

## Avaliação físico-química e microbiológica do leite UHT comercializado em três países do Mercosul (Brasil, Argentina e Paraguai)

*Domareski Jackson Luiz, Bandiera Nataly Simões, Sato Rafael Tamostu, Aragon-Alegro Lina Casale, Santana Elsa Helena Walter de*

Universidade Estadual de Londrina UEL, Londrina, PR, Brasil. Universidade Norte do Paraná, UNOPAR, Londrina, PR, Brasil. Universidade de São Paulo- USP. Brasil

**RESUMO.** Com o objetivo de avaliar a qualidade físico-química e microbiológica do leite UHT comercializado em três países do Mercosul, as amostras de 04 marcas diferentes vendidas nas cidades de Foz do Iguaçu (Brasil), de Puerto Iguazú (Argentina) e de Ciudad del Este (Paraguai) foram submetidas a determinação de matéria gorda, acidez, estabilidade ao etanol 68%, 72%, 76% e 80%, extrato seco total e extrato seco desengordurado, pH, densidade e crioscopia, além da contagem de microrganismos mesófilos e psicotróficos. Na avaliação físico-química do leite UHT conclui-se que um número significativo de amostras apresentou-se fora dos padrões de qualidade para gordura, extrato seco desengordurado, densidade e crioscopia; os leites analisados exibiram resistência (estabilidade) ao etanol a 68%, salvo uma das marcas do Brasil; médias de valores de pH estavam adequados para as marcas de leite do Brasil, e valores elevados nas marcas de leite do Paraguai. Quanto aos resultados das análises microbiológicas, 37,5% das amostras do Brasil, 62,5 % das amostras da Argentina e 12,5% das amostras do Paraguai apresentaram valores acima dos valores limites para microrganismos mesófilos. Quanto às análises de psicotróficos, 50% das amostras do Brasil e da Argentina, assim como 100% das amostras do Paraguai apresentaram-se fora dos padrões estabelecidos pela legislação.

**Palavras chave:** Físico-química, microbiologia, leite UHT.

**SUMMARY. Physico-chemical and microbiological evaluation of UHT milk commercialized in three Mercosul countries (Brazil, Argentina and Paraguay).** With the aim to evaluate the physico-chemical and microbiological quality of UHT milk commercialized in three countries of Mercosul, samples of four different brands were acquired in each city (Foz do Iguaçu - Brazil, Puerto Iguazú - Argentina and Ciudad del Este - Paraguay) and submitted to the following analysis: fat content, titratable acidity, milk ethanol stability (with the following ethanol concentrations: 68, 72, 76 and 80%), total dry extract and no fat dry extract, pH, density and freezing point. Counts of mesophilic and psychrotrophic microorganisms were already done. In the physico-chemical evaluation of UHT milk, a significant number of samples were in disagree with the established patterns for fat content, no fat dry extract, density and freezing point. Except one brand from Brazil, milk samples showed stability to 68% ethanol. pH averages of Brazilian milk were in agree with the patterns and highest values were observed in samples acquired on Paraguay. Observing the microbiological analysis, 37.5%, 62.5% and 12.5% of samples acquired from Brazil, Argentina and Paraguay, respectively, showed counts above the established patterns for mesophilic microorganisms. Counts of psychrotrophic microorganisms were in disagree with the established patterns in 50%, 50% and 100% of samples from Brazil, Argentina and Paraguay, respectively.

**Key words:** Physico-chemical, microbiology, UHT milk.

### INTRODUÇÃO

Do ponto de vista biológico, o leite pode ser considerado um dos alimentos mais completos, por apresentar, entre outras características, alto teor de proteínas e sais minerais (1). Por tratar-se de um produto perecível, merece atenção especial na sua produção, beneficiamento, comercialização e consumo, pois estará sempre sujeito a uma série de alterações (2). Os micro-organismos presentes no leite *in natura* são os mesmo encontrados no úbere e na pele do animal, nos utensílios de ordenha ou nas tubulações da coleta. Sob condições adequadas de preservação a microbiota prevalente é a Gram-positiva (3). A intensidade da contaminação é variável, de acordo com a população microbiana do ambiente onde o alimento foi

obtido, a qualidade do produto fresco, o método de manipulação, o tempo e as condições de armazenamento (4).

A refrigeração do leite, imediatamente após a ordenha, tem por objetivo a diminuição da multiplicação de microrganismos mesófilos que produzem ácido láctico a partir da degradação da lactose, promovendo acidificação do leite. Porém, as baixas temperaturas de estocagem do leite, entre 4 e 7°C, selecionam outro grupo de microrganismos, os psicotróficos, que são capazes de se desenvolver em temperaturas de refrigeração (5,6). Este fato é importante, pois a legislação brasileira (7) vem buscando a obrigatoriedade da refrigeração do leite na propriedade bem como o transporte a granel em caminhões isotérmicos.

A contaminação do leite por microrganismos psicotróficos, o ponto mais importante na determinação da qualidade do leite (8) Essas bactérias, apesar de apresentarem multiplicação lenta, produzem grandes quantidades de enzimas lipolíticas e proteolíticas termorresistentes (9,10), provocando alterações físicas e organolépticas que comprometem a produção de derivados do leite (11). São encontrados no leite são em sua maioria Gram negativos, provenientes do meio ambiente e equipamentos de ordenha. Os psicotróficos Gram negativos encontrados com maior frequência em leite refrigerado cru e pasteurizado são do gênero *Pseudomonas*. Outro grupo de microrganismos, denominados de psicotróficos termodúricos, também têm importância na determinação da qualidade do leite. (11,12). Entre os psicotróficos Gram positivos mais frequentes em leite cru resfriado estão os gêneros (13,14).

