Oportunidades:** Os empresários devem estar prontos para mudar o "mix" de produtos para atender às sinalizações do mercado.

A resistência à mudanças está levando muitas empresas do setor à estagnação e à morte lenta. Apavoradas diante do desconhecido, elas continuam aguardando mais tempo para se decidirem, sem saber que esse tempo é crucial, às vezes mortal e que não haverá mais tempo para reagir. Nem como retroceder.

Portanto, durante a crise é necessário ser criativo e buscar soluções para os problemas. Renovar os recursos, melhorar o desempenho e evoluir constantemente, são ferramentas indispensáveis neste cenário. Não é possível adiar ou tentar esconder os problemas e as ineficiências. Pois, a demora para reagir compromete a

### 1. POR QUE ADMINISTRAR?

Administrar hoje, significa gerenciar o futuro, estar atento aos impactos que as mudanças podem provocar nos ambientes das empresas e no mundo. Administrar, tomar decisões neste final de milênio envolve novo posicionamento diante dos desafios que têm sido colocados ao setor, exigindo posturas e atitudes diferentes das praticadas por antepassados, não permitindo que a tomada de decisão seja realizada empiricamente.

Com a mudança das regras do jogo, é necessário ampliar a visão de negócio deve gerar riqueza, lucro. É chegado o momento de inovar, de ter criatividade e rapidez nas decisões.

Muitos administradores preocupam-se apenas com decisões envolvendo a área de produção, esquecendo-se que a administração da empresa rural é muito mais ampla. As decisões tomadas refletem em todas as áreas, por isso é importante dimensioná-las e adequá-las à realidade.

### 2. ANÁLISE DO AMBIENTE EXTERNO

Isso equivale a dizer que as repercussões de outras administrações interferem na atual, principalmente em tempos de economia aberta. Portanto, torna-se necessária a análise do ambiente externo da empresa e o conhecimento das tendências que poderão afetar o gerenciamento da mesma; além de analisar internamente os recursos que favorecem ou não a continuidade de seu negócio.

Em recente estudo realizado por professores da Universidade de Purdue, nos Estados Unidos, investigou-se os principais impactos no mercado mundial de alimentos buscando apontar as tendências da agropecuária para o próximo milênio. O resultado desse trabalho assinala com mudanças drásticas decorrentes da globalização da economia e da mudança de hábitos de consumo traduzidos em maior instabilidade dos preços dos produtos. Soma-se à esse fato a morosidade das negociações da OMC (Organização Mundial do Comércio) e os problemas climáticos criados pelo El Niño. (GAZETA MERCANTIL, 1998)

<sup>1</sup> Economista (UFJF), especialista em Administração Rural (UFLA), professora de Economia do CT-ILCT. Rua Tenente Freitas, 116 – Juiz de Fora, MG. [ilct@ips.com.br](mailto:ilct@ips.com.br)

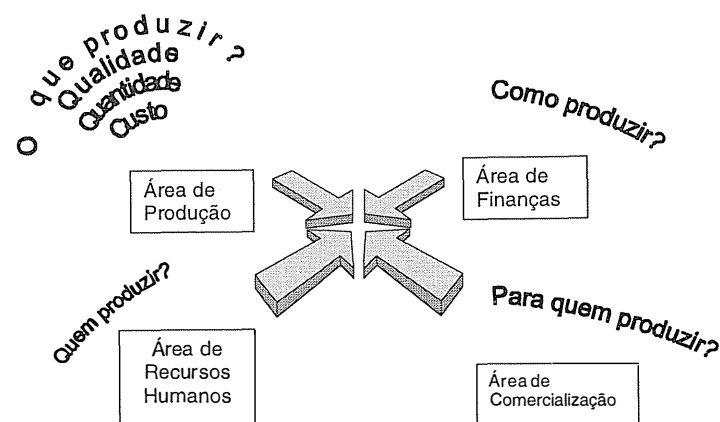


Figura 1 - Áreas da empresa rural

administração, e a ineficiência será traduzida não só pela descapitalização promovida com a venda de rebanho, dispensa de mão-de-obra, diminuição na margem, mas pelo abandono e pelo baixo nível de investimento.

Para os que não conseguem acompanhar o mercado, a saída é trabalhar em nichos específicos de mercado ou incorporar-se às estatísticas da informalidade.

### 3. PRINCIPAIS DESAFIOS DO SETOR LÁCTEO

Como ter uma indústria competitiva num mercado altamente competitivo se existem grandes restrições que inviabilizam o desenvolvimento do setor produtivo e os demais setores?

Alguns gargalos vislumbrados por técnicos que atuam no setor assinalam que o problema passa pela intensificação de mecanismos que garantam políticas públicas que priorizem o papel do governo junto aos produtores e estabeleçam mecanismos que suavizem os efeitos danosos causados pelas práticas de comércio internacional e minimizem as externalidades que afetam o setor.

O último relatório da FAO apontou o pequeno crescimento da produção de leite no mundo, exceto em alguns países como o Brasil, com taxas anuais de crescimento superiores a de vários países (IMAGEM RURAL DO LEITE, 1998). O Brasil tem caminhado para a auto-suficiência na produção de leite, apesar de ser historicamente caracterizado como grande importador de lácteos. JANK (1998), apresenta os dados sobre o crescimento do mercado no período 90-97 que apontam para o crescimento do mercado formal de leite e derivados em 17%, o mercado informal 40% e as importações 179%, no mesmo período.

Neste cenário convivem empresas brasileiras que atuam no setor de lácteos que exportaram US\$ 10 milhões em 1997, referente à venda de leite UHT, leite em pó, creme de leite, manteiga e queijos. (REVISTA GLEBA 1998, a), resultado do investimento em capacitação tecnológica, geração de novos produtos, processos com aprimoramento das características atuais que possibilitam a competitividade.

Vilela, Gomes e Calegar citados em CALDAS et al (1998), apontam que o Brasil tem um grande mercado potencial para produtos lácteos e condições favoráveis para produzir leite suficiente para suprir a demanda interna e gerar excedentes exportáveis. Nessa linha de raciocínio, ALVES (1998), afirma que é possível exportar. O maior problema está relacionado à sanidade do rebanho, ao custo de processamento, incluindo-se transportes e portos.

