

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS

**Estudo da viabilidade de tratamentos térmicos
alternativos para leite pasteurizado e de vida de
prateleira estendida**

PARECER

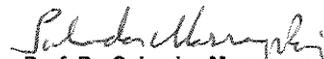
Este exemplar corresponde à redação final da tese defendida por **Silvia Fátima Borges Busani**, aprovado pela Comissão Julgadora em 28 de setembro de 2005.

Campinas, 28 de setembro de 2005.

Silvia Fátima Borges Busani

Orientador : Prof. Dr. Salvador Massaguer R

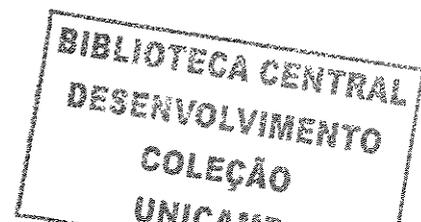
Co-orientador: Prof. Dr. José de Assis Fonseca Faria


Prof. Dr. Salvador Massaguer Roig
Presidente da Banca

Tese apresentada à Faculdade de Engenharia de Alimentos, UNICAMP, para obtenção do título de Doutor em Tecnologia de Alimentos

Campinas, SP

2005



| | |
|------------|-------------------------------------|
| UNIDADE | BC |
| Nº CHAMADA | T/Univap |
| | B96e |
| V | EX |
| TOMBO BC/ | 66846 |
| PROC. | 6.123.06 |
| C | <input type="checkbox"/> |
| D | <input checked="" type="checkbox"/> |
| PREÇO | 11,00 |
| DATA | 9/2/06 |
| Nº CPD | |

B.b Id 375117

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA F.E.A. – UNICAMP

B96e

Busani, Silvia Fatima Borges

Estudo da viabilidade de tratamentos térmicos alternativos para leite pasteurizado e de vida de prateleira estendida / Silvia Fatima Borges Busani. – Campinas, SP: [s.n.], 2005.

Orientador: Salvador Massaguer Roig

Co-orientador: José de Assis Fonseca Faria

Tese (doutorado) – Universidade Estadual de Campinas.
Faculdade de Engenharia de Alimentos.

1. Leite Pasteurizado. 2. Vida de prateleira. 3. Vida de prateleira estendida. 4. Qualidade do leite. 5. Microrganismos psicotróficos. I. Roig, Salvador Massaguer. II. Faria, José de Assis Fonseca. III. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia de Alimentos. IV. Título.

(cars/fea)

Titulo em inglês: Study of viability of alternatives thermic treatments for pasteurized and extend shelf life milk

Palavras-chave em inglês (Keywords): Pasteurized milk, Shelf life, Extended shelf life, Milk quality, Psychrotrophic microorganisms

Titulação: Doutor em Tecnologia de Alimentos

Banca examinadora: Salvador Massaguer Roig

Izildinha Moreno

José Leonardo Eto do Valle

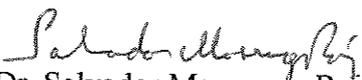
Leila Maria Spadoti

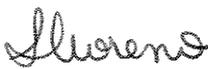
Mirna Lúcia Gigante

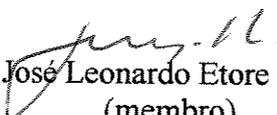
Sandra Pereira Fukuda

Walkiria Hanada Viotto

Banca examinadora

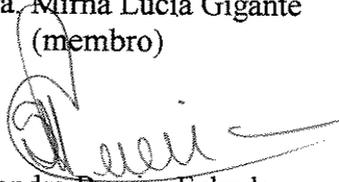

Prof. Dr. Salvador Massagué Roig
(orientador)


Dra. Izildinha Moreno
(membro)


Dr. José Leonardo Eto do Valle
(membro)


Dra. Leila Maria Spadoti
(membro)

Prof^a Dra. Mirna Lúcia Gigante
(membro)


Dra. Sandra Pereira Fukuda
(membro)

Prof^a Dra. Walkiria H. Viotto
(membro)

Campinas, de de 2005

*...Seja qual for o grau a que chegamos,
o que importa é prosseguir decididamente...*

Filipenses, 3-16

Dedico
Ao meu esposo Ronaldo
e a meu filho Rafael
pelo amor, paciência e carinho
em todos os momentos

Agradecimentos

À Deus, fonte de toda sabedoria e graça.

À Univesidade Estadual de Campinas (UNICAMP), em especial ao Departamento de Tecnologia de Alimentos da Faculdade de Engenharia de Alimentos, pela oportunidade a mim oferecida.

Ao CNPq pela concessão da Bolsa de Estudos.

À banca examinadora pelo convite aceito e pelo tempo dedicado na avaliação deste trabalho.

Ao meu orientador, professor Dr. Salvador Massaguer Roig, pela amizade, apoio e orientação no decorrer deste trabalho.

Ao meu co-orientador professor Dr. José de Assis F. Faria, que muito contribuiu para que os processamentos fossem realizados.

Aos funcionários da Biblioteca e Secretaria de Pós-Graduação, pelo atendimento e colaboração.

À minha amiga Beth (lab. Leite), por toda ajuda, colaboração e apoio nos dias de processamentos, sem a qual não teria sido possível a suarealização.

À minha amiga Ana Lourdes por toda contribuição e troca de conhecimento que fizemos no decorrer do trabalho.

Ao funcionário Nelson, meu agradecimento em especial, por todo apoio e ajuda em todos os processamentos realizados.

Ao laboratório de Higiene de Alimentos da FEA, na pessoa da Dirce, que através de seu conhecimento e paciência muito me orientou em uma etapa do trabalho.

Aos funcionários do DTA/FEA, Adauto, Ana Maria, Alice, Bernadete, Carlos, José Roberto e Dona Denir que de alguma forma colaboraram para a realização deste trabalho.

À colega Georgiana Aires e toda a equipe do painel sensorial pela colaboração em uma etapa desse trabalho.

Às estagiárias Vedrana, Ana Isabel, Eliana e Priscilla que em momentos diferentes muito contribuíram para o andamento de todo o trabalho.

Aos colegas Rodrigo Petrus e Laura Abreu, que de uma maneira indireta muito me ajudaram.

Ao meu sogro e minha sogra, Sr. Rubens e Sra Odilia, que dispensaram um carinho especial ao meu filho Rafael nos momentos em que não pude estar presente.

À Edivania Maria por todo apoio em casa, especialmente ao meu filho Rafael.

A todos os meus amigos e parentes que de uma forma ou outra contribuíram me incentivando, para que pudesse chegar ao fim desse trabalho.

A todas as pessoas que colaboram de maneira direta ou indireta para a realização deste trabalho.

A todos, o meu muito obrigado.

Índice Geral

| | |
|--|-----------|
| Resumo Geral | 1 |
| General Summary | 5 |
| Introdução Geral | 7 |
| Justificativa | 11 |
| Objetivos | 13 |
| Capítulo 1 - Revisão Bibliográfica | 15 |
| Considerações gerais sobre o leite..... | 17 |
| Tratamento térmico..... | 18 |
| Pasteurização na embalagem..... | 23 |
| Vida de Prateleira..... | 25 |
| Fatores que Influenciam a Vida de prateleira..... | 28 |
| - Qualidade do leite cru como matéria prima..... | 28 |
| - Condições de tratamento térmico..... | 34 |
| - Contaminação durante e pós pasteurização..... | 36 |
| - Presença de microrganismos termorresistentes..... | 38 |
| - Temperatura de estocagem e distribuição do leite..... | 40 |
| Enzimas indicadoras de pasteurização do leite : fosfatase e peroxidase..... | 41 |
| Processos utilizados para a Fabricação de leite de vida estendida/ESL – métodos alternativos para a pasteurização normal..... | 43 |
| - Bactofugação..... | 43 |
| - Microfiltração..... | 44 |
| - Processos combinados..... | 44 |
| Referencias bibliográficas..... | 49 |
| Capítulo 2 – Estudo comparativo entre sistemas de pasteurização rápida de leite “HTST” e pasteurização lenta na embalagem | 59 |
| Resumo..... | 61 |
| Summary..... | 63 |

| | |
|--|------------|
| Introdução..... | 65 |
| Material e Métodos..... | 68 |
| Lista de símbolos e definições..... | 71 |
| Resultados e Discussão..... | 73 |
| Conclusões..... | 87 |
| Referencias bibliográficas..... | 89 |
| Capítulo 3 – Estudo comparativo entre matérias primas de qualidades microbiológicas diferentes submetidas aos sistemas de pasteurização de leite HTST e pasteurização na embalagem..... | |
| 97 | 97 |
| Resumo..... | 99 |
| Summary..... | 101 |
| Introdução..... | 103 |
| Material e Métodos..... | 106 |
| Resultados e Discussão..... | 113 |
| Conclusões..... | 129 |
| Referencias bibliográficas..... | 131 |
| Capítulo 4 – Produção de leite de vida de prateleira estendida por modificação do binômio temperatura/tempo e envase asséptico..... | |
| 139 | 139 |
| Resumo..... | 141 |
| Summary..... | 143 |
| Introdução..... | 145 |
| Material e Métodos..... | 149 |
| Resultados e Discussão..... | 154 |
| Conclusões..... | 171 |
| Referencias bibliográficas..... | 173 |
| Capítulo 5 – Influência da temperatura de armazenamento na vida de prateleira de um leite de vida estendida..... | |
| 181 | 181 |
| Resumo..... | 183 |
| Summary..... | 185 |
| Introdução..... | 187 |
| Material e Métodos..... | 190 |

| | |
|---------------------------------|-----|
| Resultados e Discussão..... | 195 |
| Conclusões..... | 213 |
| Referencias bibliográficas..... | 215 |
| Conclusão | |
| Geral..... | 222 |
| Anexos..... | 223 |

Resumo Geral

Esta pesquisa foi realizada em 4 etapas distintas, onde se estudou o efeito de diferentes tratamentos térmicos alternativos para leite fluido.

O capítulo 1 apresenta uma revisão bibliográfica com um breve histórico sobre pasteurização, a evolução dos tratamentos térmicos em leite fluido, a importância da qualidade do leite como matéria prima e condições necessárias para se produzir um leite com uma vida de prateleira estendida.

O capítulo 2 apresenta um estudo comparativo entre dois processos de pasteurização de leite: a rápida em unidade com trocador de calor a placas (72°C a 75°C/17,5 segundos) e a lenta na própria embalagem (65°C por 30 minutos) em um equipamento para pasteurização de leite previamente embalado. Foram realizados três processamentos em datas distintas, onde o leite foi submetido aos dois sistemas de pasteurização, armazenado em câmara frigorífica (5 a 6°C) por um período de 10 a 21 dias e analisado a cada dois dias em média para se comparar a eficiência dos sistemas de pasteurização utilizados. Verificou-se que ambos sistemas de pasteurização foram eficientes, com uma redução de até 4 ciclos logarítmicos nos dois sistemas, sendo os microrganismos aeróbicos mesófilos os principais microrganismos deteriorantes nos três processamentos para os dois sistemas de pasteurização. Os produtos obtidos pelos sistemas de pasteurização rápida e pasteurização lenta na embalagem foram satisfatórios obtendo-se um alimento seguro. Os leites pasteurizados na embalagem foram equivalentes aos produtos tradicionais comercializados, demonstrando a viabilidade técnica de se efetuar um tipo de pasteurização com simplicidade e segurança.

O capítulo 3 apresenta o estudo da influência da qualidade microbiológica do leite cru na vida útil do leite pasteurizado, utilizando os dois sistemas de pasteurização estudados no capítulo 1. Em média a matéria prima A apresentou uma contagem inicial de microrganismos mesófilos de 10^5 UFC/mL; a matéria prima B apresentou contagem média inicial mais elevadas, de 10^6 UFC/mL. Para a matéria prima A, o leite pasteurizado pelos dois sistemas de pasteurização apresentou uma vida de prateleira de 10 dias considerando como padrão valores de contagem de microrganismos mesófilos de até $8,0 \times 10^4$ UFC/mL,

desenvolvimento de *Bacillus cereus* a partir do oitavo dia de vida útil. A temperatura de armazenamento de 10°C foi fator determinante para o crescimento dos *Bacillus cereus* nos dois tratamentos térmicos realizados. Foi realizado também um estudo sobre a presença de enzima fosfatase alcalina reativável e microbiana ao longo do armazenamento do leite pasteurizado. Os resultados obtidos foram negativos para os dois tipos de teste mesmo ao final de 17 dias de armazenamento dos leites armazenados a 10°C, quando apresentaram contagens totais de microrganismos psicotróficos de 10^8 UFC/mL.

General Summary

This research was carried out in four distinct steps, in which we studied different alternative thermal treatment effects for fluid milk.

Chapter 1 presents a bibliographic review about pasteurization history, the evolution of thermal treatments on fluid milk, the importance of milk quality as raw material and the necessary conditions for producing milk with extended shelf life.

Chapter 2 presents a comparative study between two milk pasteurization processes, the fast one with plate heat exchangers (72°C to 75°C/17,5 seconds) and the slow one in its own package (65°C for 30 minutes) in a previously packed milk pasteurization equipment. Three processes were carried out, and the milk was submitted to both pasteurization systems: it was stored in a cold chamber (5 a 6°C) for a period between 10 a 21 days and analyzed each two days in average to compare the efficiency of the two systems that were used. It was found that both pasteurization systems were efficient, with reduction of up to 4 logarithmic cycles in both systems, and that mesophile aerobic microorganisms were the main deteriorating microorganisms found in the three processes and for both pasteurization systems. The products obtained by the fast pasteurization and slow in package were satisfactory, and we obtained safe nutriment. Milk pasteurized in package was equivalent to products commercially pasteurized, technical viability was demonstrated, as to carrying out simple and safe pasteurization.