No leite UHT, menos de 50% das enzimas proteolíticas são inativadas, e sua atividade prossegue no leite, assim como o comportamento das lipases. Um fenômeno importante causado pelas proteases é o da geleificação do leite UHT. Os mecanismos envolvidos no fenômeno de gelatinização compreendem basicamente alterações das proteínas do leite, associação e dissociação de íons cálcio, formação de polímeros provenientes da reação de Maillard, formação e dissociação do complexo -caseína com as proteínas do soro e participação de enzimas naturais do leite (plasmina) e proteases bacterianas (psicotróficos) (15). A maior rapidez no aparecimento do fenômeno de gelatinização em leite UHT está associada à severidade do tratamento térmico e aos níveis de contaminação dos microrganismos psicotróficos (16).

A esterilização pelo processo UHT (Ultra High Temperature), que dá origem ao leite chamado longa vida tem como objetivo a obtenção de um produto bacteriologicamente estéril e que mantenha as características nutritivas e organolépticas do produto fresco (17). Entende-se por leite UHT, o leite homogeneizado que foi submetido, durante 2 a 4 segundos, a uma temperatura entre 130°C a 150°C, mediante um processo térmico de fluxo contínuo, imediatamente resfriado a uma temperatura inferior a 32°C e envasado sob condições assépticas em embalagens estéreis e hermeticamente fechadas (18)

As combinações das tecnologias de ultrapasteurização de envase asséptico em embalagens longa vida e da retirada do ar no momento do fechamento da embalagem, garantem ao leite UHT a preservação de suas propriedades organolépticas e nutritivas, sem necessidade de conservantes e de refrigeração (19). O termo “esterilização comercial” indica que o alimento é microbiologicamente estável, visto que os microrganismos que sobreviveram à esterilização são espécies termófilas e só tem capacidade de se desenvolverem em temperaturas superiores a 45°C e, portanto, não são capazes de se multiplicar nas condições normais de armazenamento do leite (20, 21).

Pela comodidade, o consumo de leite UHT ou UAT está

aumentando consideravelmente, com expectativas de este setor permanecer em franco crescimento. Em 2009, uma pesquisa foi realizada e verificou-se que o leite UHT está presente em 87% das moradas brasileiras, representando 76% do leite fluido de consumo e mais de 47% do total do leite consumido no Brasil (19). Segundo a Tetra Pak, estima-se que o consumo mundial de leite UHT deverá crescer, anualmente, 5,2% até 2012 (22).

Para se avaliar a qualidade do leite UHT alguns parâmetros de qualidade são pesquisados, entre eles o índice crioscópico, densidade, estabilidade ao álcool, acidez titulável, pH, teor de gordura e extrato seco total (EST) e desengordurado (ESD). A adição de água ao leite é uma fraude comum, desta forma as provas de densidade e o índice crioscópico também podem ser usados para indicar estas adulterações. A determinação de fraude do leite por adição de água é a aplicação mais usual da crioscopia em laticínios, em razão da diminuição do valor nutricional, da queda do rendimento na fabricação de derivados e da contribuição para contaminação microbiana (23). A densidade é o peso específico do leite, cujo resultado depende da concentração de elementos em solução e da porcentagem de gordura (24).

A acidez é uma das determinações mais usadas em controle de qualidade de leite e derivados (25) e pode apresentar alterações nas provas de acidez Dornic, determinação de pH e estabilidade ao álcool. Estes testes têm sido utilizados com o objetivo de detectar aumentos na concentração de ácido láctico e estabilidade ao calor e, conseqüentemente, podem indicar a qualidade microbiológica inadequada do produto (24). O uso de diferentes concentrações de álcool deve ser avaliado cada caso em particular em função do tipo de produto a ser fabricado e dos sistemas de produção.

Ainda sobre os parâmetros de qualidade, a gordura é o componente mais importante do leite, pois possui inúmeras propriedades que permite diversificação nas indústrias lácteas e é responsável por boa parte das características sensoriais do leite (26). A determinação do EST tem como objetivo verificar fraudes por adição de água, verificar a integridade do leite e estimar o rendimento na indústria de produtos lácteos (27).

Diversos estudos no Brasil foram realizados com o objetivo de avaliar a qualidade do leite UHT comercializado a partir de parâmetros de qualidade físico-químicos e microbiológicos e várias amostras foram encontradas fora dos padrões determinados pela legislação (21,28-30). Assim, devido ao aumento no consumo de leite UHT pela população e os problemas existentes quanto à qualidade de matéria-prima e do leite UHT comercializado, este trabalho teve como objetivo avaliar as características físico-químicas e microbiológicas de diferentes marcas de leite UHT comercializados em três países do Mercosul (Brasil, Argentina e Paraguai), bem como se os produtos adquiridos estavam de acordo com os padrões de qualidade determinados pela legislação vigente do Mercosul.

**MATERIAL E METODOS**

As amostras de leite UHT integral foram adquiridas no mês de setembro de 2008, em supermercados de pequeno e grande porte nas cidades Foz do Iguaçu (Brasil), Ciudad del Este (Paraguai) e Puerto Iguazú (Argentina). As marcas analisadas tinham data de fabricação que variavam entre os meses de julho a setembro de 2008. A data de validade do leite UHT é determinada pela indústria, mas de maneira geral é de 120 dias. Desta forma, todas as amostras analisadas estavam dentro do prazo de validade e com no máximo 60 dias de fabricação.

Foram avaliadas, de cada país (Brasil, Paraguai e Argentina), quatro marcas de leite. Para as análises físico-químicas foi utilizada 01 amostra de cada lote, sendo dois lotes diferentes para cada marca, e cada uma das análises foi realizada em duplicata, realizando a média dos mesmos para interpretação dos resultados. E para as análises microbiológicas foram utilizadas 03 amostras de cada lote, sendo 2 lotes diferentes para cada marca, totalizando 24 amostras para cada país, e 72 amostras no total.