Outras barreiras têm dificultado o acesso de empresas à exportação tais como, sanitárias, medidas não tarifárias, subsídios, que têm sido avaliados e discutidos, destacando-se a participação da CNA, OCB e ABAG. (REVISTA GLEBA 1998,c)

Técnicos acreditam que se o governo federal implantar uma política de médio/longo prazos, não precisará importar, pois hoje, o Brasil é obrigado a importar 10% da produção nacional para atender a demanda, mas o volume adquirido tem sido o dobro disso, o resultado traz prejuízos para os produtores e redução no preço do leite recebido. (DIÁRIO DO COMÉRCIO, 1998)

### 4. PRINCIPAIS PONTOS PARA REFLEXÃO

**Excluídos** - Os pequenos produtores encarados como barreira social ao desenvolvimento da pecuária leiteira, devem passar por um processo de reconversão por meio de capacitação,

treinamento e ampliar suas atividades ou atuar em nichos específicos.

**Nível de conhecimento do produtor** - Vários diagnósticos (EMATER/MG E SEBRAE/MG entre outros) apontam o baixo nível de escolaridade e instrução que atestam a falta de conhecimento do produtor na adoção de tecnologias vulgarizadas e de fácil adoção, bem como a forma de organização social e na administração da propriedade.

**Heterogeneidade da produção** - A estrutura da cadeia reflete o pequeno poder de barganha do produtor em função da assimetria na produção (muitos produzindo pouco e poucos produzindo muito). O produtor está pressionado por duas estruturas organizadas tanto para a venda de insumos para a propriedade rural (oligopsônio) bem como pela indústria compra de seu produto (oligopólio). (Figura 2)

**Concentração industrial** - Processo que tem se intensificado nos últimos anos, em que as multinacionais adquirem escala com aquisição de empresas menos eficientes ampliando sua participação no mercado. Recentemente, um outro tipo de associação realizada pela Danone e a Mastellone na Argentina, teve como estratégia fortalecer sua participação no mercado brasileiro, com a aquisição da Leite Sol pela empresa argentina. (GAZETA MERCANTIL, 1998)

**Baixo nível de associativismo** - Diante da estrutura de mercado, este desafio torna-se mais acentuado, pois para enfrentar esta situação desfavorável (oligopsônio versus oligopólio) o pequeno produtor tem que se organizar na compra de insumos para propriedade, na venda conjunta da produção. A organização também fortalece a sua representação junto aos sindicatos, federações e permite que a classe seja ouvida, como recentemente nos movimentos SOS Leite.

**Baixa produtividade** - Analisando as estatísticas do setor, constata-se o índice de ineficiência

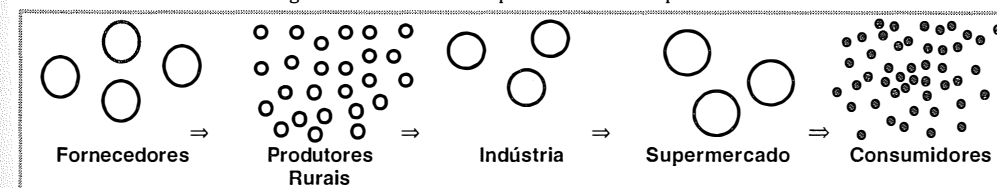
pois, ainda ocupamos posição constrangedora no cenário internacional, com baixíssimo índice de produtividade. É notório que o estoque disponível de tecnologia é suficiente para melhorar em muito esta realidade.

**Qualidade do leite** - Caracterizada pela existência de matéria-prima de baixa qualidade e em pequena escala pela maioria esmagadora de produtores no país, vislumbra-se que o processo de granelização do leite acene com a melhoria da qualidade, já que este leite será entregue em melhores condições do que a atual permitindo que, em curtíssimo prazo, receber 100% do leite resfriado nas grandes indústrias, (REVISTA LEITE BRASIL, 1998). Mas para haver melhoria na qualidade do leite entregue para processamento, ainda é necessário muito trabalho de informação e sensibilização para que sejam mantidas as características intrínsecas do produto, que venham a agregar valor por meio da conscientização de práticas de obtenção higiênica da matéria-prima e normas que possibilitem o resfriamento, e que sejam revertidas em ganhos aos produtores.

**Necessidade de gerência fina** - Cada propriedade é um caso a ser analisado em particular. A administração deverá levantar informações por meio de levantamentos ou diagnósticos sobre as áreas da empresa rural. A etapa seguinte consiste na análise desses dados em grupo em que serão conhecidos os principais gargalos. Existem várias metodologias, como apontam os estudos da UFLA, Grupos GEPAI e PENSA, entre outros; e em especial as ferramentas da qualidade total são bem aplicáveis e facilitam a visualização do processo. Seleccionadas as possíveis soluções, deverão ser discutidas com especialistas e só depois implementadas.

**Tomada de decisão** - torna-se mais fácil quando o problema está quantificado e bem diagnosticado, problemas que são levantados sem informações suficientes, tornam-se difíceis de serem mensurados e portanto, complicam a tomada de decisão. Cada propriedade tem suas peculiaridades, como mão-de-obra, relevo,

Figura 2 - Ambiente Operacional da empresa rural



Fonte: Notas de aula - UFLA.

produção de alimentos, capital imobilizado, comercialização dos produtos etc., que necessitam análises particulares. Portanto, cada caso é um caso. Não existe pacote (ou modelo) fechado para adoção, cada administrador tem que gerenciar a propriedade de acordo com suas potencialidades e fragilidades, e analisar os impactos que possam advir do ambiente externo à propriedade.

**Assistência técnica** - Ainda existe um longo caminho a ser percorrido entre as Instituições e o produtor, pois é do conhecimento geral que é satisfatório o estoque de tecnologia para alavancar a produção nacional, que ainda apresenta os índices medíocres de produtividade. Isso denota a falta de cooperação e integração da cadeia do leite.

**Enfoque sistêmico** - BATALHA et al.(1997), considera que num enfoque sistêmico todo sistema evolui no espaço e no tempo em função das mudanças internas e externas ao sistema. Uma cadeia de produção agro-industrial também estará sujeita a mudanças ao longo do tempo.

Muitas empresas sofrem neste estado de espera, por não vislumbram as mudanças das regras do jogo. Os administradores continuam presos a conceitos arraigados e preferem esperar mais um pouco, mas a grande maioria não consegue sobreviver nem mesmo salvar o patrimônio de sua empresa.