Chapter 3 presents a study of the microbiological quality influence on raw milk in the useful life of pasteurized milk., using both pasteurization systems studied in chapter 1. In an average, raw material A presented a mesophile microorganism initial count of 10^5 UFC/mL; raw material B presented an initial higher average count of 10^6 UFC/mL. For the A raw material, the milk that was pasteurized by both pasteurization systems showed a shelf life of 10 days, considering as Standard values of a mesophile microorganism count of up to $8,0 \times 10^4$ UFC/mL, value specified by Brazilian legislation for pasteurized B type milk. For raw material B, milk pasteurized through both pasteurization systems showed a shelf life of 4 days; considering the same couts as above.

Chapter 4 presents a study to evaluate different production alternatives of extended shelf life milk (ESL), through pasteurization of and aseptic packaging. Three processes were carried out, in each the milk was thermally treated with temperature/time binomials of 74°C/17,5 seconds, 82°C/10 seconds and 87°C/10 seconds, packaged in a clean room with sterile packages and stored in a cold chamber with temperature ranging between 5°C and 6°C for up to 27 days. For the three thermal treatments carried out, it was verified that for the 87°C/10 second binomial the produced milk was the one with greater psychrotrophic and aerobic mesophile microorganism growth. It was observed that the first process milk (74°C/17,5 s) showed the growth of *Bacillus cereus* nine days of shelf life, which did not happen for the other processes. For producing ESL milk, the best temperature/time binomials were 74°C/17,5 s and 82°C/10 s, the milk remained in good consuming conditions up to 15 days of shelf life, kept under refrigeration (5 a 6°C), with microbial growth of up to $8,0 \times 10^4$ UFC/mL (standard pasteurized B type milk). The main deteriorating microorganisms for all thermal treatments were psychrotrophics microorganisms. Low storage temperature was probably what caused this fact, since the microorganisms are the ones that developed in low storage in which the milk was kept for up to 27 days.

Chapter 5 studied the effect of different storing temperatures in extended shelf life milk utilizing two temperatures evaluated in chapter 4. In the processes that were carried out the milk was treated thermally at 74°C/17,5 s and 82°C/10s, packaged in a aseptic room with sterile packages and stored in temperatures ranging from 3°C, 6°C and 10°C. The follow up of shelf life for 24 to 28 days showed that the stored milk at 10°C temperature presented a shelf life of 5 to 6 days, while for the other storing temperatures the milk presented a useful life of 24 days. All milk stored at 10°C, presented development of *Bacillus cereus* as of the eighth day of storage. The Storage temperature of 10°C was a determining factor for the growth of the *Bacillus cereus* during both thermal treatments carried out. Chapter 5 presented a study about the presence of microbial and reactivated alkaline phosphatase enzyme along the storaged time of pasteurized milk. The obtained results were negative for both types of test even at the end of 17 shelf life days of milk stored at 10°C, at which time they presented total counts of psychrotrophic microorganisms of 10^8 UFC/mL.

Introdução Geral

O leite é um produto secretado por todas as espécies de mamíferos para nutrir e conferir proteção imunológica ao recém-nascido, devido a uma grande quantidade de compostos distintos presentes no mesmo (Veisseyre, 1988), além de ser o alimento mais difundido, é o mais perfeito para as crianças e o mais importante para os adultos. Nenhum outro alimento é capaz de melhorar dietas deficientes tanto quanto o leite (Villares, 1959)

O leite apresenta um valor nutritivo, atribuído à presença de proteínas, carboidratos, gordura, sais minerais e vitaminas em teores adequados, tanto no aspecto qualitativo como no quantitativo. Nesse contexto, o leite destinado ao consumo humano tem despertado a atenção de pesquisadores, tendo em vista sua importância no aspecto nutricional, econômico, social e de saúde pública, sob o enfoque global de segurança alimentar (Cardoso, 2000)

Desde a descoberta do fogo o homem usou calor para preparar alimentos, preservá-los e conservar seu sabor. No início do século XX, o bacilo de Koch (*Mycobacterium sp*) foi considerado o microrganismo de escolha para a pesquisa de tratamento térmico do leite, pois das bactérias patogênicas não esporuladas eram os mais termorresistentes.

A Comissão do Codex Alimentarius, da Organização Mundial de Saúde (OMS, 1982), define, como pasteurização o processo aplicado ao leite com o objetivo de reduzir ao mínimo os possíveis perigos para a saúde, provenientes de microrganismos patogênicos associados ao leite. Tal processo consiste em um tratamento térmico que provoque a mínima alteração química, física e organoléptica no produto.

O Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária dos Produtos de Origem Animal – RIISPOA (Brasil, 1997) define pasteurização como o emprego conveniente do calor, com o fim de destruir a totalidade da flora microbiana patogênica, sem alteração sensível da constituição física e equilíbrio químico do leite, sem prejuízo de seus elementos bioquímicos, assim como de suas propriedades organolépticas normais.

A legislação brasileira (Brasil, 1997) permite dois tipos de pasteurização, a lenta com temperatura de 62° a 65°C por 30 minutos e a rápida com temperatura de 72° a 75°C por 15 a 20 segundos.

Teixeira Neto & Vitali (1995) desenvolveram um pasteurizador para leite de cabra embalado em saquinhos de polietileno, destacando a simplicidade do equipamento e seu manejo, independente do grau de instrução do operador. Teixeira Neto et al. (1997) estudaram a pasteurização do leite na própria embalagem em banho-maria com objetivo de verificar a viabilidade técnica da pasteurização do leite no protótipo desenvolvido. Os autores concluíram que o leite embalado e depois pasteurizado em banho-maria apresentou condições de consumo semelhantes ao obtido pelo processo convencional de pasteurização. Foi ressaltado que a vida de prateleira do produto estava ligada a qualidade microbiológica após a pasteurização e tinha relação direta com a qualidade higiênico sanitária do leite cru.

A vida útil de um produto ("shelf life" ou vida de prateleira) é definida como o tempo entre o processamento e o ponto no qual o produto torna-se inaceitável para o consumo (Cromie, 1995). Alguns autores definem vida útil ou de prateleira como sendo o tempo em que o produto permanece agradável e seguro do ponto de vista de saúde pública, não apresentando alterações de ordem física, química ou organolépticas (Muir, 1996).

O termo vida de prateleira estendida, ESL ou "extended shelf life" está sendo muito utilizado atualmente na Europa, Estados Unidos e Austrália. Não há uma definição geral para o termo significando basicamente a capacidade de aumentar ou prolongar a vida de um produto tradicional, conhecido e aceito como vida de prateleira, sem causar degradações significativas na qualidade do produto final (APV Nordic, 1996).

Segundo Blake (1998) um tratamento térmico de leite entre 100°C e 140°C produz um produto com vida de prateleira de 15 a 30 dias a 7°C, conhecido como leite ESL, que está sendo processado comercialmente para se expandir à área de distribuição de leite fluido.

O leite pasteurizado pode ser considerado inaceitável quando ocorrem mudanças microbiológicas, bioquímicas ou físicas no produto final. Fatores que mais contribuem para a vida útil do produto final são: qualidade do leite cru, condições de pasteurização, tipos de embalagem e condições de estocagem como temperatura, luz, etc. (Cromie, 1991).

Com o advento de novas tecnologias, de mudanças nas indústrias como descentralização e de mudanças sociais como grandes centros urbanos e novos hábitos dos consumidores com menor frequência de visitas aos supermercados, têm-se dado ênfase em aumentar a vida de prateleira de certos produtos como o leite e seus derivados. Porém, com

a quebra freqüente na cadeia de frio durante a distribuição (laticínios, supermercados e consumidores), o leite pasteurizado tem que apresentar uma boa qualidade, para prevenir sua deterioração na temperatura mais elevadas (Hoffmann et al. 1996).

Segundo o Código de Defesa do Consumidor (1990), no Brasil a vida de prateleira de um leite pasteurizado é determinada pelos fabricantes levando-se em consideração não somente as características físico-químicas e microbiológicas, mas também suas propriedades organolépticas. A vida útil de um leite pasteurizado é de 2 a 3 dias em condições adequadas de armazenamento, exceto para os leites pasteurizados tipo A que podem chegar a 7 dias sob refrigeração.

Com o objetivo de aumentar a qualidade do leite fluído significativamente, vários sistemas com tecnologias combinadas tem sido utilizados na Comunidade européia como: sistema "pure-lac system" desenvolvido pelas firmas APV (Dinamarca) e Elopak (Noruega) (Fredsted et al. 1995; Russell 1996) e sistema "tetra therm ESL system" desenvolvido pela Tetra Pak (Dinamarca) (Larsen 1995).

Russell (1996), cita um processo para produzir leite ESL com 28 dias de prateleira patenteado em 1980. O processo é uma combinação de sistema de pasteurização a alta temperatura (120°C-130°C/1 s), resfriamento rápido, seguido de embalagem asséptica e estocagem sob refrigeração (5°C).

Muitos processos de tratamentos térmicos têm sido sugerido na Comunidade Européia. Uma avaliação detalhada desses processos deve ser feita, a fim de garantir que o produto final leite de vida de prateleira estendida/ESL tenha uma vida útil satisfatória com garantia de qualidade e um produto seguro (Glaeser, 1995; Blake, 1998).

Justificativa

Nos últimos anos, no Brasil, o mercado de leite brasileiro tem mostrado uma direção para o aumento cada vez maior da oferta e consumo de leite longa vida. Hoje, o mercado consumidor é superior a 70% desse produto em relação ao leite fluido comercializado no país. Mesmo com essa tendência não se pode esquecer de outras alternativas tecnológicas para o leite fluido no mercado.

Estima-se que 30 a 40% do leite distribuído à população brasileira não seja pasteurizado, sendo distribuído na forma de leite cru. Uma das possíveis razões para que isso aconteça talvez seja a falta de alternativas simples e econômica para a realização da pasteurização, antes da distribuição do produto aos consumidores.

O processo de pasteurização do leite é de grande importância para garantir ao consumidor um produto de qualidade, saudável, livre de doenças provenientes de animais em tratamento e/ou controle deficientes, de doenças como brucelose, febre aftosa e tuberculose.

O leite no mercado brasileiro é comumente processado a temperatura de 72-75°C/15- 20 s (HTST - high-temperature short time) ou a altas temperaturas, que é o leite "longa vida", 132 a 150°C/2 a 4 s (UHT - Ultra high temperature). O leite pasteurizado (HTST) é um produto de vida de prateleira de no máximo 5 dias, mantido sob refrigeração e se deteriora rapidamente pelo crescimento de microrganismos psicotróficos e/ou outros deteriorantes.

Em outros países como os Estados Unidos, em alguns países da Europa e na Austrália, onde a oferta de leite fresco tem sempre seu espaço no mercado, existe hoje cada vez mais forte o movimento no sentido de encontrar alternativas de leite considerado fresco mas que tenham um tempo de vida de prateleira maior. Aliado a esse fato existe uma busca cada vez maior por embalagens alternativas e o mercado tem sempre se mostrado cada vez mais diversificado.

Por todos esses motivos, entendeu-se ser importante uma investigação científica no desenvolvimento, com nossa matéria-prima de um produto com essas características e por

um processo no qual tenhamos o domínio tecnológico. Esse leite foi definido em nosso trabalho como leite de vida estendida ou leite ESL.

Foram realizados estudos e processos para a produção de um leite com vida útil maior que o dos leites pasteurizados brasileiros e com a qualidade microbiológica e sensorial superior. Os consumidores teriam a vantagem de consumirem um produto de melhor qualidade com características sensoriais mais próximas ao sabor “fresco” com uma vida útil maior, com a possibilidade de incluir o leite nas compras da semana sem a necessidade de irem diariamente nas padarias.

Objetivos

Os objetivos deste trabalho foram:

- Comparar a pasteurização de leite através de dois processos distintos especificados em legislação: pasteurização rápida em unidade com trocador de calor a placas (72°C a $75^{\circ}\text{C}/15$ a 20 segundos) e lenta na própria embalagem (62°C a $65^{\circ}\text{C}/30$ minutos).
- Verificar a influência da qualidade da matéria-prima, em leites produzidos utilizando pasteurização rápida em unidade com trocador de calor a placas (72°C a $75^{\circ}\text{C}/15$ a 20 segundos) e pasteurização lenta na própria embalagem ($65^{\circ}\text{C}/30$ minutos) ao longo da vida de prateleira.
- Estudar a produção e a aceitabilidade de leite de vida de prateleira estendida, utilizando os binômios de $74^{\circ}\text{C}/17,5$ s, $81^{\circ}\text{C}/10$ s e $87^{\circ}\text{C}/10$ s, com envase asséptico.
- Avaliar o efeito da temperatura de armazenamento sobre a vida de prateleira do leite ESL produzido utilizando-se os binômios de $74^{\circ}\text{C}/17,5$ segs, $81^{\circ}\text{C}/10$ s e envase asséptico.
- Comparar os parâmetros físicos, químicos, bioquímicos e microbiológicos que caracterizaram a qualidade e a vida de prateleira dos leites processados nas diferentes etapas do trabalho.

Capítulo 1

Revisão Bibliográfica

Este capítulo será submetido à publicação na Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos

Revisão Bibliográfica

Considerações gerais sobre o leite

O leite é um produto secretado por todas as espécies de mamíferos para nutrir e conferir proteção imunológica ao recém-nascido (Veisseyre, 1988), além de ser o alimento mais difundido é o mais perfeito para as crianças e o mais importante para os adultos. Nenhum outro alimento é capaz de melhorar dietas deficientes tanto quanto o leite (Villares, 1959).

Walstra et al (1984) definem leite como sendo a secreção elaborada das glândulas mamárias das fêmeas de mamíferos para nutrir suas crias. É um líquido complexo que contém componentes em diferentes estados de dispersão e sua composição determina sua qualidade nutritiva e seu valor como matéria-prima para fabricar produtos alimentícios.

Veisseyre (1988) caracteriza o leite como um líquido branco, opaco, às vezes mais viscoso que água, de sabor ligeiramente açucarado e de odor pouco acentuado. Constitui um sistema químico e físico-químico muito complexo, cujo conhecimento é indispensável para que se possa compreender os princípios de tratamento e da transformação do produto.

O Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária dos Produtos de Origem Animal-RIISPOA define leite como sendo um produto normal, fresco, integral, oriundo da ordenha completa e ininterrupta de vacas sadias. Quando o Regulamento cita a palavra leite, sem outra especificação, pode ser utilizado apenas para o leite de vaca (BRASIL, 1997).

O leite apresenta um valor nutritivo atribuído à presença de proteínas, carboidratos, gordura, sais minerais e vitaminas em teores adequados, tanto no aspecto qualitativo como no quantitativo. Nesse contexto, o leite destinado ao consumo humano tem despertado a atenção de pesquisadores, tendo em vista sua importância no aspecto nutricional, econômico, social e de saúde pública sob o enfoque global de segurança alimentar (Cardoso, 2000).

Segundo a Federação Internacional de Laticínios (IDF, 2003), a produção de leite no mundo passou de 577 milhões de toneladas, em 2000, para 599 milhões de toneladas, em 2003, sendo a produção mundial de leite de vaca a que mais cresceu nos últimos anos,

atingindo a marca estimada de 505 milhões de toneladas anuais, sendo a Europa Ocidental um dos maiores produtores de leite, seguido pela América do Norte, Ásia e América do Sul.

No Brasil, até o ano de 2004, a produção de leite estava estimada em 23.526 milhões de litros/ano, com um total de 20.114 mil cabeças de vacas ordenhadas com uma produtividade de 1170 L/vaca/ano (Embrapa, 2005 b). A estimativa de consumo per capita aparente / ano de leite fluido no ano de 2003 no Brasil, foi de 122,6 litros / habitante (Embrapa, 2004 d). De acordo com a Federação Internacional de Laticínios (IDF, 2003), a produção de leite está estimada em 23 milhões de toneladas, obtidas principalmente por pequenos produtores ou através de cooperativas que encontram grandes dificuldades para produzir o leite de boa qualidade.

Na classificação mundial dos países produtores de leite o Brasil ocupou no ano de 2004, o sexto lugar ficando atrás dos EUA, Índia, Rússia, Alemanha e França (Embrapa, 2005 a). O consumo de leite fluido no ano de 2000 foi totalizado em 5.230 milhões de litros, divididos em leite UHT com consumo de 3.600 milhões de litros (68,5%), leite tipo A com um consumo de 40 milhões de litros (0,76%), leite tipo B com 400 milhões de litros (7,6%) e leite tipo C, incluindo o leite reidratado, com um consumo de 1190 milhões de litros (23,0%) (Embrapa, 2005 c).

Tratamento térmico

Desde a descoberta do fogo, o homem usou calor para preparar alimentos, preservá-los e conservar seu sabor. Segundo Sommer (1952), citado por Hall & Trout (1968), o cientista sueco Scheele, em 1782, usou o calor na preservação de vinagre e, em 1765, Spallanzini preservava extratos cárneos em frascos selados por ebulição por 1 hora. Nicholas Appert, em 1804, publicou um trabalho intitulado "A arte de preservação de substâncias animal e vegetal". Em 1824 William Dewees, citado por Hall & Trout (1968), professor de obstetrícia da Universidade da Pensilvânia, recomendou o aquecimento do leite próximo ao ponto de ebulição e depois resfriamento para a alimentação de crianças.

O desenvolvimento e a adoção da prática de pasteurização não foram facilmente aceitos; muitas objeções foram feitas no início do século XX. Somente através de tempo e muitas pesquisas, principalmente com dados de que leite cru poderia ser um perigo para a

saúde, foi que o método começou a ser adotado oficialmente em várias cidades americanas no início do século e a pasteurização passou ser obrigatória (Hall & Trout, 1968).

Ajzental (1994), em um breve histórico sobre tratamento térmico do leite relata que Pasteur, em 1866, relacionou a deterioração de um alimento por microrganismos, recomendando o aquecimento controlado do vinho, de forma a reduzir a carga microbiana, com conseqüente aumento da vida útil do produto. Alguns anos mais tarde, Soxlet sugeriu a utilização do tratamento térmico à baixa temperatura em leite engarrafado, que seria usado como alimento para crianças, sendo a primeira vez o conceito de pasteurização aplicado ao leite (Ajzental, 1994).

No início do século XX, o bacilo de Koch (*Mycobacterium sp*) foi considerado o microrganismo de escolha para a pesquisa de tratamento térmico do leite, pois das bactérias patogênicas não esporuladas eram as mais termorresistentes. Entre 1923 a 1926 ocorreram na Inglaterra 955 surtos de doenças transmitidas ao homem através do leite cru, com 440.177 pessoas enfermas e 804 mortes (IDF, 1986).

Muitas definições de pasteurização de leite foram elaboradas no ano de 1922 em diversas cidades americanas e combinações como 60°C por 20 minutos foram as mais baixas sugeridas sendo 61,1°C a 62,8°C por 30 minutos as mais utilizadas (Hall & Trout., 1968).

North & Park. em 1927 apresentaram um grande dilema aos pesquisadores da época. Existia um grande número e variabilidade de pasteurizadores comerciais com diferentes dados sobre destruição dos microrganismos patogênicos e esses dados eram muito confusos. Desde 1897 até aquela época os trabalhos sobre tempo e temperatura de destruição térmica do *Mycobacterium tuberculosis* apresentavam variações muito grande, como pode-se verificar na tabela 1.

Baseados nesses dados discrepantes, North & Park. (1927) pesquisaram a curva de morte térmica do bacilo da tuberculose, encontrando várias combinações de tempo e temperatura. Associada às pesquisas e ao aprimoramento dos trocadores de calor a placas, no início dos anos 30, a pasteurização utilizando alta temperatura e tempo curto "HTST" (High Temperature Short Time), começou a ser aceita pelos órgãos oficiais e profissionais de saúde pública.

Em 1941, Workman, citado por Ajzenal (1994), estudando os efeitos do binômio temperatura/tempo, concluiu que 71,7°C por 15 segundos resultava na completa destruição de microrganismos patogênicos. Esses parâmetros foram então considerados como aceitos para o sistema "HTST". De 1938 a 1941, a pasteurização em tanques foi sendo substituída rapidamente pelo método HTST (72°C/15 s).

Tabela 1 - Investigações sobre morte térmica do *Mycobacterium tuberculosis*

| Ano | Autor | Temperatura (°C) de morte do bacilo da tuberculose |
|------|------------------|--|
| 1879 | Galtier | 70 por tempo suficiente |
| 1881 | Aufrecht | 100 por 3 minutos |
| 1882 | Martin | até alcançar 80 |
| 1883 | May | até alcançar 100 |
| 1884 | Schill & Fischer | 100/10 a 20 min |
| 1887 | Voelsch | 100 por duas vezes |
| 1890 | Bitter | 75/15 min |
| 1892 | Bang | até alcançar 80 |
| 1894 | Schroeder | 60/15 min |
| 1899 | Smith | 60/20 min |
| 1900 | Kobrak | 50/4 horas |
| 1903 | Hesse | 60/1 hora |
| 1908 | De Jong | 71/30 min |
| 1912 | Savage | até alcançar 100 |
| 1916 | Patzschke | 75/5 s |
| 1925 | Macauly | 62,5/30 min |
| 1926 | White | 62,5/10 min |

Ref.: (North & Park, 1927)

Em 1941, Workman, citado por Ajzenal (1994), estudando os efeitos do binômio temperatura/tempo, concluiu que 71,7°C por 15 segundos resultava na completa destruição de microrganismos patogênicos. Esses parâmetros foram então considerados como aceitos

para o sistema "HTST". De 1938 a 1941, a pasteurização em tanques foi sendo substituída rapidamente pelo método HTST (72°C/15 s).

Em 1923 foram registrados os primeiros testes de pasteurização HTST (alta temperatura, tempo curto, 72°C/15 segundos). Entre 1927 a 1933, também na Inglaterra, foram testados vários modelos de pasteurizadores HTST e em 1929, o trocador a placas foi levado para os Estados Unidos. Em 1938 o problema de controle de temperatura em trocador a placas para o sistema HTST foi resolvido com o desenvolvimento de uma válvula especial de desvio de fluxo (Hall & Trout, 1968).

No Brasil, a obrigatoriedade da pasteurização do leite ocorreu em julho de 1939, quando o Governo do Estado de São Paulo baixou o decreto nº10.126/1939, instituindo o "Regulamento do Policiamento do Serviço de Alimentação Pública" que, entre outras exigências, estabelecia que todo o leite a ser distribuído à população a partir de 1 de dezembro de 1939, deveria ser "pasteurizado" (Meirelles, 1983).

Charles Porcher, em 1933 definiu o objetivo da pasteurização do leite como destruir, pelo emprego apropriado do calor, quase toda sua flora banal e a totalidade de sua flora patogênica, procurando alterar o menos possível sua estrutura física, seu equilíbrio químico e suas vitaminas (Veisseyre, 1988).

Dias & Rogick (1967) definiram a pasteurização como sendo um tipo especial de aplicação de calor, que leva em conta a particularidade de líquido fisiológico e vivo, cuja vitalidade deve ser mantida. A correta utilização da temperatura e tempo tem como objetivos básicos a destruição dos microrganismos patogênicos, tendo como referência o *Mycobacterium tuberculosis* e a *Coxiella burnetti* que são formas não esporuladas mais resistentes ao calor; e a destruição de 99,5 % dos germes banais (Barros et al., 1984).

Como padrão de resistência ao calor inicialmente considerou-se o *Mycobacterium tuberculosis* como o microrganismo mais resistente entre os patogênicos, de tal modo que os índices de temperatura (71,1°C) e tempo (15 segundos), finalmente adotados como satisfatórios, não só foram eficientes, como ainda ofereciam segurança ao consumidor. Atualmente o controle de temperatura de pasteurização eficiente e segura do leite tem como base a sobrevivência da *Coxiella burnetti*, agente causador da febre Q no homem, que apresenta a resistência ao calor superior a do *Mycobacterium tuberculosis*, necessitando de um tratamento de 71,7°C por um tempo de 15 segundos (Dias & Rogick, 1967).

A Comissão do Codex Alimentarius (1982), da Organização Mundial de Saúde (OMS), define como pasteurização o processo aplicado ao leite com o objetivo de reduzir ao mínimo os possíveis perigos para a saúde, provenientes de microorganismos patogênicos, associados ao leite. Tal processo consiste em um tratamento térmico que provoque as mínimas alterações químicas, físicas e organolépticas do produto.

O Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária dos Produtos de Origem Animal – RIISPOA (Brasil, 1997), define pasteurização como o emprego conveniente do calor, com o fim de destruir a totalidade da flora microbiana patogênica, sem alteração sensível da constituição física e equilíbrio químico do leite, sem prejuízo de seus elementos bioquímicos, assim como de suas propriedades organolépticas normais.

A legislação brasileira (Brasil, 1997) permite dois tipos de pasteurização, a lenta com temperatura de 62° a 65°C por 30 minutos e a rápida de curta duração com temperatura de 72° a 75°C por 15 a 20 segundos. Esses parâmetros de temperatura/ tempo de pasteurização foram confirmados na Instrução Normativa nº51, de 18 de setembro de 2002 do Ministério de Estado da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, onde define o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de leites cru, refrigerado e pasteurizado permitidos no Brasil.

Geralmente tratamentos térmicos com temperatura abaixo de 100°C são usados em processos de pasteurização. O processo de pasteurização não inativa todos os microorganismos presentes, portanto algumas condições de controle adicionais devem se fazer necessária, tais como baixas temperaturas de estocagem, redução de acidez, redução da atividade de água, etc, dependendo do produto final (ICMSF, 1980).

Os padrões de temperatura/tempo para pasteurização atualmente utilizados são diferentes para os diversos países, como pode-se verificar na tabela 2 (Staal, 1983).

Tabela 2 - Padrões de tempo e temperatura para a pasteurização em diversos países

| País | Temperatura/tempo |
|-------------|--|
| Alemanha | 62-65°C/30 min.; 71,5°C/15 s; 85°C mínimo (HTH) |
| Austrália | 61-65°C/30 min.; 72-73,5°C/15 s |
| Brasil | 62-65°C/30 min; 72-75°C/15 s |
| Canadá | 62,8°C/30 min; 72,8°C/16 s |
| França | 63°C/30min; 72-75°C/15 s aquecimento instantâneo a 95°C |
| Índia | 63°C/30 min.; 71,5°C/15 s |
| Suíça | 65°C/30 min; 72-75°C/15-30 s; 80°C-90°C/4-15 s |
| Reino Unido | 62,8°C-65,6°C/30min; 71,7°C/15 s |
| USA | 63°C/30 min.; 72°C/15 s; 89°C/1,0 s 90°C/0,5 s; 94°C/0,1 s; 96°C/0,05 s; 100°C/ 0,01 s. |

Ref.: (Staal, 1983)

Pasteurização na embalagem

A pasteurização na embalagem pode ser utilizada para vários produtos, inclusive a cerveja (Broderick, 1977). A pasteurização de leite na garrafa é uma maneira de garantir um tratamento térmico ao produto evitando a contaminação pós pasteurização. O método consiste em encher as garrafas com leite, aquecê-las à temperatura de 63°C a 66°C por 30 minutos e resfriá-las. Outro processo de pasteurização na garrafa, consiste em aquecer o leite a temperatura de pasteurização e depois colocá-lo em garrafas aquecidas. Após o fechamento, as garrafas são colocadas em um tanque com água quente ou em câmara de ar quente. Após 30 minutos, as garrafas passam por jatos de água fria para a redução da temperatura e resfriamento do produto (Hall & Trout, 1968).

Já em 1918, Hammer & Hauser, citados por Hall & Trout (1968) estudaram a uniformidade de aquecimento do método de pasteurização na embalagem final. O método consistia em mergulhar garrafas fechadas com tampas de metal em um tanque com água a

temperatura não inferior a 43°C, sendo depois elevada a temperatura rapidamente por um aquecedor de vapor até cerca de 64°C, após a pasteurização o leite era resfriado com jatos de água fria. Utilizava-se uma garrafa termômetro para verificação da temperatura. Os pesquisadores concluíram que o problema de uniformidade no aquecimento merecia cuidadosa consideração tanto no método de pasteurização na embalagem como em outros métodos.