**Análises físico-químicas**

As características físico-químicas estudadas compreenderam a determinação do teor de gordura pelo método de Gerber, da acidez titulável pelo método de Dornic, do pH (potencial hidrogeniônico) entre 20 e 22 °C em pHgâmetro, da estabilidade com emprego de solução alcoólica a 68%, 72, 76 e 80%, do extrato seco total (EST) e do extrato desengordurado (ESD), através do cálculo utilizando a fórmula de Fleishmann, da densidade a 15°C (g/cm³) e do IC (índice crioscópico) em crioscópio eletrônico digital, conforme metodologia AOAC (1997) (31) e BRASIL (2006). Os parâmetros físico químicos selecionados para avaliação da qualidade das amostras de leite UHT estudadas compreenderam os parâmetros mínimos de qualidade estabelecidos pela legislação vigente aos países do Mercosul (33) e Brasil (34).

**Análises microbiológicas**

Para a avaliação microbiológica, as amostras foram incubadas em estufa à temperatura de 35 – 37 °C, durante 07 dias, de acordo com Mercosul (33) e Brasil (34). Após esse período foi realizada a contagem de microorganismos aeróbios mesófilos e a contagem de bactérias psicrotróficas em unidades formadoras de colônias (UFC).

Para contagem de microrganismos aeróbios mesófilos utilizou-se o Ágar PCA (Ágar para contagem padrão) incubando as amostras a 32°C/48 horas e para a contagem de psicrotróficos foi realizada a técnica de contagem rápida incubando-as a 21°C/25 horas, conforme metodologia (14).

A contagem de aeróbios mesófilos faz parte dos critérios

microbiológicos e de tolerância para leite UHT segundo a legislação vigente aos países do Mercosul (33). A contagem de psicrotróficos, apesar de ser indicada apenas em análises de qualidade de leite cru, neste estudo foi realizada nas amostras de leite UHT com o intuito de verificar se havia uma microbiota psicrotrófica termorresistente.

**Análise estatística**

Para avaliação dos parâmetros físico químicos do leite UHT dos três países estudados (Brasil, Argentina e Paraguai) utilizou-se para determinar a diferença entre as médias do ESD, densidade e pH o teste ANOVA e Tukey. Para a diferença entre as médias do EST, índice crioscópico, porcentagem de gordura e acidez titulável utilizou-se Kruskal-Wallis

**RESULTADOS**

A legislação vigente aos países do Mercosul estabelece padrões físico-químicos para o leite UHT integral de mínimo de 3% de gordura, acidez titulável entre 14 e 18 °D (01,4 a 0,18 de acidez em g. de ácido láctico/100mL), estabilidade ao etanol a 68% , no mínimo 8,2% de ESD e pH entre 6,6 e 6,8 (33). A legislação em questão Mercosul não estabelece padrões físico-químicos de densidade, Extrato Seco Total (EST) e índice crioscópico para o leite UHT, mas apesar disto, estes padrões são importantes parâmetros de qualidade. Assim, os padrões físico-químicos para o leite cru refrigerado e pasteurizado (7) de densidade entre 1028 e 1034 g/mL, o índice crioscópico máximo aceitável de -0,530 °H e o EST mínimo de 11,5% foram utilizados para discussão dos resultados do leite UHT

As amostras foram designadas de 1, 2, 3 e 4 referente às quatro marcas analisadas de cada um dos três países.

Os resultados das análises físico-químicas estão dispostos nas Tabelas 1 a 7. Os resultados estão apresentados em valores médios obtidos através da duplicata e triplicata realizada para cada um dos lotes de cada marca analisada.

TABELA 1

Valores médios da concentração de gordura (%) presentes nas amostras de leite UHT dos três países do Mercosul (Brasil, Argentina e Paraguai) analisadas entre os meses de setembro a novembro de 2008

Marcas	Países		
	Brasil	Argentina	Paraguai
1	3,35	3,03	3,25
2	3,08	2,60	3,20
3	3,08	2,93	3,35
4	3,03	2,80	1,85

Cada valor é a média de 06 valores. Valor de referência: mínimo de 3% de gordura.

TABELA 2

Valores médios de pH para as amostras de leite UHT dos três países do Mercosul (Brasil, Argentina e Paraguai) analisadas entre os meses de setembro a novembro de 2008

Marcas	Países		
	Brasil	Argentina	Paraguai
1	6,82	6,64	7,02
2	6,86	6,60	6,81
3	6,83	6,51	6,88
4	6,76	6,47	7,11

Cada valor é a média de 10 valores. Valor de referência: pH de 6,6 a 6,8.

TABELA 3

Valores médios de acidez titulável (°D) presentes nas amostras de leite UHT dos três países do Mercosul (Brasil, Argentina e Paraguai) analisadas entre os meses de setembro a novembro de 2008

Marcas	Países		
	Brasil	Argentina	Paraguai
1	16,3	16,0	15,8
2	16,8	16,0	16,5
3	16,0	16,0	16,8
4	16,0	16,5	16,0

Cada valor é a média de 4 valores. Valor de referência: acidez titulável de 14 a 18°D.

TABELA 4

Valores médios de Extrato Seco Total- EST (%) e Extrato Seco Desengordurado- ESD (%) presentes nas amostras de leite UHT dos três países do Mercosul (Brasil, Argentina e Paraguai) analisadas entre os meses de setembro a novembro de 2008

Marcas	Brasil		Países		Paraguai	
	EST	ESD	Argentina	ESD	EST	ESD
1	11,4	8,1	10,6	8,1	10,6	7,4
2	11,0	8,0	10,4	7,8	11,0	7,8
3	11,1	8,0	11,0	8,1	11,2	7,8
4	11,2	8,2	10,2	7,4	9,0	7,1

Cada valor é a média de 4 valores. Valores de referência: mínimo 8,2% de ESD.

TABELA 5

Estabilidade a diferentes concentrações de etanol (%) das amostras de leite UHT dos três países do Mercosul (Brasil, Argentina e Paraguai) analisadas entre os meses de setembro a novembro de 2008

Marcas	Países											
	Brasil				Argentina				Paraguai			
	68	72	76	80	68	72	76	80	68	72	76	80
1	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
2	-	-	-	+	-	+	+	+	-	+	+	+
3	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+
4	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-

Valor de referência: no mínimo estabilidade ao etanol a 68%.