Citando Almir Meireles, "Cooperativa quebrada ou liquidada não tem papel social..."

continua... sem ganhar escala, adotar sistemas de remuneração que gerem matéria-prima com qualidade, sem rapidez no atendimento, as cooperativas não conseguirão sobreviver. Nenhuma outra empresa conseguirá." (MEIRELES, 1996)

## 5. ANÁLISE DO AMBIENTE INTERNO

A visão estratégica do empresário rural deverá ser alicerçada nos pontos fortes e fracos de sua empresa. O empresário rural deverá ter definidos a missão, objetivos, metas, e os valores de sua empresa em seu planejamento estratégico.

O empresário que possui visão estratégica sabe onde a empresa deve ir, tem objetivos definidos e metas estabelecidas para alcançar. É importante que possa identificar as funções de planejamento, direção e controle em todas as áreas (produção, recursos humanos, finanças e comercialização).

Em um planejamento estratégico da produção, o primeiro passo é identificar os objetivos do produtor ou da empresa rural. Definidos os objetivos, a fase seguinte é analisar a empresa e o ambiente no qual ela está inserida. A análise da empresa, do empresário e estilo de administração – pontos fortes e fracos, devem abordar os seguintes aspectos:

Todas informações serão utilizadas para o levantamento da situação atual da empresa (ou o diagnóstico) e a etapa seguinte será a análise dessas informações que auxiliarão o empresário para a tomada de decisão.

Figura 3 - Esquema ilustrativo de um diagnóstico com o uso da técnica de ASPG - Qualidade total.

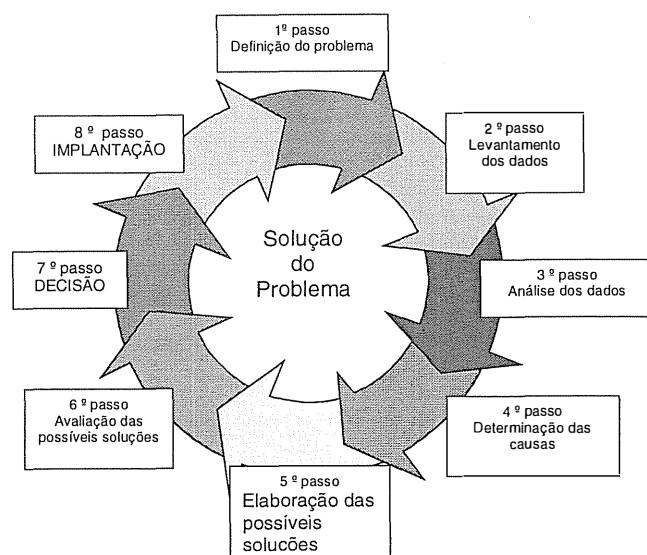


Tabela 1 - Ilustração do Esquema de Ambiente Interno e Externo.

Ambiente Interno	Ambiente Externo
Área plana, mecanizável.	Mercado em ascensão
Fertilidade do solo	Cooperativa com departamento de assistência técnica
Capacidade gerencial do proprietário.	Preços de mercado atrativos
Vias de acesso, disponibilidade de água e energia elétrica	Possibilidade de importação deste produto nos próximos anos
Disponibilidade de recursos financeiros próprios	Proximidade do centro consumidor
Benfeitorias- lay-out/ utilização adequada (Casa de Colonos...)	Pesquisas de preços dos insumos
Mão-de-obra especializada	Margens de comercialização
Dimensionamento das máquinas, ultrapassadas ou não.	Canais de distribuição

Fonte: Notas de aulas, UFLA.

## 6. CONCEITOS UTILIZADOS EM PLANEJAMENTO

**Capacitações Estratégicas** - São os pilares que sustentam as estratégias, são os "diferenciais" a serem enfatizados com as estratégias, são focos potenciais para o desenvolvimento estratégico da empresa.

**Oportunidades** - São fatores estratégicos que podem melhorar o ritmo do desenvolvimento de uma organização. (Conhecimento de mercado, tecnologia, atendimento, recursos adequados).

**Ameaças** - São fatores estratégicos externos que podem prejudicar o ritmo de desenvolvimento de uma organização.

**Cenários** - Identificação das variáveis que interferem no dia-a-dia da empresa. Possibilita visualizar o ambiente da empresa, promovendo ações planejadas, planos e decisões rápidas e de sucesso.

**Fragilidades e potencialidades (Pontos fracos e fortes)** - Recursos ou aptidões que a empresa necessita ou tem e deve explorar.

**Negócio** - Corresponde ao espaço que a organização pretende ocupar em relação às demandas ambientais. Satisfazer consumidores ou usuários é o negócio básico da empresa.

**Missão** - É o objetivo da atuação da Empresa. Razão de sua existência e delimitação de suas atividades dentro do espaço que deseja ocupar em relação às oportunidades de negócio.

**Objetivos** - Onde se pretende chegar, alvo a ser atingido, padrões qualitativos de desempenho.

**Metas** - Quantificação dos objetivos, padrões quantitativos de desempenho.

**Políticas** - regras, princípios.

A empresa do futuro deverá ser enxuta: "melhor, menor e diferente" e mais rápida. O empresário do futuro deverá "aprender a aprender", pois o aprendizado é constante. Da mesma forma que deverá "aprender a esquecer" procedimentos considerados ultrapassados, para que possa acompanhar a evolução do mercado.

### Vantagens do Planejamento

1. Estimula a habilidade de pensar a organização
2. Contribui para a integração de esforços
3. Propicia diálogo franco entre os setores
4. Evita improvisações e desperdícios
5. Induz à criatividade e predispõe a mudanças
6. Propicia o re-exame, a reavaliação dos objetivos da empresa.
7. Obriga a empresa a tornar explícitos a missão, objetivos, filosofia e as políticas.
8. Possibilita projetar melhores resultados, devido ao diagnóstico dos setores
9. Cria mecanismos de avaliação e acompanhamento.
10. Estimula a habilidade de pensar a organização
11. Contribui para a integração de esforços
12. Propicia diálogo franco entre os setores
13. Evita improvisações e desperdícios
14. Induz à criatividade e predispõe a mudanças
15. Propicia o re-exame, a reavaliação dos objetivos da empresa.
16. Obriga a empresa a tornar explícitos a missão, objetivos, filosofia e as políticas.
17. Possibilita projetar melhores resultados, devido ao diagnóstico dos setores

Fonte: Notas de aula, ABAR/1998.