Segundo Westhoff (1978), entre os anos de 1910 e 1925, os métodos comerciais usados para tratamento térmico do leite eram: método "holding" ou lento, onde o leite era aquecido em um tanque, ou então bombeado para dentro do tanque a temperatura de 60°C a 65,6°C por 30 minutos; o método "flash" ou rápido, onde o fluxo contínuo de leite era aquecido por cerca de 71,1°C por 30 segundos a 1 minuto; método "in-bottle" ou na garrafa, onde as mesmas eram enchidas com leite e aquecidas a 62,8°C por 20 a 30 minutos; método "bottling hot" ou engarrafamento a quente, onde o leite era aquecido 62,8°C por 30 minutos, colocado quente em garrafas aquecidas no vapor por 2 minutos.

Souza et al. (1996) estudaram a eficiência dos processos de pasteurização lenta (62° a 65°C por 30 minutos em banho-maria) e pasteurização rápida (72°C a 75°C por 15 a 20 segundos em pasteurizador a placas), avaliando as características microbiológicas e bioquímicas nos leites A, C e integral. Neste estudo, a matéria-prima utilizada não era de uma mesma origem e tampouco da mesma qualidade microbiológica e a pasteurização foi realizada em instalações físicas diferentes, em indústrias diferentes. Concluíram que o método rápido foi mais eficaz na diminuição da contagem bacteriana do que o método em banho-maria; porém ambos foram efetivos com relação à inativação da enzima fosfatase. Já com relação a enzima peroxidase, o método rápido apresentou um número significativamente maior de amostras fora do padrão, revelando um excesso de tratamento térmico em mais de 70% das amostras, contra 20% das do processo lento.

Teixeira Neto et al. (1994, 1995) desenvolveram um pasteurizador para leite de cabra embalado em saquinhos de polietileno e estudaram a pasteurização desse leite em banho-maria a temperatura de 65°C por 45 minutos. Concluíram ser seguro o uso deste equipamento para pasteurização de leite previamente embalado. Os autores destacaram ainda a simplicidade do equipamento e seu manejo, independente do grau de instrução do operador.

Teixeira Neto et al. (1997) estudaram a pasteurização do leite na própria embalagem em banho-maria com o objetivo de verificar a viabilidade técnica do protótipo desenvolvido por Teixeira Neto et al. (1995). Concluíram que o leite embalado e depois pasteurizado em banho-maria apresentou condições de consumo semelhantes ao obtido através do processo convencional de pasteurização. Ressaltaram que a vida de prateleira do produto estava ligada a qualidade microbiológica após a pasteurização e tinha relação direta com a qualidade higiênico sanitária do leite cru, indicando assim condições de consumo e comercialização apropriados e seguros para o consumidor.

Vida de prateleira

A vida útil de um produto ("shelf life" ou vida de prateleira) é definida como o tempo entre o processamento e o ponto no qual o produto torna-se inaceitável para o consumo (Cromie, 1995).

Autores como Cromie et al., 1989; Cromie, 1991; Hoffmann et al., 1996; Muir, 1996, Blake et al., 1995 definem vida útil ou de prateleira, como sendo o tempo em que o produto permanece agradável, não apresentando alterações de ordem física, química ou organoléptica e seguro do ponto de vista de saúde pública.

Para Vatne et al. (1991), vida de prateleira é o tempo em dias desde a produção até o ponto de venda/compra/utilização do produto pelo consumidor; esse período geralmente é dado por legislação ou condições de mercado.

Larsen (1995), considera o termo "shelf life" ou vida de prateleira ambíguo, pois depende do critério a ser considerado como fator de qualidade; muitas vezes critérios diferentes definem o tempo de vida útil de um produto como: aceitação do consumidor, crescimento microbiano, alterações físico-químicas, etc.

A qualidade e durabilidade de um produto dependem em grande parte da qualidade da matéria-prima utilizada na sua fabricação (Hunn et al, 1980). Um leite cru de má qualidade reduz o tempo de vida útil do produto pasteurizado e ainda dificulta a padronização dos derivados (Costa et al, 1984).

A população microbiana no leite pasteurizado, seu crescimento e atividades metabólicas limitam o tempo o qual o leite pode ser estocado para consumo. Pode-se

maximizar a vida de prateleira reduzindo o crescimento microbiológico e suas atividades metabólicas, sendo baixas temperaturas de estocagem meios efetivos para prolongar a vida de prateleira do leite (Cromie, 1991).

O termo vida de prateleira estendida, ESL ou “extended shelf life”, está sendo muito utilizado atualmente na Europa, Estados Unidos e Austrália. Não há uma definição geral para o termo ESL significando a capacidade de aumentar ou prolongar a vida de prateleira bem conhecida e aceita de um produto tradicional, sem causar degradações significativas na qualidade do produto final (APV Nordic, 1996).

O termo vida de prateleira estendida ou ESL muitas vezes se refere ao processo tecnológico utilizado para aumentar a vida de prateleira de um produto bem conhecido, como por exemplo o leite de consumo. Esse termo tem sido usado para se referir à leites refrigerados com uma vida de prateleira de 2-3 semanas até 3 meses (Binet, 1997).

Blake (1998) relatou que tratamentos térmicos de leite entre 100°C e 140°C produziram um novo produto com a vida de prateleira de 15 a 30 dias à 7°C, conhecido como leite ESL. Esse leite estava sendo processado comercialmente no Estados Unidos com o objetivo principal de, através de uma vida útil maior, poder expandir a área de distribuição do leite.

Valle et al. (1979) realizaram trabalho de pesquisa em que produziram leite tratado termicamente a 130°C/4 s, em um equipamento de esterilização indireto, embalado não assepticamente e armazenado a 4°C, e obtiveram produtos com até 20 a 25 dias de vida de prateleira.

Nos Estados Unidos o leite pasteurizado tem vida de prateleira normal de 7 a 14 dias, bastante limitada por ser um produto altamente perecível (Cromie et al., 1989). Com o advento de com novas tecnologias; com descentralização nas indústrias e mudanças sociais como urbanização e novos hábitos dos consumidores (menor freqüência de visitas aos supermercados) tem-se dado ênfase em aumentar a vida de prateleira de certos produtos, principalmente leite e seus derivados. Porém com a quebra freqüente na cadeia de frio durante a distribuição (laticínios, supermercados e consumidores) o leite pasteurizado tem que apresentar uma boa qualidade, para prevenir a deterioração caso seja mantido a elevadas temperaturas (Hoffmann et al., 1996).

Muitos trabalhos (Valle et al., 1979; Cromie et al., 1989; Cromie, 1991; Vatne & Castberg, 1991; Blake et al., 1995; Hoffmann et al. 1996; Muir, 1996) tem sido realizados com o intuito de aumentar a vida útil do leite pasteurizado para produzir leite com vida de prateleira estendida, que seja aceitável e seguro para o consumidor, às vezes apenas com modificações de temperaturas de pasteurização, outras vezes com a incorporação de novas tecnologias ao processo de beneficiamento.

Segundo Cromie (1991), Fredsted et al.(1995), Binet (1997) e Blake (1998) alguns fatores que contribuem e/ou afetam a vida de prateleira do leite pasteurizado são qualidade da matéria prima (microbiológica e físico-química); condições de pasteurização (diferentes tratamentos térmicos); contaminação durante a pasteurização e embalagem; presença e atividade de contaminantes pós pasteurização; meio ambiente (presença de microrganismos termorresistentes e/ou microrganismos psicrotróficos); tipos de embalagens (máquinas de enchimento, tampas); temperatura de estocagem e distribuição do produto; sistema de limpeza "cleaning in place" (CIP) e "sterilize-in place" (SIP).

Larsen (1995) e Nielsen (1995), em seus trabalhos de revisão sobre tratamento térmico de leite consideraram que o sistema de pasteurização HTST promoveu uma redução de 1,0 a 2,0 ciclos logarítmicos da carga inicial de microrganismos mesófilos totais. Nielsen (1995) considerou ainda uma vida útil de 10 dias para o leite pasteurizado (HTST), quando armazenado à temperaturas de 5°C e de 6 dias quando o leite foi armazenado à temperatura de 8°C.

No Brasil a vida de prateleira de um leite pasteurizado é determinada pelos fabricantes segundo o Código de Defesa do Consumidor (Brasil, 1990), levando em conta não somente as características físico- químicas e microbiológicas, mas também as propriedades organolépticas dos leites pasteurizados. A vida útil de um leite pasteurizado é em média de 2 a 3 dias em condições adequadas de armazenamento, exceto para o leite pasteurizado tipo A, onde sua vida útil pode chegar a 7 dias sob refrigeração. Em uma pesquisa no comércio varejista da cidade de Campinas, realizada pela autora, em janeiro/fevereiro de 2003, foram encontrados os prazos de validade constantes da Tabela 3.

Tabela 3 - Vida de prateleira de leites pasteurizados no Comércio de Campinas

| Leites Pasteurizados | | | | | |
|----------------------|-----------------|--------|-----------------|--------|-----------------|
| TIPO A | | TIPO B | | TIPO C | |
| Marca | Validade (Dias) | Marca | Validade (Dias) | Marca | Validade (Dias) |
| A 1 | 5 | B 1 | 4 | C 1 | 3 |
| A 2 | 6 | B 2 | 4 | C 2 | 4 |
| A2 - light | 6 | B 3 | 3 | C 3 | 3 |
| A 3 - 1L | 5 | | | | |
| A 3 - 2L | 5 | | | | |
| A 4 | 5 | | | | |
| A 5 | 7 | | | | |
| A 5 - light | 7 | | | | |

Ref.: Dados coletados pela autora, no Comércio Varejista da Cidade de Campinas em Fevereiro/Março/2003.

Fatores que influenciam a vida de prateleira

Qualidade do leite cru como matéria-prima

Ao deixar a glândula mamária durante a ordenha, o leite já traz consigo um número apreciável de microrganismos, alguns banais, outros patogênicos, dependendo do estado de saúde dos animais e das condições higiênicas na obtenção do mesmo. A qualidade do leite pode ser entendida tanto do ponto de constituição físico-química, como de condições higiênico-sanitárias (Villares, 1959).

A qualidade do leite cru está intimamente relacionada com o grau de contaminação inicial, com a temperatura e o tempo em que esse leite permanece da ordenha até a pasteurização. Em geral, quanto maior o número de contaminantes iniciais e quanto mais próximo de 30°C for a temperatura do leite, menor será o seu tempo de conservação (Oliveira, 1976). A contaminação do leite por microrganismos é indesejável, pois alguns causam doenças ao homem e outros deterioram o leite e seus subprodutos (Holmes et al, 1989).

O leite é um meio ideal para o desenvolvimento de bactérias, sendo sua flora natural constituída por cerca de 10^2 a 10^4 UFC/mL proveniente dos canais de saída, do úbere, dos equipamentos de ordenha utilizados durante a produção, etc.

Autores como Villares (1959); Busani et al. (1989); Hoffmann et al. (1996) e Blake (1998) citam ainda que uma boa qualidade da matéria prima é de grande importância para a qualidade dos produtos processados, principalmente no caso de leites pasteurizados, quando se quer produzir um leite de vida de prateleira estendida ou ESL.

De acordo com Zadow (1989) os microrganismos contaminantes podem provocar defeitos organolépticos e físico-químicos, acarretando perdas econômicas e problemas de saúde pública, diminuindo a vida útil do leite e seus produtos.

Avaliando as alterações mais comuns do leite, Caruso et al. (1983) ressaltam a acidificação, principalmente pela ação de bactérias como, *Streptococcus lactis*, *S. cremoris*, *S. thermophilus* e *Lactobacillus ssp*, sendo freqüente sobretudo quando o leite é mantido a temperatura superior a 12°C.

Os coliformes também podem influir na acidificação, transformando a lactose em ácido com produção de gás. As bactérias psicotróficas promovem a degradação das proteínas, principalmente a caseína, formando peptonas, aminoácidos, polipeptídeos ou mesmo amoníaco causando sabor amargo (Zadow, 1989).

Bactérias como *Brucella abortus*, *M. Tuberculosis*, *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus sp*, *Enterococcus faecalis* e outras também assumem importância na qualidade do leite, pois podem ser transmitidas ao homem pelo consumo de leite cru causando doenças, ou ainda são responsáveis por mudanças na cor, sabor e aroma nos teores de gordura, lactose,, proteína, cloro e sódio (Oliveira, 1976).

Estudos de revisão, feitos por Fredsted et al. (1995) revelaram que existe uma variação muito grande na qualidade do leite cru e essa variação não só é dependente das condições higiênicas no momento da ordenha, como também varia intensamente com a região de produção.

Para Silveira et al. (1998) a carga microbiológica do leite cru é de extrema importância na qualidade final de produtos lácteos. Um leite de baixa qualidade microbiológica não se conserva por longos períodos, mesmo sob refrigeração, devido a sua contaminação principalmente por bactérias psicotróficas formadoras ou não de esporos que

apesar de seu crescimento lento, produzem grande quantidade de enzimas proteases e lipases, que rapidamente alteram o produto final.

A deterioração do leite é conseqüência sobretudo, do desenvolvimento de microrganismos psicrotróficos, que produzem lipases e proteases termoestáveis, que não são inativadas durante o tratamento térmico. As lipases produzem cadeias médias e curtas de ácidos graxos que conferem ao leite sabor e aroma rançoso. As proteases hidrolisam as proteínas do leite, produzindo peptídeo. Por esta razão, altas contagens microbiológicas antes do tratamento térmico são indesejáveis, já que a ação residual dessas enzimas durante a estocagem resulta na redução da estabilidade do leite e sabores estranhos (Forsythe, 2002).

Para Hoffmann et al.(1996) um grande número de microrganismos psicrotróficos na matéria-prima pode produzir sabores estranhos, instabilidade protéica e enzimas termorresistentes que podem deteriorar o leite pasteurizado durante a estocagem. As principais espécies de bactérias psicrotróficos presentes em leites são bastonetes Gram-negativos, que representam 10% da flora do leite cru e após refrigeração se tornam dominantes (Fairbain et al., 1986).