TABELA 6

Valores médios de densidade (g/mL) presentes nas amostras de leite UHT dos três países do Mercosul (Brasil, Argentina e Paraguai) analisadas entre os meses de setembro a novembro de 2008

Marcas	Países		
	Brasil	Argentina	Paraguai
1	1,029	1,029	1,026
2	1,028	1,028	1,027
3	1,028	1,029	1,028
4	1,029	1,026	1,026

Cada valor é a média de 4 valores. Valor de referência: densidade entre 1028 e 1034 g/mL.

TABELA 7

Valores médios do índice crioscópico- IC (°H) para as amostras de leite UHT dos três países do Mercosul (Brasil, Argentina e Paraguai) analisadas entre os meses de setembro a novembro de 2008

Marcas	Países		
	Brasil	Argentina	Paraguai
1	- 0,543	- 0,530	- 0,521
2	- 0,541	- 0,521	- 0,534
3	- 0,546	- 0,546	- 0,537
4	- 0,539	- 0,517	- 0,541

Cada valor é a média de 4 valores. Valor de referência: máximo de -0,530 °H.

De acordo com o regulamento de identidade e qualidade do leite UHT (34), o leite UHT não deve ter microrganismo capazes de proliferar em condições normais de armazenamento e distribuição após uma incubação na embalagem fechada a 35-37°C, durante 7 dias, podendo apresentar contagem máxima de mesófilos de 100 UFC/mL. Para a contagem de psicrotóxicos, utilizou-se como critério de qualidade o Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal: BRASIL - RIISPOA (35), onde o leite

deve apresentar no máximo 10% de microrganismos psicrotóxicos, em relação a contagem total de aeróbios mesófilos.

Foram avaliados 8 lotes diferentes em cada país (2 lotes/marca) e nas Figuras 1 e 2, foram apresentados os resultados da contagem total de aeróbios mesófilos e da contagem total de psicrotóxicos para as amostras de leite UHT coletadas nos três países do Mercosul.

FIGURA 1  
Contagem total de aeróbios mesófilos em amostras coletadas em três países do Mercosul (Brasil, Argentina e Paraguai) analisadas entre os meses de setembro a novembro de 2008

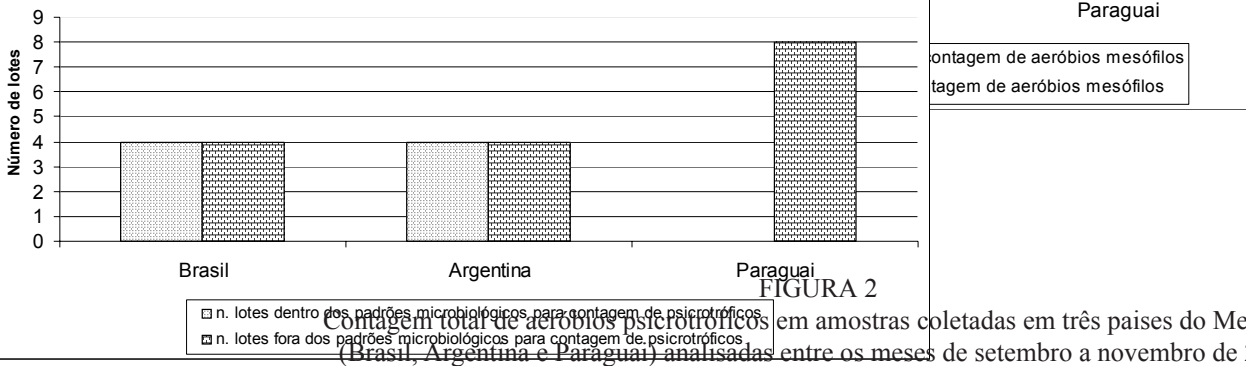
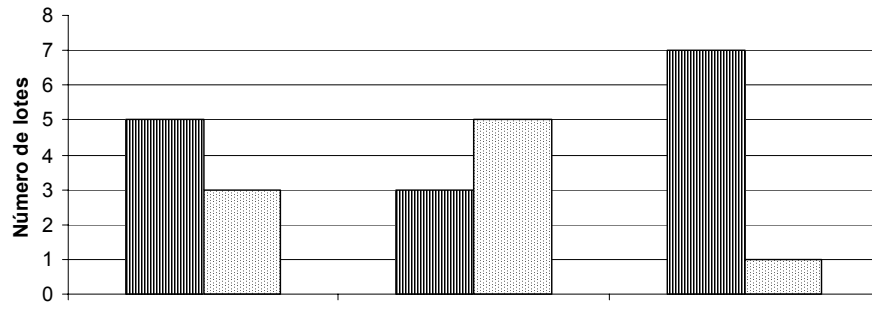


FIGURA 2  
Contagem total de aeróbios psicrotóxicos em amostras coletadas em três países do Mercosul (Brasil, Argentina e Paraguai) analisadas entre os meses de setembro a novembro de 2008

Valor de referência: máximo de 10% de microrganismos psicrotóxicos em relação a contagem de mesófilos.

## DISCUSSÃO

Os valores médios (06 valores) de teor de gordura para as 04 marcas (100%) do Brasil estavam acima do mínimo aceitável (Tabela 1). Neste estudo, ao analisarmos os valores médios de teor de gordura das marcas dos três países encontrou-se abaixo dos padrões determinados pela legislação 75% das amostras da Argentina e 25% do Paraguai (Tabela 1). As 04 marcas (100%) do Brasil estavam acima do mínimo aceitável (Tabela 1).