## 7. ALGUNS CUIDADOS A SEREM OBSERVADOS

1. **Resistência a "medir"** - o processo de coleta de dados e anotação de informações é constante, para que possa resultar em ações corretas. Sistema de medições inconstantes levam a informações inseguras, dificultando a tomada de decisão.
2. **Inadaptação do sistema ao ciclo de melhorias** - Deve-se criar uma estrutura que permita a adaptação e diminua a resistência às mudanças.
3. **Falta de habilidade para saber "o que" e "como fazer"** - Educação e treinamento constante.
4. **Falta de adesão e paciência** - O comprometimento deve ser total, do proprietário e de todos os trabalhadores, todos falando a mesma linguagem, para que sejam alcançados os objetivos propostos.
5. **Falta de persistência e perícia para planejar e executar** - O planejamento só será eficaz se houver conhecimento do negócio, missão da empresa e clareza de informações.
6. **Fixar metas que possam ser atingidas** - Todo processo é variável, metas impossíveis desestimulam a equipe. Para começar a caminhada é preciso o primeiro passo.
7. Verificar sempre a conexão entre a empresa e o ambiente externo.
8. Os indicadores de desempenho devem gerar conhecimento para a gerência, sendo atualizados e sistematizados.
  - Levantando pontos relevantes para a empresa.
  - Criando processos de medição disciplinados
  - Devendo refletir os sete resultados-chave da empresa:
    1. Eficiência
    2. Competência
    3. Qualidade do produto
    4. Produtividade
    5. Inovação
    6. Qualidade de vida das pessoas
    7. Lucratividade da empresa

Para Kotler, existem cinco tipos de empresas: Aquelas que *fazem* as coisas acontecerem, aquelas que *acham* que fazem as coisas acontecerem, aquelas que *observam* as coisas acontecerem, aquelas que *surpreendem* quando

as coisas acontecem e aquelas que nem sabem o que aconteceu.

*A grande pergunta é: Que tipo de empresa é a sua, onde você deseja estar no próximo milênio?*

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, E. *Evolução da Organização do Mercado Lático no Brasil*. Boletim do Leite. Ano 5, n. 53, agosto 1998, CEPEA/USP/FEALQ.

BATALHA, M. O et al. *Gestão Agroindustrial*. Grupo GEPAI, Editora Atlas, São Paulo, 1997, 573p.

CALDAS, R. et al. *Agronegócio Brasileiro: Ciência, Tecnologia e Competitividade*. CNPq, Brasília, 1998, 275 p. Capítulo Agronegócio em leite e Derivados: Um programa Nacional em C & T.

DIÁRIO DO COMÉRCIO. ALVIM, R. S. *Portaria Ministerial agrada a produtores de Minas Gerais*. Belo Horizonte, 16 de outubro de 1998.

FOLHA DE SÃO PAULO. Caderno Agrofolha - *Economia Global vai mudar gerenciamento na fazenda*. São Paulo, 13 de outubro de 1998, p. 5.

GAZETA MERCANTIL. *Mastellone quer ampliar mercado*. Belo Horizonte, 05 a 11 de outubro de 1998.

JANK, M. S. E GALAN, V.B. *Competitividade do Sistema Agroindustrial do Leite*. Revista Indústria de Laticínios. Ano 2, n. 12, novembro/dezembro de 1997. (48-55p)

MEIRELES, A. J. *A desRazão Laticinista - A Indústria de Laticínios no último Quartel do Século XX*. Cultura Editores Associados, 1996. 1ª edição, São Paulo, SP, 268 p.

REVISTA GLEBA (a) - Informativo CNA, ano 43, n. 150, junho de 1998. *Setor Lático abre caminho para os negócios no exterior*. (9-10p)

REVISTA GLEBA (b) - Informativo CNA, ano 43, n. 152, agosto de 1998. (6-7p)

REVISTA GLEBA (c) - Informativo CNA, ano 43, nº 153, setembro de 1998. *Começam as negociações sobre agricultura no Acordo da Alca*. (6-7p)

REVISTA IMAGEM RURAL DO LEITE. Ano 5, n. 52, julho de 1998, 20-22p.

REVISTA LEITE BRASIL. Ano 1, nº 6, julho de 1998.

## ANÁLISE DE LINHAGENS DE ESCHERICHIA COLI ISOLADAS DO "LEITE BOVINO MASTÍTICO"

Maria da Graça Portantiolo Corrêa<sup>1</sup>

Inivaldo Corrêa<sup>2</sup>

José Moacir Marin<sup>3</sup>

Adauto de Matos Lemos<sup>4</sup>

## RESUMO

A mastite é considerada a doença mais onerosa que afeta o rebanho leiteiro se for considerado um longo período de avaliação. A perda econômica advém do aumento do custo de produção e da diminuição na produtividade do rebanho. Entre março/97 a agosto/98 coletou-se 2002 amostras de *leite bovino mastítico* e a partir destas amostras foram isoladas 169 linhagens de *E. coli* sendo que 132 destas linhagens tiveram o seu antígeno somático (sorogrupo) determinado.

Linhagens de *E. coli* enteropatogênicas, há muito tempo são reconhecidas como o principal patógeno responsável por diarreia infantil no Brasil e o gado vem sendo considerado um importante reservatório de *E. coli*, incluindo linhagens EPEC. Doze diferentes sorogrupos EPEC foram isolados das amostras de *leite mastítico*, entre eles: 026, 055, 0111 e 0119 que são considerados patógenos humanos.

Através do uso de uma sonda específica para linhagens EPEC, o fragmento de 1,0 Kb BamHI-Sall digerido do plasmídeo pJPN16 foram encontradas algumas linhagens EPEC entre as *E. coli* isoladas, o que representa um risco para a contaminação humana.

A linhagem O157:H7 de *E. coli* não foi detectada entre as amostras utilizadas neste estudo.

## INTRODUÇÃO

Caracterizada como um processo inflamatório da glândula mamária, a mastite pode ser fruto de traumas, alergias ou uma simples alteração no organismo do animal, como o que ocorre no pós-parto das vacas, antes do leite começar a sair. Os maiores riscos no entanto, ficam por conta da mastite infecciosa, a qual pode ser provocada por bactérias ou fungos, sendo que as bactérias se apresentam como os principais agentes etiológicos (Eberhart *et al.*, 1979).

A mastite de natureza infecciosa tem duas formas de se manifestar. Em uma delas é possível constatar sintomas visíveis, como alterações no úbere e no leite secretado. A glândula mamária fica inchada, intumescida e quente, o leite se apresenta com grumos ou flocos, é a chamada mastite clínica a qual pode provocar depressão, perda de apetite podendo chegar à infecção generalizada e a morte. Entretanto, a maior parte dos casos da doença não apresentam tais sintomas visíveis, a não ser uma redução na produção do

leite, é a mastite subclínica, que se espalha mais facilmente pelo rebanho. Estima-se que para cada caso de mastite clínica existam pelo menos 20 outros casos de mastite subclínica (Hogan *et al.*, 1989; Smith *et al.*, 1985).