De acordo com Kraft, citado por Almeida & Furtado (1983), microrganismos psicrotróficos, capazes de se multiplicarem a temperatura de 7°C ou menos, tem se tornado de grande interesse em países e regiões onde se pratica a refrigeração do leite na fazenda e/ou coleta de leite a granel. Nestas regiões têm sido notada a substituição da flora de bactérias deteriorantes mesófilas produtoras de ácido láctico por uma flora de bactérias psicrotróficas.

A maioria dos microrganismos psicrotróficos normalmente encontrados não se torna um problema sério pois são eliminados pela pasteurização, entretanto suas enzimas extra celulares são muitas vezes termoresistentes e estão associadas a proteólise e lipólise em leites e derivados (Almeida, 1998). Celestino et al.(1996), citado por Almeida (1998), observaram que estocagem de leite cru a 4°C por 48 horas causa aumento significativo do número de bactérias lipolíticas e proteolíticas.

Os microrganismos psicrotróficos são aqueles que podem crescer a temperaturas de 7°C, independente de sua temperatura ótima de crescimento. São destruídos facilmente pela pasteurização comercial, cujos parâmetros tempo e temperatura geralmente é dado por

legislação ou condições de mercado.(Blake, 1998). Já na década de 60 alguns pesquisadores (Eddy, 1960; Witter, 1961; Morse et al., 1968) sugeriram que o termo psicrotrófico fosse utilizado para indicar os microrganismos capazes de se desenvolverem a baixas temperaturas

Leites produzidos sob condições sanitárias contém menos de 10% do total da flora bacteriana como psicrotróficos, mas em leites produzidos sobre condições sanitárias inadequadas encontram-se mais de 75% são de microrganismos psicrotróficos (Cousin,1982). Com uma população inicial típica de 10^4 UFC/ mL, os microrganismos psicrotróficos podem aumentar até 10^6 UFC/ mL, depois 2 a 3 dias a 7°C. Tempo de estocagem de três dias antes da pasteurização é comum por causa do aspecto social e fatores econômicos (Muir et al, 1978).

Limpezas e sanitização inadequadas dos laticínios, equipamentos e plantas de processos provavelmente constituem a maior fonte de contaminação do leite cru com microrganismos psicrotróficos.(Cousins et al 1981). Esse grupo é extremamente importante principalmente em produtos conservados ou armazenados sob refrigeração por longos períodos de 1 a 4 semanas (Coghil & Juffs, 1979; Almeida, 1998; Gomes &Lemos, 1999).

Cromie (1991) considera que microrganismos psicrotrófilos e resistentes ao calor ocorrem em leite cru em níveis muito baixo de contaminação, em valores menores que 1 UFC/mL, muitas vezes não sendo considerado um problema sério para o leite tratados termicamente. Mesmo assim Cromie (1991), cita que estão sendo usados pelas indústrias métodos físicos de remoção no leite cru pelas indústrias como bactofugação e microfiltração.

Barros et al. (1984) estudando a eficiência do sistema de pasteurização de leite em São Paulo, observaram que, a presença de altas contagens de mesófilos no leite cru estava relacionada com baixas condições sanitárias e refletiam contaminações dos animais, úbere, ar, feno e utensílios. Altas contagens de mesófilos no leite cru influenciam a durabilidade do produto final (Covarrubias et al., 1978).

Segundo Gounot citado por Silveira et al (1998), o termo psicrotrófico têm confundido os microbiologistas desde o começo do século. Em 1877, Forster citado por Suhren (1989), foi o primeiro a observar o crescimento bacteriano a 0°C, desde então a terminologia usada para os microrganismos os quais são capazes de crescer e se multiplicar

a temperaturas de refrigeração ou congelamento têm-se sido confusa. Termos como psicrófilos, psicrófilos facultativos, tolerantes a frio, psicrotolerantes e psicrotróficos foram usados como sinônimos. O termo psicrotrófilo foi usado por Schmidt-Nielsen em 1902, citado por Suhren (1989), etimologicamente implica naqueles microrganismos que gostam do frio e tem uma preferência por crescerem a baixas temperaturas.

Em 1960, Eddy recomendou o uso do termo psicrofílico somente quando a temperatura ótima baixa estivesse envolvida e psicrotróficos para bactérias capazes de crescerem a 5°C ou menos, qualquer que fosse sua temperatura ótima de crescimento.

Kandler em 1966, citado por Suhren (1989), sugeriu o uso dos termos psicrofílicos, mesófilos e termófilos somente para aqueles casos quando as condições ótimas de temperaturas para a faixa de crescimento fossem bem definidas.

Nakae (1970) classificou microrganismos psicrotróficos como sendo as bactérias as quais crescem a 5°C/10 dias em três grupos com respeito as temperaturas ótima e máxima de crescimento em: verdadeiros psicrotróficos, mesotróficos psicrotróficos e psicrotróficos mesófilos. Posteriormente através de uma sugestão feita por Eddy (1960), o termo psicrotrófico passou a ser utilizado para aqueles microrganismos os quais são considerados mesófilos com respeito a sua temperatura ótima de crescimento, mas são também capazes de crescer bem a temperaturas abaixo de 10°C.

Em 1976, a Federação Internacional de Laticínios (IDF, 1976), definiu microrganismos psicrotróficos como sendo aqueles que podem crescer a temperatura de 7°C ou menos, independente de sua temperatura ótima de crescimento, crescimento nesse contexto inclui não somente multiplicação, mas também processos metabólicos os quais necessariamente precedem a multiplicação. Gounot (1986) e Silva (1991) citados por Silveira et al (1998), observaram que os microrganismos que normalmente contaminavam o leite cresciam numa ampla faixa de temperatura, incluindo além de microrganismos mesófilos, termófilos e psicrotróficos.

Leitão (1987), cita que a temperatura influi no crescimento dos microrganismos e também nos processos metabólicos e morfologia celular desses microrganismos. O crescimento microbiano é variável dependendo da característica do microrganismo e pode se situar em diferentes faixas de temperatura. Com base na temperatura ótima e intervalo de

crescimento os microorganismos podem ser divididos em quatro grupos principais conforme a Tabela 4.

Tabela 4 – Grupos de microorganismos em relação à temperatura

| Grupo de microorganismos | Temperatura (°C) | | |
|--------------------------|------------------|---------|---------|
| | Mínima | Ótima | Máxima |
| Psicrófilo | - 5 a +5 | 12 a 15 | 15 a 20 |
| Psicrotrófico | - 5 a +5 | 25 a 30 | 30 a 35 |
| Mesófilo | 5 a 15 | 30 a 45 | 35 a 47 |
| Termófilo | 40 a 45 | 55 a 75 | 60 a 70 |

Ref.: Leitão (1987)

Para Leitão (1987) a temperatura ótima de crescimento é aquela que possibilita o crescimento mais rápido do microorganismo durante um certo período de tempo, normalmente de 12 a 24 horas. A temperatura ótima de crescimento pode não ser a ótima para outras atividades celulares.

Tem-se observado que um grande número de espécies consideradas estritamente mesófilas já estão sendo incluídas também entre os microorganismos psicrotróficos (Silveira, 1988). Segundo o ICMSF (1980), como os microorganismos psicrotróficos crescem melhor a temperaturas moderadas, podem ser considerados como um subgrupo dos mesófilos, capazes de crescerem acima da temperatura mínima como a maioria dos mesófilos.

Muir (1996) considerou que se a contagem de microorganismos psicrotróficos for maior que 5×10^6 UFC/mL no leite cru (matéria prima) antes da pasteurização, haverá um prejuízo grande na vida útil desse leite. Para este mesmo autor, a flora psicrotrófica termodúrica que sobrevive à pasteurização (72°C/15s) e tem capacidade de se desenvolver a temperaturas de refrigeração, constitui um dos principais problemas limitantes da vida de prateleira de um leite pasteurizado e seus derivados.

Cromie (1991) porém, considera que microorganismos psicrotróficos termodúricos ocorrem em leite cru em níveis muito baixos de contaminação, ou seja, em valores menores que 1 UFC/mL, que muitas vezes não são considerados como sendo um problema sério para o leite pasteurizado.

Condições de tratamento térmico

Em leite pasteurizado, segundo Patel et al. (1983), citado por Cardoso (2000), é encontrado número reduzido de microrganismos sobreviventes ao tratamento térmico, principalmente psicotróficos. Para esses autores o leite pasteurizado pode ser estocado a 7°C por uma semana, antes que os microrganismos psicotróficos resistentes ao calor sejam detectados, o que depende obviamente da microbiota inicial.

Segundo Muir (1996), a maneira mais simples e efetiva de reduzir o número de microrganismos presentes no leite é através de aplicação de calor cuja eficiência do tratamento é determinada pela combinação de binômio temperatura/tempo.

Muitas vezes uma qualidade inferior do leite cru é compensada pelo aumento de temperatura do tratamento térmico com o objetivo de aumentar a qualidade e vida de prateleira dos leites pasteurizados. Porém, trabalhos como Fredsted et al. (1995); Schimidt et al. (1989 a); Cromie (1991) e observações pessoais têm mostrado que somente um aumento de temperatura de pasteurização, muitas vezes tem um efeito oposto ao esperado, deteriorando o leite pasteurizado mais rápido.

Muir (1996) considera que alguns microrganismos patogênicos, quando na forma de esporos, podem sobreviver à pasteurização (72°C/15 s) e crescer à temperaturas de refrigeração, como por exemplo *Clostridium ssp*, *Bacillus cereus*.

Fredsted et al. (1995) citam que os microrganismos termodúricos e esporos capazes de sobreviver à pasteurização, podem causar sérios problemas ao produto final, principalmente se forem estocados e distribuídos a temperaturas maiores que 5°C (8° a 12°C).

Um dos principais microrganismos que pode crescer em temperaturas baixas e sobreviver ao tratamento térmico em forma de esporo é o *Bacillus cereus*. Esse microrganismo em sua forma esporulada freqüentemente ocorre em leites e produtos lácteos pasteurizados e pode causar doenças ao consumidor (Muir 1996). Para Champagne et al (1994), citado por Almeida (1999) o *Bacillus cereus* é uma bactéria formadora de esporos e produtora de toxinas em baixas temperaturas. Além disso acarreta problemas tecnológicos em leites e derivados em contraste com outros patogênicos psicotróficos relacionados.

Em seu trabalho de revisão Fredsted et al. (1995) citam que um mesmo leite tratado a diferentes temperaturas e mesmo tempo apresentaram contagens iniciais diferentes após o tratamento térmico. O leite tratado a temperatura de 75°C e 80°C apresentou ao final de 7 dias contagens padrão menores que os leites tratados a 85°C e 90°C.

Fredsted et al. (1995); Vatne & Castberg (1991) e Schmidt et al. (1989) citam que o aumento do crescimento microbiano para leites tratados a temperatura mais alta pode ser devido ao estímulo do crescimento de microrganismos esporulados e /ou a possível destruição natural dos compostos inibidores do leite, como o sistema lactoperoxidase.

Cromie et al. (1989) realizaram trabalhos de pasteurização de leite com variação de temperaturas de pasteurização entre 72°C - 85°C/ 15 s com embalagens assépticas, estocados a diferentes temperaturas de refrigeração (3°C a 7°C). Para uma mesma temperatura de estocagem, verificou-se que a vida de prateleira foi maior para as temperaturas mais baixas de pasteurização até 76°C/15 s.

Em trabalhos anteriores Cromie et al. (1989) e Schmidt et al. (1989) chegaram a resultados parecidos com relação às temperaturas de pasteurização. Para um mesma temperatura de estocagem, o leite ESL que apresentou melhores características foi aquele que sofreu tratamento térmico a temperaturas menores que 80°C/15 s. O aumento da temperatura de pasteurização por si só, não implicou em leite ESL com maior vida útil (Cromie, 1991; Cromie et al., 1989; Hoffmann et al., 1996; Schmidt et al., 1989; Vatne & Castberg, 1991), outros fatores devem ser levados em consideração juntamente com o tratamento térmico; fatores como temperatura de estocagem do produto final, tipo de embalagem e recontaminação após pasteurização.

Blake et al. (1995) estudaram a produção de leite aquecido por injeção direta de vapor - Sterilab-Alfa Laval, a temperaturas entre 100°C-140°C/ 2-4 s, estocados a 7°C, com o objetivo de obter um leite ESL com até 60 dias de vida de prateleira. Concluíram que para temperaturas menores que 120°C/ 2-4 s a vida de prateleira do leite ESL ficou limitada a 15 dias sob refrigeração, devido ao crescimento de microrganismos coliformes e contagem global. Para os leites tratados com temperaturas maiores que 120°C, o leite ESL sob refrigeração apresentou vida de prateleira de até 60 dias.

No mesmo trabalho foram feitas comparações através de análises sensoriais e microbiológicas entre os leites ESL produzidos com leites comerciais HTST (high

temperature, short time - 74°C/16s.) e leites UHT (ultra high temperature - 140°C/2s). Blake et al.(1995) concluíram que os consumidores preferiram o leite HTST ao leite ESL e o leite ESL ao leite UHT quanto ao sabor a cozido. Quanto à aceitabilidade, os leites HTST e ESL foram igualmente aceitos e preferidos ao leite UHT, indicando que o leite ESL seria uma boa alternativa de mercado para leite fluido, a ser transportado sob refrigeração a longas distâncias. Blake et al. (1995) concluíram ainda que embora tratamentos térmicos menores que 134°C/4 s produzissem um leite ESL com sabor agradável, a possibilidade de crescimento microbiano de bactérias patogênicas foi maior do que para temperaturas maiores que 134°C/4s.

Overcast (1968), Cousin (1982) e Knight et al. (1989) citam que se o leite pasteurizado apresentar contagens de microrganismos psicrotróficos a partir de 10^5 UFC/mL podem ocorrer alterações sensoriais e a partir de 10^7 UFC/mL pode ocorrer à produção de fosfatase microbiana, ao longo da vida de prateleira.