Quando comparamos os três países, houve diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre Brasil e Argentina. Diversos autores (36,37,38,22) ao analisarem amostras de leite UHT em diferentes estados brasileiros, encontraram todas as amostras testadas dentro dos padrões estabelecidos para a porcentagem mínima (3%) de gordura estabelecida pela legislação. Já no estado de Minas Gerais (Brasil) (39) encontraram 18% das amostras de leite UHT analisadas com menos de 3% de gordura.

Existem diversos fatores que podem afetar a porcentagem de gordura no leite, tais como, o alto teor de concentrados na dieta, alimentos muito moídos ou de rápida degradação ruminal, mudanças bruscas na dieta, estresse térmico e falta de conforto(24) ou ainda o desnate, que pode ser confirmado nas amostras que apresentaram valores inferiores aos padrões para extrato seco total e normal para extrato seco desengordurado. Também o baixo teor de gordura pode ser resultado da ação das enzimas lipolíticas produzidas pelos microrganismos psicrotóxicos. As lipases produzidas pelas bactérias psicrotóxicas são resistentes à temperatura empregada na pasteurização e no tratamento com ultra alta temperatura (UHT). Portanto, essas enzimas apresentam grande importância na qualidade e na vida de prateleira de produtos lácteos como queijo, leite UHT e creme de leite (24).

Os valores de pH dos leites analisados variaram entre 6,47 e 7,11. Os valores médios de pH das marcas de leite do Brasil encontraram-se em conformidade com a legislação vigente aos países do Mercosul; 50% das marcas da Argentina estavam abaixo do mínimo aceitável. Já, 75% das marcas do Paraguai encontraram-se acima do aceitável (Tabela 2). Quando comparamos estatisticamente o pH das amostras analisadas entre os três países estudados, não foi observada diferença significativa entre Brasil e Paraguai. Ao compararmos Brasil com Argentina e Argentina com Paraguai, encontrou-se diferença significativa entre os países para o parâmetro estudado ( $p < 0,01$ ).

O decréscimo no pH reflete a progressiva liberação de prótons hidrogênio, revelando instabilidade iônica que pode comprometer as propriedades do leite UHT. São apontados como possíveis causas os deslocamentos no equilíbrio salino, como a insolubilização de fosfato de cálcio, além da Reação de Maillard e de eventual desfosforilação da caseína (40).

Pode-se notar na Tabela 3 que 100% das amostras de leite de cada um dos países em estudo, estavam de acordo com os parâmetros de acidez titulável, estabelecidos pela legislação. Resultados semelhantes foram encontrados no Brasil (21), onde os autores analisaram 150 amostras de leite UHT e todos os resultados obtidos estavam dentro dos padrões estabelecidos pela legislação. Resultados diferentes deste estudo foram encontrados em leite UHT em alguns estados brasileiros onde os autores encontraram em média 25% das amostras foram dos padrões legais para a acidez titulável (39,41,42).

O EST ou matéria seca representa todos os componentes do leite menos a água e o ESD correspondem aos componentes do leite menos a água e a gordura. Para o ESD, 75% das marcas do Brasil e 100% das marcas da Argentina e do Paraguai apresentaram-se abaixo dos padrões estabelecidos, indicando redução no teor dos sólidos do leite como proteínas e lactose (Tabela 4). Quanto à comparação entre os três países, não houve diferença significativa para o parâmetro EST e para o ESD houve diferença significativa ( $p > 0,01$ ) apenas entre Brasil e Paraguai. O resultado de EST está relacionado intimamente com a densidade e o teor de gordura do leite, pois um leite pobre em matéria seca terá uma densidade baixa. Porém, é preciso qualificar essa afirmação, pois um leite com teor de gordura elevado terá a densidade mais baixa, e um leite com um baixo teor de gordura terá a densidade mais alta (43).

Em trabalho semelhante, autores verificaram que todas as amostras de leite UHT para ESD estavam abaixo do padrão estabelecido pela legislação (21). Em Juiz de Fora (Brasil- Minas Gerais) (44), além do EST, o ESD também foi responsável por colocar 33% e 58% das amostras, respectivamente, em desacordo com a legislação ao referente país.

Quanto à estabilidade ao etanol, no Brasil 100% das amostras apresentaram instabilidade ao etanol a 80%. Somente um lote de uma amostra foi instável a todas as concentrações de etanol testadas (68%, 72%, 76% e 80%). Das marcas analisadas da Argentina, somente um (25%) foi instável ao etanol a 80% e 1 lote desta marca apresentou instabilidade a partir do etanol a 72%. Nas amostras analisadas do Paraguai apenas 1 lote de uma amostra apresentou-se instável a partir do etanol a 72% (Tabela 5.) Assim, os resultados observados neste trabalho demonstram que os leites analisados exibiram resistência ao etanol a 68% em todas as marcas analisadas dos três países, exceto um lote de uma das marcas (25%) das amostras do Brasil.

Em São José do Rio Preto (21) avaliaram os efeitos do processamento UHT sobre as características físico-químicas do leite, e verificaram que, todas as amostras testadas se mostraram estáveis na prova do álcool 68%, obedeceram aos parâmetros gordura e acidez, porém com relação ao ESD nenhuma das amostras atendeu ao estabelecido pela legislação brasileira.

Estudos apontaram o valor do teste pela similaridade observada entre a instabilidade induzida pelo etanol e a

instabilidade induzida pelo processamento UHT, uma vez que o leite com baixa qualidade higiênica durante a sua produção pode apresentar redução no pH pela fermentação da lactose em ácido láctico, resultando assim na maior instabilidade da proteína (45). O complexo coloidal entre cálcio, fosfato e caseinato tem a sua estabilidade afetada durante o tratamento térmico e que há uma perda gradual da estabilidade ao etanol (46).

O uso de outras concentrações de álcool deve ser avaliado cada caso em particular em função do tipo de produto a ser fabricado e dos sistemas de produção. A concentração do álcool é proporcional ao rigor com que se deseja submeter o leite ao tratamento térmico (17).