As mastites subclínicas mesmo sem apresentarem sintomas são capazes de alterar a composição do leite, tais como: aumento da contagem de células somáticas (CCS), aumento dos teores dos íons cloro e sódio, diminuição nos teores de caseína, lactose e gordura do leite, o que limita a exploração econômica do rebanho. Segundo Costa (1998), estudos recentes no Brasil envolvendo os estados de São Paulo e Minas Gerais avaliaram que a relação da mastite clínica com a subclínica é de 17,45% e 71,56%, respectivamente. Ainda, segundo a autora, os gastos com prevenção, estão em torno de US\$ 24.55 vaca/ano, enquanto que as perdas devido a mastite subclínica podem alcançar US\$ 329.34 vaca/ano.

O desenvolvimento de tecnologias adequadas permitiram o controle da mastite infecciosa provocada por *Streptococcus agalactiae* e

- 1 Médica Veterinária, aluna de Mestrado do Departamento de Microbiologia da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal da UNESP
- 2 Médico Veterinário, Diretor Técnico do Laboratório Vitafort Ltda
- 3 Professor Doutor do Departamento de Morfologia, Estomatologia e Fisiologia da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da USP
- 4 Professor/Pesquisador do Centro Tecnológico/Instituto de Laticínios Cândido Tostes da Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais - EPAMIG-CT/ILCT.

*Staphylococcus aureus*, entretanto, estas mesmas tecnologias são inadequadas para o controle da mastite provocada por um patógeno ambiental.

Os patógenos primários das mastites ambientais são as bactérias Gram negativas e dentre estas, as mais freqüentemente associadas às mastites bovinas são os coliformes, especialmente a *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes* e *cloacae*, *Klebsiella spp* e em menor proporção *Serratia*, *Pseudomonas* e *Proteus* (Eberhart *et al.*, 1979).

A incidência de mastite provocada por *E. coli* tem aumentado nas últimas duas décadas em diversos países (Fang e Pyoral, 1996). Além disso, a mastite pode se tornar uma ameaça à saúde pública em função do potencial de risco de transmissão dos agentes infecciosos para o homem, ao consumir leite e ou derivados que não passaram por processo de tratamento térmico que assegure a eliminação de prováveis agentes microbianos prejudiciais ao consumidor.

O gado bovino representa um reservatório natural para muitas cepas de *E. coli* enteropatogênicas (EPEC), enterotoxigênicas (ETEC) e enterohemorrágicas (EHEC/VTEC), as quais em determinado momento, se tornam predominantes na flora intestinal, o que pode provocar diversas alterações no animal, das quais a mastite é uma das mais comuns (Barrow e Hill, 1989).

A contaminação da carne ou do leite, representa um sério risco a saúde humana, uma vez que diversos sorotipos de *E. coli* encontrados em bovinos como agentes infecciosos, também são responsáveis por doenças em humanos, especialmente diarreia aguda em crianças e adultos (Montenegro *et al.*, 1990; Chapman *et al.*, 1993; Ansay e Kaspar, 1997).

Particularmente no Brasil, as cepas de *E. coli* enteropatogênicas (EPEC) representam um dos principais patógenos responsáveis por diarreia em crianças com menos de um ano, sendo continuamente detectados como dominantes os sorogrupos O111 e O119 (Gomes *et al.*, 1991; Rosa *et al.*, 1998; Almeida *et al.*, 1998).

O objetivo deste trabalho foi verificar a incidência de *E. coli* no leite bovino mastítico coletado em 728 propriedades distribuídas em 05 estados brasileiros por um período de 17 meses. Além disso, realizar a identificação das cepas de *E. coli* isoladas, com o intuito de avaliar os riscos existentes para os seres humanos.

## MATERIAIS E MÉTODOS

### Esquema de coleta do leite

Inicialmente os animais afetados foram classificados em relação à mastite:

**Clínica:** Identificação pela presença de grumos na caneca de fundo preto ou sinais de inflamação.

**Subclínica:** Identificação através de testes realizados ao pé da vaca, foi utilizado o CMT (California Mastite Teste) Schalm *et al.*, 1971).

A coleta de leite para cultura foi realizada após a desinfecção da teta da vaca com solução desinfetante a base de iodo ou cloro, tomando-se o cuidado de desinfetar também as mãos do operador. Foram desprezados os 3 primeiros jatos de leite, em seguida foi realizada a coleta dentro de uma seringa hipodérmica descartável, seguida pela inoculação de 0,5 cm<sup>3</sup> de leite coletado no interior de frasco, tipo penicilina, contendo meio de cultura para transporte (caldo nutriente - Biobras).

Após a coleta as amostras foram remetidas imediatamente para o laboratório de análise.

### Isolamento de Cepas Bacterianas

Com auxílio da alça de platina foram coletadas amostras do meio de transporte e sementeas através de estrias em placa de Petri contendo meio MacConkey e MacConkey sorbitol-telurite. Também foi realizado um esfregaço para análise direta (coloração de Gram). As colônias que cresceram em MacConkey foram sementeas em Rugai modificado. Uma vez isolada como provável *E. coli*, a cepa foi semeada na série bioquímica correspondente (Bergey's, 1994) para a confirmação de identificação.

### Sorotipagem

As cepas isoladas de *E. coli* foram classificadas através da utilização de antisoros polivalentes e monovalentes da Probac (São Paulo) para *E. coli* enteropatogênica. As cepas de *E. coli* sorbitol negativa foram submetidas à aglutinação com o Latex Test Kit - DR622 (Oxoid) específico para detecção de *E. coli* O157 (Chapman *et al.*, 1994).

### Técnicas Moleculares

Para extração do DNA plasmidial foi utilizado o método de lise alcalina (Sambrook *et al.*, 1989). As demais técnicas envolvendo digestão enzimática, eletroforese e Southern blot também foram realizadas como descrito por Sambrook *et al.* (1989). Como sonda foi utilizado um fragmento de 1,0 Kb digerido por BamHI - Sal I do plasmídio pJPN16 (Nataro *et al.*, 1985) contendo a sequência plasmidial EAF (*E. coli* adherence factor) característica de *E. coli* enteropatogênica. Este plasmídio foi fornecido

pela Dra. Tânia A. Tardelli Gomes da Escola Paulista de Medicina - UNIFESP.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

No período compreendido entre março de 1997 a agosto de 1998 foram realizadas coletas de leite de vacas acometidas de mastite clínica ou subclínicas em 721 propriedades leiteiras distribuídas em 05 estados brasileiros. (Figura 1).