Pesquisas realizadas por Johns (1971) indicaram que para um leite pasteurizado tratado convencionalmente, o crescimento de microrganismos psicrotróficos aumenta de 1 UFC/mL a 10^8 UFC/mL em 10 dias a temperatura de 7,2°C.

Para vários autores (Johns, 1969; Ledford, 1983; Mikolajcik, 1979; Patel, 1972; Punch et al., 1966), níveis de microrganismos psicrotróficos de 10^6 a 10^7 UFC/mL são responsáveis por modificações organolépticas em leites tratados termicamente.

Contaminação durante e pós pasteurização

A flora termodúrica psicrotrófica que sobrevive aos tratamento térmico de 72°C/15 s e tem capacidade de se desenvolver a temperaturas de refrigeração, constitui um dos principais problemas limitante da vida de prateleira de um leite pasteurizado (Muir, 1996).

Durante o processo de pasteurização do leite, a carga bacteriana mais representativa possui baixa resistência térmica, sendo eliminada durante o tratamento térmico (Fredsted et al. 1995).

A microbiota do leite pasteurizado é essencialmente restrita às bactérias termodúricas presentes inicialmente no leite cru, além daquelas provenientes de recontaminação do produto pasteurizado, principalmente devido à limpeza e sanificação inadequadas da superfície de contato dos equipamentos (Cardoso, 2000). O número e a diversidade dos microrganismos contaminantes são muito influenciados pelas temperaturas

prevalentes na manipulação e estocagem desse leite (Burton, 1986; Langeveld et al., 1996).

As possíveis fontes de contaminação de leites tratados termicamente após pasteurização são através de tubulações, tanques de estocagem, válvulas, máquinas de enchimento, etc., além de material de embalagem e condições ambientais (Fredsted et al. 1995).

A deterioração mais comum do leite pasteurizado distribuído em boa cadeia de frio é devido à recontaminação depois do tratamento térmico, com bactérias Gram-negativas e psicotróficas. Esses microrganismos geralmente estão associados com água de lavagem de equipamentos e crescem rapidamente em leites estocados a baixas temperaturas.(Fredsted et al., 1995).

Para Fredsted et al. (1995) a influência dos microrganismos do ar são de menor importância desde que medidas de higiene sejam tomadas para a manutenção de um meio ambiente em boas condições de limpeza. Estudos de contaminação de ar mostram que 85% são bactérias, 10% fungos e 5% leveduras. As principais bactérias do ar são Gram-positivas e geralmente não crescem bem a temperaturas baixas. Microrganismos psicotróficos Gram-negativos não estão geralmente no ar, mas podem ser introduzidos através de aerossóis criados por espirros de água e gotas de condensado em máquinas de enchimento (Cromie et al., 1989).

Fredsted et al. (1995) citam como fonte de contaminação de ar, o sistema de ventilação, movimento do ar dentro da planta, drenos e pessoal de produção. Resíduos de produtos de limpeza são também importantes fontes de contaminação.

Vatne et al. (1991) citam que o grupo de microrganismos psicotróficos Gram-negativos aparece principalmente como resultado de más práticas de limpezas e desinfecção de equipamentos nos laticínios. Consideram que mesmo contagens baixas de 10 UFC/mL de Gram-negativos podem causar deterioração prematura de leites ESL. Para Vatne et al. (1991) um ar de boa qualidade é quando se tem contagem global menor que 150 UFC/m³ e fungos e leveduras menor que 50 UFC/m³.

Trabalhos como os de Cromie (1991), Fredsted et al. (1995), Russell (1996) e Vatne & Castberg (1991) sugerem a utilização de máquinas de enchimento “ultra-clean” ou assépticas para se produzir leite ESL.

Fredsted et al. (1995) e Vatne & Castberg (1991) consideram que o material de embalagem pode ser fonte de contaminação; porém estes materiais são fabricados sob rigorosas condições de higiene e para leite ESL contagens na superfície dos cartões devem ser inferiores a 5 UFC/100cm².

Para Vatne & Castberg (1991) as contagens globais nas embalagens são tão baixas que raramente se encontram microrganismos psicrotóxicos Gram negativos em se tratando de leite ESL, desde que mantido a temperaturas menores que 10°C.

Cromie (1991) considera como limitante da vida de prateleira de leite pasteurizado e ESL, o crescimento de microrganismos psicrotóxicos Gram-negativos. Como esses microrganismos não sobrevivem a temperaturas de pasteurização (72° C/15s), sua presença indica uma contaminação pós tratamento térmico e o nível inicial desses contaminantes afeta a vida de prateleira do leite processado. A completa eliminação de qualquer contaminação pós pasteurização resulta em um aumento na vida de prateleira do leite pasteurizado e ESL.

Presença de microrganismos termorresistentes

Quando a contaminação pós-pasteurização é completamente eliminada, a vida de prateleira de leite pasteurizado ou ESL pode ser limitada pela presença e atividade de microrganismos termoresistentes, que são capazes de crescer a temperaturas de refrigeração (Cromie,1991).

De uma forma geral, os microrganismos termorresistentes podem influenciar diretamente a qualidade do leite, em função das evidentes alterações de odor, sabor e diminuição de sua qualidade, tornando-o muitas vezes impróprio para consumo (Anderson et al.,1995, citado por Cardoso, 2000). Por esta razão, Mottar & Waes (1986) sugerem que o controle desses microrganismos termodúricos de leite cru pode ser um recurso importante para garantir a qualidade do leite pasteurizado. Segundo Auclair (1986) a vida de prateleira de um leite pasteurizado pode se estender por seis semanas, quando estocado a 6°C ou menos, caso a contagem inicial de bactérias termodúricas no leite cru seja menor que 10⁴ UFC/mL.

Vanderberg (1986) recomendou que o número de microrganismos termodúricos seja controlado em estabelecimentos de pasteurização de leite, principalmente quando os trocadores de calor são utilizados durante períodos prolongados, acima de 6 horas.

Cromie (1991) cita como microrganismos termorresistentes espécies de *Bacillus*, em especial *Bacillus circulans* e *Bacillus cereus*. A combinação entre resistência ao tratamento térmico e a capacidade de germinação a baixas temperaturas conferem ao gênero *Bacillus* uma considerável capacidade de deterioração.

Estudos realizados por Meer et al. (1993), citado por Cardoso (2000), indicaram que a microbiota do leite tratado termicamente e estocado sob refrigeração consistia de 83% de *Bacillus*. Esses resultados confirmam a importância das bactérias termorresistentes, as termodúricas, que se caracterizam pela resistência a tratamentos térmicos, como a pasteurização 72°C/15 s (Cardoso, 2000).

O gênero *Bacillus* tem a capacidade de esporular, formando esporos altamente resistentes ao calor, capazes de sobreviver e se desenvolver em condições ambientais adversas. O solo é o principal reservatório e veículo disseminador deste gênero, dentre os quais *Bacillus cereus* que também é encontrado em outros ambientes e alimentos (Cardoso, 2000). Segundo Stumbo (1973) 1 g de solo chega a ter 10^5 esporos, assim o contato durante a ordenha e o uso dos equipamentos incorretos e mal higienização dos mesmos seriam os responsáveis pela presença de *Bacillus* no leite pasteurizado (Cardoso, 2000).

Para Blake (1996) a fonte primária de contaminação do leite cru com o gênero *Bacillus* é através da silagem. Os esporos entram no trato digestivo e não germinam, passando para as fezes, onde se encontram dez vezes mais concentrados. Pequenos traços de fezes no solo das salas de ordenhas ou no teto dos animais podem contaminar o leite cru.

Durante o processo de pasteurização do leite a 72°C-75°C/15 s, as células vegetativas são destruídas, exceto de alguns termodúricos, e a forma esporulada é estável ao calor. Esses esporos germinam e crescem em leite pasteurizado, quando encontram condições ótimas de crescimento (Cardoso, 2000).

No Brasil, Silveira et al. (1989) analisando amostras de leite pasteurizado tipos A, B e C na cidade de São Paulo, encontraram presença de *Bacillus cereus* em 28,7% de 430 amostras analisadas.

Cardoso (2000) analisou amostras de leites pasteurizados tipo A, B e C, na região de Campinas e encontrou presença de *Bacillus cereus* em 48,3% de um total de 240 amostras analisadas. Para Cardoso (2000), esse resultado é compatível com aqueles obtidos por

autores internacionais, em que a presença de *Bacillus cereus* em leites pasteurizados oscila entre 36 e 56%.

Segundo Andersson et al. (1995) o *Bacillus cereus* é atualmente um dos principais problemas de deterioração microbiana na indústria de laticínios. Essa bactéria é responsável pela "coagulação doce" (Blake,1996; Andersson et al., 1995) e pelo aparecimento de "bitty cream", além de ocasionar formação de biofilme e equipamentos.

Temperatura de estocagem e distribuição do leite

Para Cromie (1991) a temperatura de estocagem é o fator mais importante que afeta a vida de prateleira do leite ESL. Ele considera como sendo ideal para a estocagem dos leites ESL e pasteurizado, temperaturas menores que 3 a 4°C e cita que existe uma estreita relação entre vida de prateleira e temperatura.

Cromie (1991) fez estudos com leites ESL variando a temperatura de estocagem e utilizando embalagens assépticas. Como resultado desse estudo verificou que quanto maior a temperatura de estocagem, menor a vida de prateleira do leite ESL. Para temperatura de 12°C ocorreu um rápido crescimento microbiano alcançando populações de 10^7 UFC/mL em apenas 14 dias; para temperaturas 3°C até atingir contagens suficiente para deterioração levou 40 dias. A diferença entre a vida de prateleira de leites estocados a 3°C e 12°C foi de quatro semanas.

Hoffmann et al. (1996) avaliaram o uso de microfiltração para a produção de leite ESL e verificaram que a temperatura de estocagem altera bastante a vida do produto. A 10°C contagem global atingiu 10^6 UFC/mL após uma semana, que é acima do limite para a aceitação sensorial. A 5°C a mesma contagem de 10^6 UFC/ mL foi alcançada em três semanas e as propriedades sensoriais do leite ESL permaneceram aceitáveis. A vida do leite ESL foi de quatro semanas a de 5°C e duas semanas a 10°C. A 15°C não foi possível analisar o leite ESL, pois já estava deteriorado (Hoffmann et al., 1996).

Zalazar et al. citado por Almeida (1999) estudando o desenvolvimento de microrganismos psicrotróficos em leite estocados a 4°C e 6°C verificaram o aparecimento de alterações e defeitos organolépticos em contagens superiores a 10^6 UFC/mL. Almeida (1999) ainda conclui que baixas temperaturas de armazenamento (4°C ou inferiores) e boas práticas de higiene e produção são a melhor maneira de se controlar o crescimento de microrganismos psicrotróficos em leite tratados termicamente.

Vatne et al. (1991) em estudos feitos com leite ESL também consideraram a temperatura de estocagem como um fator determinante de vida de prateleira. Observaram que a cada 2°C de aumento de temperatura de estocagem, a velocidade de deterioração se duplicou. A 2°C de temperatura de estocagem, o leite apresentou uma vida de prateleira de 40 dias; com 4°C apresentou 20 dias, com 6°C apresentou 10 dias, com 8°C apresentou 5 dias e 12°C apresentou 1,25 dias de vida de prateleira.

Enzimas indicadoras de tratamento térmico do leite : fosfatase e peroxidase

A peroxidase é uma das enzimas mais o termorresistentes no leite, somente com um aquecimento a 81°C ou mais durante alguns segundos pode-se inativá-la (Santos,1966). Para Lampert (1975) a peroxidase é destruída quando o leite é aquecido a 75°C/5 minutos, enquanto para Spreer (1975) ela é inativada a 85°C/10 s. Quando presente em leite tratado termicamente (alta pasteurização) a partir de 85°C, demonstra que a pasteurização foi insuficiente (Lampert, 1975).

Atualmente a análise da presença da enzima peroxidase é utilizada para fazer a distinção entre um leite cru ou pasteurizado pelos processos modernos e um leite fervido ou que tenha sofrido tratamento térmico muito elevado, acima dos limites estabelecidos por legislação para processos de pasteurização (Santos, 1966).

Outra enzima naturalmente presente no leite cru é a fosfatase alcalina, que é inativada a temperaturas de pasteurização (71°C/15s), sendo internacionalmente reconhecida como um teste confirmatório para demonstrar se o leite foi pasteurizado corretamente ou se após a pasteurização, foi contaminado por leite cru (IDF, 1991).

A fosfatase é um constituinte natural do leite resultante do metabolismo das glândulas mamárias e seu nível varia grandemente dependendo da estação do ano, tipo de alimentação, estágio de lactação e do tipo de animal, se vaca, ovelha, cabra, etc (Murthy et al., 1995).

Kay & Graham (1935) foram os pioneiros no desenvolvimento e aplicação de um método para determinação de fosfatase alcalina, com a finalidade de determinar a eficiência da pasteurização de leite e demonstraram que esta enzima era inativada a temperaturas mais

altas do que as requeridas para destruir microrganismos patogênicos. Assim os autores propuseram que a destruição da fosfatase alcalina fosse usada como um teste para indicar correta pasteurização (IDF,1991; Murthy et al, 1992).

Outros autores americanos como Gilcreas & Davis, Scharer e outros citados por Murthy et al (1992), introduziram modificações nos métodos de Kay & Graham. Atualmente várias metodologias para se analisar a presença de fosfatase e ou metodologias de diferenciação de fosfatase residual e fosfatase reativável em leite pasteurizado e produtos lácteos tem sido descritos por Murthy et al, (1995).

Em certos produtos como creme de leite, a fosfatase alcalina inativada por uma pasteurização adequada, pode reaparecer. Esses falsos testes positivos podem ser causados por exposição do produto a temperaturas acima de 20 °C por 2 a 3 semanas e/ou na presença de íons de magnésio (Murthy et al, 1992; Fram, 1957).