A acidez elevada do leite é o principal fator que diminui a estabilidade térmica do leite, porém, a perda da estabilidade pode ocorrer em leites não ácidos, ou seja, com acidez titulável abaixo de 18° D, determinando a ocorrência do produto conhecido como leite instável não ácido (LINA) (47). Na maioria dos casos, o leite com essas alterações é interpretado erroneamente como leite ácido, penalizando o produtor sem que ele possa identificar o que está acontecendo no rebanho. Por outro lado, acredita-se que caso esse tipo de leite chegue à indústria ele não resista ao tratamento térmico, especialmente o UHT (48).

Os valores médios de densidade apresentaram-se abaixo de 1.028 para uma das marcas (25%) da Argentina e para 75% das marcas do Paraguai. Ao compararmos estatisticamente os três países houve apenas diferença significativa ( $p < 0,01$ ) entre Brasil e Paraguai (Tabela 6). Diferentes trabalhos realizados no Brasil com leite constataram valor de densidade dentro do intervalo estabelecido pela legislação (49, 50). O teste da densidade pode ser útil na detecção de adulteração do leite, uma vez que a adição de água causa diminuição da densidade, enquanto a retirada de gordura resulta em aumento da densidade, além de fornecer importante informação para determinação do extrato seco total, juntamente com a porcentagem de gordura no leite (26).

Na análise do parâmetro da crioscopia 2 marcas (50%) da Argentina e uma (25%) do Paraguai apresentaram valores médios acima dos valores padrões do requisito oficial (Tabela 7). A crioscopia do leite corresponde à medição do ponto de congelamento ou da depressão do ponto de congelamento do leite em relação ao da água. O ponto de congelamento é a característica mais constante do leite e é usada para detectar principalmente adulterações com água (26).

Ao compararmos os parâmetros de gordura (Tabela 1), densidade (Tabela 6) e IC (tabela 7) pode-se observar que nas amostras analisadas da Argentina a marca 4 apresentou os três parâmetros em questão fora dos limites permitidos pela legislação, indicando redução no teor de gordura e adição de água. Na marca 2 a gordura e o I.C. estavam fora dos padrões mas a densidade não indicou adição de água e não houve

redução no teor de gordura, permitindo-se assim a suspeita da adição de um reconstituente de densidade. A densidade do leite é o peso específico do leite, cujo resultado depende da concentração de elementos em solução e da porcentagem de gordura (24).

Quanto às análises microbiológicas, nas marcas de leite analisadas do Brasil foram encontrados 03 lotes (37,5%) não estavam de acordo com os critérios microbiológicos e tolerância do leite UHT. A variação da contagem total de mesófilos foi entre  $1,0 \times 10^1$  a  $3,1 \times 10^4$  UFC/ml. Nas marcas de leite da Argentina, conclui-se que 05 lotes analisados (62,5%) estavam em desacordo com os critérios microbiológicos e tolerância do leite UHT. Os valores observados variaram de  $5,0 \times 10^1$  a  $2,3 \times 10^4$  UFC/ml. Nos leites comercializados no Paraguai, observou-se que apenas um dos lotes analisados (12,5%) estava em desacordo com os critérios microbiológicos e tolerância do leite UHT. Os valores observados variaram entre  $1,0 \times 10^1$  e  $1,7 \times 10^2$  UFC/ml.

Deve-se ressaltar que o processamento térmico aplicado ao leite UHT pode ser capaz de reduzir, mas não de eliminar a carga microbiana encontrada no leite *in natura*. Assim, mediante o número de microrganismos mesófilos encontrados neste estudo, entende-se que a matéria prima utilizada para processamento do leite UHT poderia não dotar de boa qualidade microbiológica ou ainda, associando este fator a problemas no tratamento térmico e/ou integridade das embalagens utilizadas no armazenamento destes leites. Em trabalhos realizados em alguns estados brasileiros, determinando a contagem de mesófilos em leite UHT, autores encontraram 22,7% e 30% das amostras fora do padrão estabelecido pela legislação brasileira (28,29).

Tratando-se dos resultados da contagem total de psicotróficos, em relação às marcas de leite do Brasil e da Argentina, conclui-se que 04 lotes (50%) (Figura 2) não estão de acordo com os critérios microbiológicos e tolerância considerados ideais para o leite (32). O leite deve apresentar no máximo 10% de microrganismos psicotróficos, em relação a contagem total de aeróbios mesófilos (32).

Os valores encontrados de psicotróficos para as amostras do Brasil variaram entre  $1,0 \times 10^2$  e  $2,0 \times 10^4$  UFC/ml. E para as amostras da Argentina, os valores observados oscilaram de  $4,0 \times 10^2$  a  $4,3 \times 10^3$  UFC/ml. Em relação às marcas de leite do Paraguai, observa-se que os oito lotes analisados (100%) apresentaram mais que 10% de microrganismos psicotróficos, em relação a contagem total de aeróbios mesófilos. Os valores variaram entre  $5,0 \times 10^2$  e  $9,8 \times 10^5$  UFC/ml.

A presença de microrganismos psicotróficos em leite UHT tem origem na carga inicial de microrganismos no leite cru, obtido com falhas na higiene de produção. As contagens destes microrganismos encontradas nas amostras estudadas podem estar relacionadas a presença de microrganismos termorresistentes (termodúricos) com capacidade de

crescimento a temperatura de refrigeração ou a falhas no tratamento térmico empregados as amostras avaliadas.

### CONCLUSÃO

Quanto às análises físico-químicas, os leites produzidos na Argentina e no Paraguai apresentaram-se fora dos padrões determinados pela legislação nos seguintes parâmetros pesquisados: densidade, crioscopia, gordura e pH. O extrato seco desengordurado (ESD) apresentou-se abaixo dos padrões determinados pela legislação nas amostras dos três países estudados. As alterações físico-químicas encontradas indicam problemas na qualidade do leite cru e/ou adulterações durante processamento do leite.