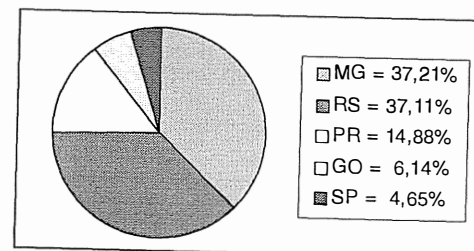


Figura 1 - Distribuição das amostras de leite coletadas em 5 estados brasileiros

Do total de 2002 amostras analisadas, foram isoladas 169 cepas de *E. coli*, das quais 132 apresentaram um sorogrupo específico. A tabela 1, apresenta a distribuição das cepas de *E. coli*, por sorogrupo e por estado e fornece um resultado interessante, pois permite verificar que 132 cepas (78,1%) foram classificadas em apenas 12 sorogrupos, enquanto que Linton *et al.* (1979),

Tabela 1 - Distribuição dos sorogrupos de *Escherichia coli* por estado

Soro-grupo	Número de amostras	MG	RS	PR	GO	SP
O111	15	06	02	05	02	00
O26	16	06	07	02	01	00
O125	13	10	00	01	02	00
O158	11	02	02	02	05	00
O119	12	04	03	03	02	00
O55	12	06	05	01	00	00
O86	12	06	00	03	00	03
O127	09	06	00	02	01	00
O142	10	04	03	01	00	02
O114	09	06	01	02	00	00
O126	07	02	05	00	00	00
O128	06	04	01	01	00	00
Total dos sorogrupos	132	62	29	23	13	05
<i>E. coli</i> não identificada	37	18	12	06	01	00
TOTAL	169	80	41	29	14	05

analisaram 279 cepas, das quais 217 (77,1%) foram O sorotipadas, apresentando 67 sorogrupos diferentes.

Wilson *et al.* (1992), identificaram 26 diferentes sorogrupos em amostras de swab retal coletadas de vacas leiteiras em Ontario, Canada. De um modo geral, os sorogrupos identificados são mais característicos de espécie bovina, como por exemplo O2, O4, O8 O20 (Wells *et al.*, 1991; Beutin *et al.*, 1993). Entretanto, Montenegro *et al.* (1990) verificaram que 40% das cepas de *E. coli* isoladas de gado bovino saudável, pertenciam a sorogrupos que eram reconhecidos como patógenos ao homem.

Nas 132 cepas identificadas, a presença de 2 sorogrupos específicos deve ser ressaltada, os sorogrupos O111 e O119, reconhecidamente os mais importantes sorogrupos envolvidos em diarreia infantil, no Brasil nas 2 últimas décadas (Gomes *et al.*, 1989; Gomes *et al.*, 1991; Rosa *et al.*, 1998).

A tabela 2 apresenta a porcentagem de mastite bovina devido a *E. coli* em cada estado analisado e apresenta uma forma grosseira de avaliação do nível de contaminação ambiental nas fazendas analisadas em cada estado. Este nível de contaminação ambiental se mostrou elevado, pois segundo Smith *et al.* (1985), os rebanhos leiteiros dos Estados Unidos apresentam de 1,3 a 3% de mastite ambiental por *E. coli*, enquanto que a média dos valores obtidos neste trabalho apresentaram o triplo deste valor. Campos (1993), avaliou que 3 em cada 10 vacas apresentam mastite no Brasil, que resulta em uma perda de US\$ 1.5 bilhão/ano.

Tabela 2 - Distribuição dos casos de mastite bovina devido a *Escherichia coli* em 5 estados brasileiros

Estados da Federação	MG	RS	PR	GO	SP
Número de amostras de leite mastítico	745	743	298	123	93
Número de cepas de <i>E. coli</i> identificadas	80	41	29	14	05
Porcentagem de mastite por <i>E. coli</i> (%)	10,73	5,51	9,73	11,38	5,37

Baldini *et al.* (1983) demonstraram que a habilidade das linhagens EPEC de aderirem as células, é dependente da presença de um plasmídio de 60 MDa, sendo que a perda do plasmídio levou à perda deste fenótipo, sendo portanto denominado EAF (EPEC adherence factor).

Com a finalidade de comprovar a presença de plasmídios nas cepas isoladas de *E. coli*,

realizamos a extração de DNA plasmidial de cepas dos sorogrupos de maior interesse (figura 2). Determinadas cepas mostraram a presença de mais de um plasmídio, por exemplo, a cepa 585-1 (0119) e 1048 (0111). Uma vez verificada a presença de plasmídios, foi necessário determinar se estes plasmídios eram de tipo EAF característico de cepas EPEC.

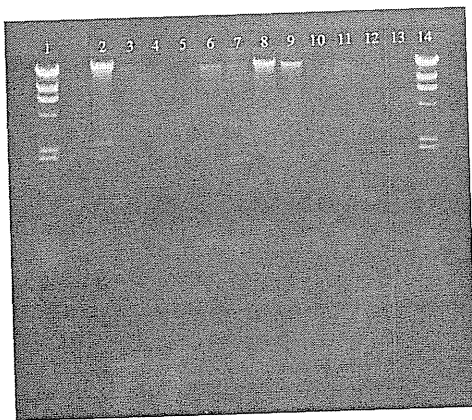


Figura 2 - DNA plasmidial de cepas de *Escherichia coli*.

Segundo Nataro e Kaper (1998), determinados sorogrupos como: 026, 0111 e 0119, caracterizam cepas de *E. coli* enteropatogênicas (EPEC), porém, estes mesmos sorogrupos, também abrigam cepas enterohemorrágicas (EHEC). Assim, para averiguar esta possibilidade, aplicamos a técnica de Southern blot (Southern, 1975), utilizando como sonda, um fragmento de 1,0 Kb Bam HI-Sal I do plasmídio pJPN16 (Nataro *et al.*, 1985), contendo a sequência plasmidial EAF (figura 3). Podemos verificar na figura 3, a presença de algumas cepas de *E. coli* apresentando uma hibridação específica com a sonda EAF.