A determinação da atividade da fosfatase é aplicada a produtos lácteos para determinar se a pasteurização foi feita corretamente e também para detectar se ocorreu uma possível mistura de leite cru ao leite pasteurizado. O tratamento térmico mínimo de 62,8°C/30 minutos ou 71,7°C por 15 segundos, aplicado comercialmente pode inativar a fosfatase e eliminar todos os microrganismos patogênicos não formadores de esporos, pois a enzima fosfatase apresenta uma resistência térmica maior do que a dos microrganismos patogênicos não esporulados. (Murthy et al., 1995). Leite e produtos lácteos quando apresentam resultados negativos de fosfatase são considerados adequadamente pasteurizados e seguros sob o ponto de vista da saúde pública.(Spreer, 1975; Murthy et al, 1995).

Entretanto, um teste positivo pode ser observado em produtos estocados a altas temperaturas por longos períodos, indicando a presença de fosfatase reativada (Overcast, 1968). Contaminação pós pasteurização dos produtos em condições de estocagem que permitem a proliferação de microrganismos podem produzir fosfatase microbianas. Overcast (1968) e Knight et al (1989) citaram que leites pasteurizados com contagens de microrganismos psicotróficos a partir de 10^7 UFC/mL podem apresentar a produção de fosfatase microbiana.

Algumas das fosfatases microbianas são sensíveis as temperaturas e tempo de pasteurização e algumas podem ser estáveis ao calor dependendo do tipo de microrganismos contaminantes (Murthy et al., 1995).

Processos utilizados para a fabricação de leite ESL - métodos alternativos para a pasteurização normal

Com o objetivo de aumentar significativamente a qualidade do leite líquido, técnicas para reduzir a contagem de esporos em leite tem sido utilizadas. Alguns processos tecnológicos como bactofugação, microfiltração e tratamentos térmicos a altas temperaturas (Cromie, 1991; Hoffmann et al., 1996; Muir, 1996), tem sido utilizados para a redução de esporos. Sistemas com várias tecnologias combinadas como "Pure-Lac System" (Fredsted et al. 1995; Russell 1996) e "Tetra Therm ESL" system (Larsen 1995) também tem sido utilizadas.

Bactofugação

A bactofugação é um processo que promove uma redução eficiente de células vegetativas e esporos através de centrifugação do leite e está sempre combinado com processos térmicos. O aumento da vida de prateleira de leite ESL é limitado e depende de fatores como qualidade do leite cru e temperatura de distribuição. A 7°C, o leite pasteurizado pode ter sua vida útil aumentada de 4 a 5 dias (Muir, 1996; Tetra-Pak-ESL, 1999 a e b).

Muir (1996) considera que até 95% dos esporos aeróbicos (principalmente *Bacillus cereus*) são removidos através da bactofugação.

Lehman et al. (1987); Fredsted et al. (1995), consideram que a bactofugação reduz o conteúdo de esporos aeróbicos na ordem de 80 a 90%, correspondendo a redução de 1 ciclo logarítmico. Fabricantes de centrifugas bactofugadoras afirmam que existem plantas de pasteurização com bactofugadoras operando no Canadá, produzido leite com contagem global menores que 10 UFC/mL e vida de prateleira de 20 a 30 dias. Porém esse processo não é muito aceito em países da Europa como a Inglaterra.

Microfiltração

A microfiltração é um processo que permite a eliminação de bactérias e esporos por separação através de membranas de filtração. Muir (1996) em testes laboratoriais com leite fluido, chegou a resultados de redução de contagem global de microrganismos de 10^7 a 10^{12} UFC/mL, com redução também no número de esporos.

Fredsted et al. (1995) consideram que é possível reduzir o conteúdo de esporos do leite desnatado pela técnica da microfiltração.

O aumento da vida de prateleira de um leite depende do tipo de membrana de microfiltração sua configuração e operação. A temperatura de estocagem e distribuição é um fator determinante, devido ao alto número de microrganismos sobreviventes. Com temperaturas de distribuição de 5 a 6°C, a vida de prateleira pode chegar a cinco semanas. Com 8 a 10°C o máximo da vida de prateleira de um leite ESL é de duas a três semanas (Tetra-Pak – 1999 a e b).

Hoffmann et al. (1996) realizaram testes com microfiltração para a produção de leite ESL, utilizando o sistema Tetra Pak Filtration Systems. Os autores consideram que uma combinação de microfiltração e pasteurização HTST, com o envase em condições assépticas produz um leite ESL com propriedades sensoriais boas e com uma vida de prateleira estendida desde que estocados a 5°C.

Os processos de microfiltração e ou bactofugação são utilizados para aumentar a qualidade da matéria-prima (leite cru) para leites e queijos (Hoffmann et al., 1996). Segundo Russell (1996) a microfiltração é considerada como sendo mais efetiva do que a bactofugação na redução da carga microbiana do leite cru, sendo muito utilizado comercialmente no Canadá para aumentar a qualidade do leite pasteurizado.

Processos combinados

Larsen (1995), Fredsted et al. (1995), Hoffmann et al. (1996) e Russell (1996) avaliaram combinações de processos tecnológicos (microfiltração) e tratamentos térmicos (HTST-72 a 75°C/15 segundos e HTT-120 a 140°C/2 a 3 segundos), com ou sem embalagens assépticas, na tentativa de se produzir leite ESL com vida de prateleira de quatro semanas ou mais, mantendo as características sensoriais de leite pasteurizado e com baixo conteúdo microbiano.

Larsen (1995) realizou trabalho em que produziu leite ESL pelo sistema Tetra Therm (Tetra Pak) e comparou a vida de prateleira desse leite ESL a leites pasteurizados (HTST). O objetivo do trabalho foi produzir um leite com as mesmas características químicas e organolépticas do leite pasteurizado, com conteúdo microbiano mais baixo e uma vida de prateleira estendida.

O sistema Tetra Therm ESL é uma combinação de processos de microfiltração com pasteurização e tratamento térmico mais intenso. O leite cru é pré aquecido, desnatado e microfiltrado em membrana de 1,4 micra, separado em leite desnatado pobre em bactérias e rico em proteínas, lactose e minerais (permeado) e leite desnatado rico em bactérias (retentado). O retentado é aquecido a 120-130°C/2 a 4 segundos, a seguir é misturado ao permeado, homogeneizado, pasteurizado, embalado e estocado sob refrigeração. O processo é contínuo e como somente o retentado é submetido a altas temperaturas, o produto final mantém características organolépticas de leite "in natura" (Larsen, 1995).

Larsen (1995) concluiu que o leite ESL produzido pelo sistema Tetra Therm ESL teve um ganho de qualidade e de vida de prateleira em relação ao leite pasteurizado, mantendo características de leite "fresco". Quando comparado em relação às mudanças organolépticas imediatamente após o processamento o sabor dos dois leites era igual. Quando o leite pasteurizado começou a se deteriorar devido ao crescimento microbiano e degradação enzimática, o leite Tetra Therm ESL permaneceu com sabor a leite fresco e inalterado até 35-45 dias.

Para Larsen (1995) o leite processado pelo sistema Tetra Therm ESL apresentou algumas características como: conteúdo bacteriano menor que o leite pasteurizado após o processo; sabor, cheiro e aparência de leite pasteurizado (HTST); vida de prateleira até 45 dias a temperatura de 7°C; não desenvolveu sabor devido a mudanças químicas e quimicamente é igual ao leite pasteurizado.

Uma comparação da redução da carga microbiana entre os sistemas de pasteurização HTST e sistema Tetra Therm ESL pode ser verificada na Tabela 5 (Larsen, 1995).

Tabela 5 - Comparação de redução logarítmica entre os sistemas de pasteurização HTST e Sistema Tetra Therm ESL

| | Processos utilizados | |
|-----------------------------|-----------------------------|-------------------------------------|
| | HTST | Tetra Therm ESL |
| Leite Cru com 30.000 UFC/mL | 900-3.000 UFC/mL | 0,3-30 UFC/mL |
| Redução na carga microbiana | 90-97% (1-2 ciclos Log.) | 99,9-99,999% (3 a 5 ciclos Log.) |

Fonte : Larsen (1995)

Russell (1996) cita que The Milk Marketing Board (MMB) desenvolveu e patenteou em 1980, um processo para produzir leite ESL com 28 dias de prateleira. O processo é uma combinação de sistema de pasteurização a alta temperatura (120°C-130°C/1 segundo), resfriamento rápido, seguido de embalagem asséptica e estocado sob refrigeração (5°C). Esse processo utilizou uma planta de leite UHT modificada, tanques assépticos refrigerados e a embalagem asséptica. Por ser um processo flexível pode ser aplicado a todos tipos de leite e creme e foi definido como HTP (alta temperatura de pasteurização) onde a descrição produto "fresco" foi permitida.

Na Alemanha o German Milk Ordinance, citado por Kiesner et al. (1995), definiu como pasteurização os métodos tradicionais: tempo longo (long time 62°C-65°C/32 minutos), tempo curto (short time-72-75°C/15-30 segundos) resultando em "peroxidase negativa" e aquecimento a 85°C-127°C/1-2 s, (HTH - alta temperatura de aquecimento), resultando em leite "peroxidase negativa".

Kiesner et al. (1995) realizaram um trabalho para produzirem leite ESL; onde o leite foi tratado termicamente a 85°C-127°C/segundos por dois métodos distintos de aquecimento direto; injeção de vapor ou infusão. O estudos foram feitos com leite cru, termizado ou pasteurizado (HTST) com leite 3,5% de gordura submetido às temperaturas maiores que 125°C/ vários tempos de retenção por injeção ou infusão, seguido de embalagem assépticas em garrafas, estocados no escuro a temperatura de 5, 10 e 15°C.

Kiesner et al. (1995) concluíram que foi possível produzir um leite ESL com duas a três semanas a temperatura máxima de estocagem de 10°C, com um leve sabor a cozido

percebido no início da estocagem quando comparados a leites pasteurizados (HTST), após uma semana de estocagem o sabor desapareceu.

Fredsted et al. (1995) e Russell (1996); citam o sistema desenvolvido pelas firmas APV e Elopak. O sistema "Pure Lac" combina tratamento térmico altas temperaturas (câmara de infusão ou injeção de vapor direto) com embalagem Elopak para produzir leite ESL a alta temperatura (HTP - High Temperature Pasteurized).

O sistema Pure-Lac foi desenvolvido para reduzir o número de esporos aeróbicos psicrotróficos no leite, no mínimo 8 reduções logarítmicas, com mínimas alterações químicas e resistir a temperaturas de estocagem e distribuição de 10°C por 10-45 dias. Russell (1996) define Pure-Lac como um "conceito" que não pode ser comparado com o sistema UHT. O leite é aquecido a temperaturas de 130-145°C/1 segundo e resfriado imediatamente a 70°C; fazendo com que o período curto de retenção deixe o leite com sabor igual ao leite "fresco", com a diferença que a carga microbiana fica bastante reduzida, principalmente esporos aeróbicos.

Fredsted et al. (1995) realizou um estudo comparativo entre vários métodos utilizados para reduzir o número de bactérias e esporos em leite fluido como mostra a Tabela 6.

Tabela 6 - Comparação entre métodos para reduzir o número de bactérias e esporos em leite fluido.

| Análises / Métodos de redução | Número de Redução Decimal | | |
|---|---------------------------|----------------|-----------------|
| | Centrifugação | Microfiltração | Pure-Lac |
| Contagem Total (UFC/mL) | 1 | 2,5 | 10 |
| Esporos Aeróbicos (UFC/mL) | 1,3 | 2,4 | 6 |
| Esporos Aeróbicos Psicrotróficos (UFC/mL) | <1 | 2,4 | 8 |
| Esporos Anaeróbicos (UFC/mL) | 1,7 | 4 | Não investigado |

Fonte: Fredsted et al. (1995)

Nielsen (1995) em um trabalho de revisão fez uma comparação de vários processos para a produção de leite de vida estendida ou ESL, como verifica-se na Tabela 7.

Tabela 7 - Comparação de vida de prateleira para diferentes processos de fabricação de leite ESL

| Processo de Produção | Vida de prateleira | | Redução microbiana (ciclos logarítmicos) | | Odor e Sabor |
|----------------------------------|---------------------------|---------------------------|--|----------|------------------------|
| | Temperatura estocagem 5°C | Temperatura estocagem 8°C | Esporos | Bactéria | |
| Microfiltração/pasteurização | 23 dias | 14 dias | 3 log. | 4 log. | Igual ao pasteurizado |
| Pure-Lac, enchimento ultra limpo | 40 dias | 25 dias | 8 log. | >8 log. | Igual ao pasteurização |
| Pasteurização | 10 dias | 6 dias | 0 log. | 1,5 log. | Referencia |
| UHT, 140°C/3s | >6 meses | >6 meses | >9 log. | >9 log. | Cozido |

Fonte: Nielsen, (1995).

Muitos processos de tratamentos térmicos tem sido sugeridos na Comunidade Européia. Uma avaliação detalhada desses processos deve ser feita, a fim de garantir que o produto final leite ESL tenha uma vida de prateleira desejada com garantia de qualidade e produto seguro (Glaeser, 1995; Kiesner et al., 1995; Nielsen, 1995; Blake, 1998).