As análises de acidez titulável indicaram que todas as amostras estavam dentro dos padrões da legislação vigente. Quanto à estabilidade ao etanol, todas as marcas analisadas dos três países apresentaram resistência ao etanol a 68%, exceto um lote de uma das marcas das amostras do Brasil.

Nas análises microbiológicas, a contagem de aeróbio mesófilos encontrou-se fora dos padrões em 37,5%, 62,5% e 12,5% dos lotes analisadas do Brasil, Argentina e Paraguai, respectivamente. O resultado das contagens de psicotróficos obtidos fora dos padrões foi de 50%, 50% e 100% para as amostras coletadas do Brasil, Argentina e Paraguai, respectivamente. As alterações microbiológicas encontradas indicaram que existem problemas na qualidade do leite UHT, seja originada da qualidade da matéria prima e/ou no tratamento térmico aplicado a estes produtos.

### REFERÊNCIAS

- Borges MF, Brandão SCC, Pinheiro AJ. Efeito bactericida do peróxido de hidrogênio sobre salmonela em leite destinado a fabricação de queijos. *Rev Microbiol.* 1989; 20 (2): 145-149.
- Furtado MAM, Vilela MAP, Meurer VM, Barbosa F A. Anais do XXII Congresso Nacional de Laticínios. Juiz de Fora, 2004. p. 130-131.
- Jay James M. *Microbiologia de alimentos.* 6ed. Porto Alegre: Editora Artmed, 2005. 709 p.
- Pelczar MJ, Chan ECS, Krieg NR. *Microbiologia - Conceitos e Aplicações.* 2ed. Volume 1. São Paulo: Editora Makron Books, 1996.
- Ferreira Márcia de Aguiar. Dossiê técnico - Análises Microbiológicas para Qualidade do Leite Fluido. In: Centro de Apoio ao Desenvolvimento Tecnológico da Universidade de Brasília – CDT/UnB, 2007. Disponível em: <<http://www.sbrt.ibict.br>>. Acesso em: 20 ago. 2008.
- Law BA. Reviews of the progress of dairy science: enzymes of psychrotrophic bacteria and their affects on milk and milk products. *J Dairy Res.* 1979; 46: 573-588.
- Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento-MAPA. Instrução Normativa n.º 51 de 18 de setembro de 2002. Brasília, 2002.
- Smithwell N, Kailasapathy K. Psychrotrophic bacteria in pasteurized milk: problems with shelf life. *Aust J Dairy Technol.* 1995; 50: 28-31.
- Bishop JR, White CH. Estimation of potencial shelflife of pasteurized fluid milk utilizing bacterial numbers and metabolites. *J Food Prot.* 1998; 48: 663-667.
- Craven HM, Macauley BJ. Microorganisms in pasteurized milk after refrigerated storage. 2. Seasonal variation. *Aust J Dairy Technol.* 1992; 47: 46-49.
- Muir DD. The fresh- life of Dairy Products: 1. Factors influencing raw milk and fresh products. *J Soc Dairy Technol.* 1996; 49 (1): 24-32.
- Sorhaug T, Stepianiak L. Psychrotrophs and their enzymes in milk and dairy products: Quality aspects. *Trend Food Sci Tech.* 1997; 8: 35-41.
- Cousin MA. Presence and activity of psychrotrophic microorganisms in milk and dairy products: a review. *J Food Prot.* 1982; 45(2); 172-20.
- American Public Health Association. Milk and milk products. In: Compendium of methods for the microbiological examination of foods. Washington: APHA. 1992:837-856.
- Hill A. Quality of ultra-high-temperature processed milk. *Food Technol* 1988; 12(9): 92-97.
- Cunha MF. Revisão: Leite UHT e o fenômeno de Geleificação. B. CEPPA, Curitiba, v. 19, n 2 , p 341-352, 2001.
- Tronco VM. Manual para inspeção da qualidade do Leite. 2 ed. Santa Maria: UFSM, 2003.
- Brasil, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria Nº 146, de 07 de março de 1996. Regulamento técnico para fixação da identidade e qualidade do leite UHT. Brasília, 2002.
- ABLV. Associação Brasileira do Leite Longa Vida. Leite Longa Vida está Presente em 87% dos lares Brasileiros. 2009. Disponível em:< <http://www.ablv.org.br/25-Releases-Leite-Longa-Vida-esta-presente-em- aspx>>. Acesso em 2 de maio de 2010.
- Gava AJ. Princípios de tecnologia de alimentos. São Paulo: Nobel, 2007.
- Martins AMCV, Rossi Junior OD, Salotti BM, Bürger KP, Cortez ALL, Cardozo MV. Efeito do processamento UHT (Ultra Alta Temperatura) sobre as características físico-químicas do leite. *Ciênc Tecnol Aliment.* 2008; 28 (2): 1-4.
- Rocha AAR. Consumo de leite aumenta e continuará crescendo. Com impulso de emergentes, consumo global de leite cresce. 2009. Disponível em: <<http://www.abiq.com.br/associados/noticia11.asp>>. Acesso em 12 de abril de 2010.
- Silva PHF da, Pereira DBC, Costa Júnior LCG. Físico-Química do Leite e Derivados Métodos Analíticos. Juiz de Fora: Oficina de Impressão Gráficas e Editora Ltda. 1997.
- Santos MV, Fonseca LFL. Qualidade do Leite e Controle de Mastite. São Paulo: Lemos Editorial, 2000. 175 p.
- Oliveira AJ, Caruso JAB. Leite- Obtenção e qualidade dos produtos fluídos e Derivados. 2 ed. Piracicaba-SP: Editora Fealq, 1996.
- Embrapa, Composição do Leite. 2007. Disponível em:< [http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Agencia8/AG01/arvore/AG01\\_128\\_21720039243.html](http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Agencia8/AG01/arvore/AG01_128_21720039243.html)>. Acesso em: 12 mar. 2010.