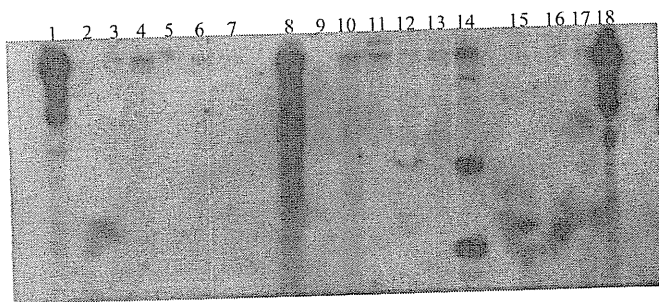


Figura 3 - Southern blot de DNA plasmidial de *E. coli*.

Wilson *et al.* (1996) analisaram as amostras fecais de 335 residentes de fazendas e 1458 vacas em 80 fazendas, recuperando o mesmo sorotipo em bovinos e humanos em algumas fazendas.

O trabalho de Gyles *et al.* (1998) demonstrou que a presença dos fatores de virulência estão relacionados aos sorotipos e parecem ser independentes da procedência da cepa isolada. Assim, cepas de seres humanos e de bovinos pertencentes ao mesmo sorotipo, exibem modelos similares de patogenicidade, o que garante a possibilidade de transmissão e estabelecimento de colonização do intestino humano por cepas de origem bovina.

Riley *et al.* (1983), relataram a eclosão de casos de infecção associados a diarreia aguda sanguinolenta provocada por um tipo específico de *E. coli* de sorotipo 0157:H7 nos Estados Unidos, sendo reconhecido como agente de transmissão a carne bovina contaminada (hambúrguer). Doenças relacionadas a *E. coli* 0157:H7 passaram a ser consideradas importantes devido ao número crescente de episódios de infecção por diarreia sanguinolenta (Ostroff *et al.*, 1989; Griffin *et al.*, 1991).

Chapman *et al.* (1993), provaram de forma definitiva, que os bovinos representavam um reservatório para este sorotipo, estando presente não apenas em gado sofrendo de diarreia, mas também foi encontrado em gado saudável (Griffin e Tauxe, 1991). Não somente a carne, mas também o leite e derivados do leite foram comprovados como veículo de transmissão deste sorotipo de *E. coli* por Ansay e Kaspar (1997).

Nas análises realizadas não foi encontrada nenhuma cepa de *E. coli* 0157:H7, que parece estar ausente do território brasileiro.

### CONCLUSÕES

De acordo com os resultados podemos concluir que:

- O nível de mastite ambiental no Brasil se mostrou elevado.
- As mastites ambientais associadas à *E. coli*, apresentaram determinados sorogrupos, 0111 e 0119 que são considerados importantes causadores de diarreia infantil no Brasil.
- Através de técnicas moleculares demonstrou-se que as cepas de *E. coli* isoladas de bovinos apresentaram o plasmídio EAF, característico de *E. coli* enteropatogênica e portanto passíveis de transmissão para o homem, o que representa uma ameaça à saúde pública.
- Não foi detectada nenhuma cepa de *E. coli* 0157:H7 enterohemorrágica.

### SUMMARY

Mastitis has been recognized for some time as the most costly disease in dairy herds. Mastitis creates economic loss for producers by increasing costs of production and by decreasing productivity. Between march/97 through august/98 we collected 2002 samples of bovine mastitic milk, from them 169 *Escherichia coli* strains were isolated, and 132 strains had the somatic antigen (serogroup) determined.

Enteropathogenic *E. coli* (EPEC) strains since a long time has been recognized as a major pathogen for diarrhea in children in Brazil and the cattle has been considered a major reservoir of *E. coli* including EPEC strains.

Twelve different EPEC serogroups were isolated from mastitic milk, and between them 026, 055, 0111 and 0119 considered as human pathogen.

By using a specific probe for EPEC strains, the plasmid pJPN16 1.0Kb BamHI-SalI fragment we found some EPEC strains in the *E. coli* isolates from bovines what represents a risk for human contamination.

*E. coli* 0157:H7 strain was not detected in the isolates.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, M.T.G.; SILVA, R.M.; DONAIRE, L.M.; MOREIRA, L.E.; MARTINEZ, M.B. Enteropatógenos associados com diarreia aguda em crianças. *Jornal de Pediatria*, v. 74, p. 291-298, 1998.

ANSAY, S.E.; KASPAR, C.W. Survey of retail cheeses, dairy processing environments and raw milk for *Escherichia coli* 0157:H7. *Letters in Applied Microbiology*, v. 25, p. 131-134, 1997.

BALDINI, M.M.; KAPER, J.B.; LEVINE, M. M.; CANDY, D.C.A.; MOON, H.W. Plasmid-mediated

adhesion in enteropathogenic *Escherichia coli*. *Journal of Pediatric Gastroenterology Nutrition*, v. 2, p. 534-538, 1983.

BARROW, P.A.; HILL, A.W. The virulence characteristics of strains of *Escherichia coli* isolated from cases of bovine mastitis in England and Wales. *Veterinary Microbiology*, v. 20, p. 35-48, 1989.

BERGEY'S manual of determinative bacteriology ed. Copyright John G. Holt. et al 9th ed, Baltimore USA, p. 179-180, 1994.

BEUTIN, L.; GEIER, D.; STEINRUCK, H.; ZIMMERMANN, S.; SCHEUTZ, F. Prevalence and some properties of verotoxin (Shiga-like toxin) producing *Escherichia coli* in seven different species of healthy domestic animals. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 33, p. 631-635, 1993.

CAMPOS, V. Um bom controle evita prejuízos e garante a prevenção. *Balde Branco*, v. 341, p. 18-22, 1993.

CHAPMAN, P.A.; DALY, C.M. Cattle as a possible source of verocytotoxin producing *Escherichia coli* O157 infections in man. *Epidemiology and Infection*, v. 111, p. 439-447, 1993.

CHAPMAN, P.A.; WRIGHT, D.J.; SIDONS, C.A. A comparison of immunomagnetic separation and direct culture for the isolation of verocytotoxin-producing *Escherichia coli* O157 from bovine faeces. *Journal of Medical Microbiology*, v. 40, p. 424-427, 1994.

COSTA, E.O. Mastite os números do seu prejuízo. *Balde Branco*, v. 407, p. 42-44, 1998.

EBERHART, R.J.; NATZKE, R.P.; NEWBOULD, F.H.S.; NONNECKE, B.; THOMPSON, P. Coliform Mastitis : A review. *Journal of Dairy Science*, v. 62, p. 1-22, 1979.

FANG, W.; PYORAL, S. Mastitis-causing *Escherichia coli* : Serum sensitivity and susceptibility to selected antibacterials in milk. *Journal of Dairy Science*, v. 79, p. 76-82, 1996.

GOMES, T.A.T.; VIEIRA, M.A.M.; WACHSMUTH, I.K.; BLAKE, P.A.; TRABULSI, L.R. Serotype specific prevalence of *Escherichia coli* strains with EPEC adherence factor genes in infants with and without diarrhea in São Paulo, Brazil. *The Journal of Infectious Diseases*, v. 160, p. 131-135, 1989.

GOMES, T.A.T.; RASSI, V.; MACDONALD, K.L.; RAMOS, S.R.T.S.; TRABULSI, L.R.; VIEIRA, M.A.M.; GUTH, B.E.C.; CANDEIAS, J.A.N.; IVEY, C.; TOLEDO, M.R.F.; BLAKE, P.A. Enteropathogens associated with acute diarrheal disease in urban infants in São Paulo, Brazil. *Journal of Infectious Diseases*, v. 164, p. 331-337, 1991.

GRIFFIN, P.M.; TAUXER, R.J. The epidemiology of infections caused by *Escherichia coli* O157:H7, other Enterohemorrhagic *E.coli* and the associated hemolytic uremic syndrome. *Epidemiologic Reviews*, v. 13, p. 60-98, 1991.

GRIFFIN, P.M.; AND? Illnesses associated with *Escherichia coli* O157:H7 infections. *Annals of Internal Medicine*, v. 109, p. 705-712, 1988.

GYLES, C.; JOHNSON, R.; GAO, H. ZIEBELL, K.; PIERARD, D.; ALEKSIC S.; BOERLIN, P. Association of enterohemorrhagic *Escherichia coli* hemolysin with serotypes of Shiga-like toxin producing *E.coli* of human and bovine origins. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 64, p. 4134-4141, 1998.

HOGAN, J.J.; SMITH, K.L.; HOBLET, K.H.; SCHOENBERGER, P.S.; TODHUNTER, D.A.; HUESTON, W.D.; PRITCHARD, D.F.; BOWMAN, G.L.; HEIDER, L.E.; BROCKETT, B.L.; CONRAD, H.R.. Field survey of clinical mastitis in low somatic cell count herds. *Journal of Dairy Science*, v. 72, p. 1547-1556, 1989.

LINTON, A.H.; HOWE, K. A note on the range of *Escherichia coli* O-serotypes causing clinical bovine mastitis and their antibiotic resistance spectra. *Journal of Applied Bacteriology*, v. 46, p. 585-590, 1979.

MONTENEGRO, M.A.; BULTE, M.; TRUMPF, T.; ALEKSIC, S.; REUTER, G.; BULLING, E.; HELMUTH, R. Detection and characterization of fecal verotoxin producing *Escherichia coli* from healthy cattle. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 28, p. 1417-1421, 1990.

NATARO, J.P.; KAPER, J.B. Diarrheagenic *Escherichia coli*. *Clinical Microbiological Reviews*, v. 11, p. 142-201, 1998.

NATARO, J.P.; BALDINI, M.M.; KAPER, J.B.; BLACK, R.E.; BRAVO, N.; LEVINE, M.M. Detection of an adherence factor of enteropathogenic *Escherichia coli* with a DNA probe. *The Journal of Infectious Diseases*, v. 152, p. 1185-1188, 1985.

OSTROFF, S.M.; TARR, P.I.; NEIL, M.A.; LEWIS, J.H.; HARGRETT-BEAN, N.; KOBAYASHI, J.M. Toxin genotypes and plasmid profiles as determinants of systemic sequelae in *Escherichia coli* O157:H7 infection. *Journal of Infectious Diseases*, v. 160, p. 994-998, 1989.

RILEY, L.W.; REMIS, R.S.; HELGERSON, S.D.; McGEE, H.B.; WELLS, J.G.; DAVIS, B.R.; HERBERT, R.J.; ILCOTT, E.S.; JOHNSON, L.M.; HARGRETT, N.T.; BLAKE, P.A.; COHEN, M.L. Hemorrhagic colitis associated with a rare *Escherichia coli* serotype. *New England Journal of Medicine*, v. 308, p. 681-685, 1983.

ROSA, A.C.P.; MARIANO, A.T.; PEREIRA, A.M.S.; TIBANA, A.; GOMES, T.A.T. ANDRADE, J.R.C. Enteropathogenicity markers in *Escherichia coli* with acute diarrhoea and healthy controls in Rio de Janeiro, Brazil. *Journal of Medical Microbiology*, v. 47, p. 781-790, 1998.

SAMBROOK, J.; FRITSCH, E.F.; MANIATIS, T. *Molecular cloning: a laboratory manual*. 2nd ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. 1989. ---p.

SCHALM, O. W., CARROLL E. J., and JAIN, N. C. Physical and Chemical Tests for Detection of Mastitis, *School of Veterinary Medicine University of Davis, California*, p. 128-157, 1971.

SMITH, K.L.; TODHUNTER, D.A.; SCHOENBERGER, P.S. Environmental Mastitis: Cause, Prevalence, Prevention. *Journal of Dairy Science*, v. 68, p. 1531-1553, 1985.

WELLS, J.G.; SHIPMAN, L.D.; GREENE, K.D.; SOWERS, E.G.; GREEN, J.H.; CAMERON, D.N.; DOWNES, F.P.; MARTIN, M.L.; GRIFFIN, P.M.; OSTROFF, S.M.; POTTER, M.C.; TAUXE, R.J.; WACHSMUTH, I.K. Isolation of *Escherichia coli* Serotype O157:H7 and other Shiga-like-toxin-producing *Escherichia coli* from dairy cattle. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 29, p. 985-989, 1991.

WILSON J.B.; McEWEN, S.A.; CLARKE, R.C.; LESLIE, K.E.; WILSON, R.A.; WALTER-TOEWS, D.; GYLES, C.L. Distribution and characteristics of verocytotoxigenic *Escherichia coli* isolated from Ontario dairy cattle. *Epidemiology and Infection*, v. 108, p. 428-439, 1992.

WILSON, J.B.; CLARKE, R.C.; RENWICK, S.A. Verocytotoxigenic *Escherichia coli* infection in dairy farm families. *The Journal of Infectious Diseases*, v. 174, p. 1021-1027, 1996.



**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**

Quilombo  
 1331-11-4007