27. Embrapa, Qualidade do Leite. 2005. Disponível em:< <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Leite/GadoLeiteiroZonaBragantina/paginas/qualidade.htm>>. Acesso em: 17 mar. 2010.
28. Martins AMCV, Rossi Junior OD, Lago NCR. Microrganismos heterotróficos mesófilos e bactérias do grupo do *Bacillus cereus* em leite integral submetido a ultra alta temperatura. *Arq Bras Med Vet Zootec*. 2005; 57(3):396-400.
29. Rezende NCM, Rossi Júnior OD, Nader Filho A, Amaral LA. Ocorrência de microrganismos indicadores em leite UHT (ultra-high-temperatur) integral. *R Bras Ci Vet*. 2000; 7(1):58-60.
30. Coelho PS, Silva N, Brescia MV, Siqueira AP. Avaliação da qualidade microbiológica do leite UAT integral comercializado em Belo Horizonte. *Arq Bras Med Vet Zootec*. 2001;53(2):1-7.
31. Association of Official Analytical Chemists. Official methods of analysis. 16.ed. 3 ed. Maryland, 1997.
32. Brasil, Instrução normativa n.º 68 de 12 de dezembro de 2006. Brasília, 2006.
33. Mercosul/Grupo Mercado Comum/ Resolução N° 78/94-Regulamento Técnico Mercosur de Identidad y Calidad de la Leche UHT. Argentina, Brasil, Paraguai e Uruguai, 1995.
34. Brasil. Ministério da Agricultura. Portaria n° 146, 07 de março de 1996. Regulamento técnico de identidade e qualidade do leite UAT (UHT). Disponível em:<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegisconsulta/servlet/visualizarAnexo?id=4349> Acesso em: 29 set. 2009.
35. Brasil. Ministério da Agricultura. Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem animal- RIISPOA. Brasília,1976.
36. Santos MG. Avaliação da qualidade do leite UHT durante o período de estocagem. 2006. Disponível em<<http://www.semesp.org.br/portal/pdfs/2006/1000002465.pdf>>. Acesso em: 24 set. 2009.
37. Caldeira A, Junior VRR, Melo LM, Fonseca CM, Oliveira LLS, Chauca MNC, Silva FV. Avaliação da qualidade físico-química de leite UHT comercializado em Jarnaúba(MG). 2009. Disponível em:< <http://www.fepeg.unimontes.br/evento2009/index.php/fepeg/fepeg2009/paper/viewFile/452/317> >. Acesso em: 28 dez. 2009.
38. Souza LG, Santos GT, Sakaguti, e S, Damasceno JC, Matsushita M, Horst JÁ, Villalba RG. Avaliação da Composição do leite UHT provenientes de dois Laticínios da Região Norte e Noroeste do Paraná. 2004. Disponível em:< <http://periodicos.uem.br/ojs/index.php/ActaSciAnimSci/article/viewArticle/1875>> Acesso em: 22 fev. 2010.
39. Andrioli AS, Furtado MAM, Vilela MAP, Meurer VM. Padrões físico-químicos de identidade e qualidade do leite UHT comercializado na cidade de Juiz De Fora, MG. *Anais do XVIII Congresso Nacional de Laticínios*. Juiz de Fora, p.373-378, 2004.
40. Renner E, Schmidt RH. Chemical and physico –chemical aspects. In: International Dairy Federation. New monograph on UHT milk. Brussels, 1981. p.49-64.
41. Silva AHI, Gonçalves TM, Souza JF, Filho JSS, Filho JRF. Efeito da Fervura, Resfriamento e Congelamento na Qualidade físico-química de Diferentes Tipos de Leite. 2009. Disponível em :<<http://www.eventosufrpe.com.br/jepex2009/cd/resumos/R0352-1.pdf>>. Acesso em: 10 maio 2010.
42. Martins FO, Silvia CAO, Campos MEM, Antunes VC, Milagres MP, Brandão SCC. Avaliação da composição, da qualidade físico-química e ocorrência de adulterações em leite UHT. 2006. Disponível em< <http://www.terraviva.com.br/IICBQL/p043.pdf>>Acesso em: 6 maio 2010.
43. Luquet FM. Leche y Productos lácteos vaca- oveja - cabra. Vol. 1- La leche. De La mama a La lecheria. Zaragoza-España: Editorial Acribia S. A., 1991, 390p.
44. Silva PHF. Leite UHT: fatores determinantes para sedimentação e geleificação. Juiz de Fora: Oficina de Impressão Gráficas e Editora Ltda. 2004.
45. Horne DS. Ethanol stability. In: FOX, P.F. Advanced dairy chemistry. London: Chapman & Hall, 1992.
46. Harwalkar VR. Age gelation of sterilized milks. In: FOX, P.F. Advanced dairy chemistry. London: Chapman & Hall, 1997.
47. Lopes LC. Composição e características físico-químicas do leite instável não ácido (LINA) na região de Casa Branca, estado de São Paulo. 2008 Disponível em:< <http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/74/74131/tde-29042008-103024/>>. Acesso em: 20 fev. 2010.
48. Balbinotti M, Marques LT, Fischer V, Ribeiro MER, Stumpf W, Reckziegel FJ, Carbonari C, Varela M. Incidência do leite instável não ácido(LINA) na região sul do Rio Grande do Sul. *Revista Brasileira Agrociência*, v.13, n1, p.91-100, janeiro/março, 2005.
49. Soares DX, Zuppa T O, Rodvalho E. Avaliação das características físico-químicas do leite ultra pasteurizado (UHT). 2008. Disponível em: <<http://www.prp.ueg.br/06v1/conteudo/pesquisa/inic-cien/eventos/sic2007/flashsic2007/arquivos/resumos/resumo17.pdf>> Acesso em: 10 dez. 2009.
50. Rossi Junior OD. Estudo das características microbiológicas do leite UHT ao longo de seu processamento. *Arquivo do Instituto de Biologia*. 2006;73(1):27-32.

Recibido: 23-04-2010

Acceptado: 23-08-2010