Referências Bibliográficas

- ALMEIDA, A. A. P.. **Microrganismos psicrotróficos em leite e derivados**. Revista do Instituto de Laticínios "Cândido Tostes", Juiz de Fora, 304 (54), 184-196, 1998.
- ALMEIDA, A. A. P. & FURTADO FILHO, J.. **Microrganismos psicrotróficos em leite**. Revista do Instituto de Laticínios "Cândido Tostes", Juiz de Fora, 287 (48), 36-40, 1993.
- AJZENTAL, A.. **Histórico do tratamento térmico do leite**. Leite & Derivados, São Paulo, 17 (4): 13-14, 1994.
- AJZENTAL, A.. **Carga bacteriana mesófila do leite cru como critério para classificação comercial do leite**. São Paulo, 1996, 23p. Dissertação (doutor), Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual de São Paulo (USP).
- ANDERSSON, A.; RONNER, U.; GRANUM, P. E.. **What problems does the Food Industry have with the Spore-Forming Pathogens Bacillus cereus and Clostridium perfringes?** International Journal of Food Microbiology, 28 (2), 145-155, 1995.
- APV Nordic. **Long Life Dairy, Food and Beverage Products**. APV Nordic – Unit Systems, Dinamarca, 1996.
- AUCLAIR, J.. **Process avoiding recontamination of pasteurized milk**. Bulletin International Dairy Federation n°200: 15-16, 1986.
- BARROS, V. R. M., PANETTA, J. C., PERCES, E. M. do C.. **Eficiência do Sistema de Pasteurização em Usinas de Beneficiamento de leite da Capital de São Paulo, Brasil**. Higiene Alimentar, São Paulo, 3(314): 199-206, 1984.
- BISHOP, J. R. AND WHITE, C. H.. **Assessment of Dairy Product Quality and Potential Shelf-Life – A review**. Journal of Food Protection 49 (9): 739-753, 1986.
- BLAKE, M. R.; WEIMER, B. C.; MCMAHON, D. J. and SAVELLO, P. A.. **Sensory and Microbial Quality of Milk Processed for Extended Shelf Life by Direct Steam Injection**. Journal of Food Protection, 58 (9): 1007-1013, 1995.
- BORGES, S. F.. **Qualidade do Leite Pasteurizado no Comércio Varejista na Região de Campinas - SP**. Tese mestrado da, Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas, 60p., 1987.

- BORGES, V. R. M.; RODRIGUES, R.; RUBINICH, J.. **Comparasion of the Quality of two Types of Milk at Two Sources in Belo Horizonte, Brazil market.** Journal of Food Protection, 41 (9): 739-742, 1978.
- BRASIL, MINISTÉRIO DA AGRICULTURA. Departamento Nacional de Inspeção Federal de Produtos de Origem Animal. **Decreto nº2244.** Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 05 junho 1997, Seção1, p.11.555.
- BRASIL, MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Divisão de Inspeção de Leite e Derivados. **Normas Higiénico Sanitárias e Tecnológicas para Leite e Produtos Lácteos.** Serviço de Inspeção Federal. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 02 maio 2003, Seção1, nº 83, p.3-25.
- BRASIL, MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO Secretaria da Defesa Agropecuária,-SDA/MAPA. **Instrução Normativa Nº51.** Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 20 set., Seção1, n 183, p.13-22.
- BRASIL, MINISTÉRIO DA JUSTIÇA. Secretaria do Direito Econômico e do Departamento de Proteção e Defesa do Consumidor. **Código de Defesa do Consumidor - Lei 8078/90.** Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF 11 set. 1990.
- BRODERICK, H. M.. **The Pratical Brewer: A Manual for the Brewing Industry,** 2ºed.. Madisom/Wisconsin: Board, 475p. 1977.
- BURTON, H.. **Monograph on Pasteurized Milk-Microbiological Aspects. Extended Shelf Life.** Bulletin International Dairy Federation nº200: 9-14, 1986.
- BUSANI, S .F. B.; OLIVEIRA, J. S. de.. **Leite Pasteurizado - Sua qualidade desde a Fonte de Produção.** Coletânea do ITAL, Campinas, 19 (2): 113-120, 1989.
- CARDOSO, A. L. de M P.. **Ocorrência,multiplicação e produção de Toxina diarréica por cepas de mesófilas e psicrotróficas de *Bacillus cereus*, em leite pasteurizado.** Campinas, 2000, 95 p.. Dissertação (Doutor em Tecnologia de Alimentos), Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP).
- CARUSO, J. G .B., OLIVEIRA, A. J. de.. **Leite: Obtenção, Controle de Qualidade e Processamento.** Piracicaba: Depto de Tecnologia Rural, ESALQ/USP, 1-45. 1983.
- COGHILL, D.; JUFFS, H. S.. **Icidence of Psychrotrophic sporeforming bacteria in pasteurized milk and cream products effect of temperature on their growth.** Journal of Dairy Technology, 34 (5): 150–153, 1979.

- COLLINS, E. B.. **Heat resistant Psychrotrophic microorganisms**. Journal of Dairy Science 64: 157-160, 1981.
- COMISSÃO DEL CODEX ALIMENTARIUS. Organização de las Naciones Unidas para la Agricultura e la Alimentación. Organización Mundial de la Salud. **Programa Conjunto FAO/OMS sobre Normas Alimentarias. Definiciones de tratamiento térmico segundo se aplica a la Leche y los productos lácteos**. Roma, abril, 1982.
- COUSIN, M. A.. **Presence and Activity of Psychrotrophic microorganisms in milk and Dairy products, a review**. Journal of Food Protection, 45 (2): 172-207, 1982.
- COUSINS, C.M.; BRAMLEY, A. J.. The microbiology of milk, In: **Dairy Microbiology- The Microbiology of Milk**. London: Elsevier Applied, 1981, 119 p.
- COVARRUBIAS, M. P.; HARVERBECK, J.. **Variações na Qualidade do Leite Cru fase Estábulo-Indústria**. Revista do Instituto de Laticínios "Cândido Tostes", Juiz de Fora, 33 (195): 3-12, 1978.
- CROMIE, S. J.. **Microbiological Aspects of Extended Shelf Life Products**. The Australian Journal of Dairy Technology 46 (2), 101-104, 1991.
- CROMIE, S. J.; DOMMET, T. W. and SCHMIDT, D.. **Changes in the Microflora of Milk with Different Pasteurization and Storage Conditions and Aseptic Packaging**. The Australian Journal of Dairy Technology 44(1), 74-77, 1989 a.
- CROMIE, S.J.; SCHMIDT, D. and DOMMET, T. W. **Effect of Pasteurization and Storage Conditions on the Microbiological, Chemical and Physical Quality of Aseptically Packaged Milk**. The Australian Journal of Dairy Technology 44 (1), 25-30, 1989 b.
- DIAS, A. S.; ROGICK, F.A.. **Eficiência da pasteurização do leite tipo "C" nas usinas do estado de São Paulo**. Boletim da Indústria Animal 24 (único):255, 1967.
- EDDY, B. P.. **The use of the term Psychrotrophic**. Journal of Applied Bacteriology, 23 (2), 189-190, 1986.
- EMBRAPA - CENTRO NACIONAL de PESQUISA de GADO de LEITE. **Classificação mundial dos principais países produtores de leite, 2003. Tabela 02.12**. Disponível em: <http://www.cnpqgl.embrapa.br>. Acesso em 03 de agosto de 2005 a.

- EMBRAPA - CENTRO NACIONAL de PESQUISA de GADO de LEITE. **Produção de leite, vacas ordenhadas e produtividade animal no Brasil – 1980/2004. Tabela 02.30.** Disponível em <http://www.cnpqgl.embrapa.br>. Acesso em 03 de agosto de 2005 b.
- EMBRAPA - CENTRO NACIONAL de PESQUISA de GADO de LEITE. **Consumo Brasileiro de Leite Pasteurizado – 1990/2000 Tabela 07.04.** Disponível em: <http://www.cnpqgl.embrapa.br>. Acesso em 03 de agosto de 2005 c
- EMBRAPA - CENTRO NACIONAL de PESQUISA de GADO de LEITE. **Produção, Importação, Exportação e Consumo de Leite no Brasil, 1980-2003. Tabela 07.06** Disponível em: <http://www.cnpqgl.embrapa.br>. Acesso em 03 de agosto de 2005 d
- FARREL, H. M., Jr.. Physical Equilibria: Proteins. **In: Fundamentals of Dairy Chemistry**, 2nd ed.. AVI publishing Co., Westport, Con., 725p, 1974
- FORSYTE, S., J.. **Microbiologia da Segurança Alimentar**. Porto Alegre, Artmed, 2002, 424p.
- FRAM, H.. **Phosphatase reactivation in high-temperature, short time pasteurized cream**. Journal of Dairy Science, 40: 1694, 1957.
- FREDSTED, L. B.; RYSSTAD, G. and EIE, T. **Pure-Lac: The New Milk with Protected Freshness and Extended Shelf Life**. Heat Treatments & Alternative Methods, International Dairy Federation Symposium–Vienna (Austria), 104-125, 1995.
- GLAESER, H. **Alternative Methods: Legal and Control Aspects**. Heat Treatments & Alternative Methods, International Dairy Federation Symposium–Vienna (Austria), 438-447, 1995.
- GOMES, F. M.; LEMOS, M. A.. **Implantação, transporte e coleta de leite a granel**. Revista do Instituto de Laticínios "Cândido Tostes", Juiz de Fora, 309(54), 184-196, 1999.
- GRIFFITS, M. W.. **Bacillus cereus in liquid milk and other milk products**. Bulletin of the International Dairy Federation, n°275, 36–39, 1992.
- GRIFFITS, M. W.; PHILLIPS, J. D. and MUIR, D. D.. **The effect of sub-pasteurization heat treatments on the shelf life of milk**. Dairy Industries International 51(5), 31-35, 1986.
- GRIFFITS, M. W.; PHILLIPS, J. D. and MUIR, D. D.. **Development of flavour defects in pasteurized double cream during storage at 6°C and 10°C**. Journal of the Society of Dairy Technology 34: 142–146, 1981.

- HALL, C. W. & TROUT, G. M. **Milk Pasteurization**. Westport, Connecticut: The AVI Publishing Company, 234p, 1968.
- HOFFMANN, W.; KLOBES, H.; KIESNER, CHR.; SUHREN, G.; KRUSCH, U.; CLAWIN-RÄDECKER, I. And LARSEN, P.H. **Use of Microfiltration for the Production of Pasteurized Milk with Extended Shelf Life**. Bulletin International Dairy Federation n°311: 45-46, 1996.
- HUNN, S.; HAJDENURERCEL, J. R.; MORAES, J. M.; VARGAS, O. L. **Qualidade Microbiológica do Leite cru Obtido por Meio de Ordenha Manual e Mecânica e a chegar à plataforma**. Revista do Instituto de Laticínios "Cândido Tostes", Juiz de Fora, 32 (209): 3-8, 1980.
- INGRAHAN, J. L.; STOKES, J. L. **Psychrophilic bacteria**. Bacteriological Review, 23: 97, 1959.
- INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS (ICMSF). **MICROBIAL ECOLOGY OF FOODS - VI Factors Affecting Life and Death of Microorganisms**, New York: Academic Press. 1980.
- INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION. **Psychrotrophs in milk and milk products**. IDF E Doc 68, International Dairy Federation, Brussels, 1976.
- INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION. **Monograph on Pasteurized Milk**, Bulletin 200/1986, Brussels, 1986.
- INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION. **Alkaline Phosphatase Test as a Measure of Correct Pasteurization**, Bulletin 262/1991, Brussels, 1991.
- INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION. **The World Dairy Situation**, Bulletin 384: 32-35, 2003.
- ISEPON, J. S.; JUNIOR, M. S. N.; PEREIRA, R. L. **Avaliação da qualidade do leite pasteurizado por mini-usinas de beneficiamento**. Revista do Instituto de Laticínios "Cândido Tostes", Juiz de Fora, 309 (54): 120-124, 1999.
- JOHNS, C. K. **Tests For Estimating Shel-Life Of Milk And Milk Products**. Journal of Milk Food Technology, 32: 301-303, 1969.
- KEEHNER, K. **Easy Life**. Dairy Field, March, 57-60, 1994.
- KIESNER, Chr., HOFFMANN, W.; CLAWIN-RÄDECKER, I.; KRUSCH, U.; NEVE, H. and BUCHHEIM, W.. **Application of Direct Heating Systems for the Production of**

- High Pasteurized Milk.** Treatments & Alternative Methods, International Dairy Federation Symposium–Vienna (Áustria), 171-178, 1995.
- KNIGHT, A. H. & FRYER S.M. **The development of reat-resistant phosphatase activity in raw milk.** Journal of the Society of Dairy Technology 42(3): 81-86, 1989.
- LAMPERT, L. M.. **Modern Dairy Products.** Chemical Publishing Company, Inc.N.Y., 1975, 437p.
- LANGEVELD, L. P. M.; VAN SPROSEN, W. A.; VAN BERESTEIJN, E. C. H.; NOTERMANS, S. H. W.. **Consumption by healthy adults of pasteurized milk with a high concetration of Bacillus cereus: a double-blind study.** Journal of Food Protection, 59(7): 723–726, 1996.
- LARSEN, P. H.. **Microfiltration for Pasteurized Milk.** Treatments & Alternative Methods, International Dairy Federation Symposium–Vienna (Austria), 232-239, 1995.
- LEDFORD, R. A., SENYK, G. A. ; KOTSIDES, E.. **Growth relationships of psycrotrophs *Pseudomonas* and *Enterobacter* isolates in milk.** Journal of Dairy Science, 66 (63) (abstract), 1983.
- LEITÃO, M. F. F.. **Microbiologia de Alimentos, In:** Tratado de Microbiologia, Editora Manole, São Paulo, 3-81, 186p, 1988.
- LEITÃO, M. F. F.; TEIXEIRA, L.T.; MORI, E. E. M.. **Bactérias Termodúricas não Esporogênicas e seu Significado na Qualidade do Leite Comercial Pasteurizado.** Coletânea do Instituto de Tecnologia de Alimentos, 17 (1): 54–64, 1987.
- LEHMANN, H. R.; DOLLE, E.. **Centrífugas Separadoras para higienizacion y desbacterizacion de la Leche.** Westfalia Seperator, Documentacion tecnico-científica, nº 12, 1987.
- MARSHALL, R. T.. **Standard Methods for the Examination of Dairy Products.**16 ed. Americam Public Health Association, Washington, D.C., 1992, 546p.
- MEIRELES, A. J.. **Leite Paulista: História da formação de um Sistema Cooperativista no Brasil.** 1ªed. São Paulo: Cultura HMR Editores Associados Ltda, 1983.
- MIKOLAJCIK, E. M.; BRUCKER, R. B.. **Psycrotrophic Bacteria And Dairy Products Quality. 1 Major Organisms Involved And Defects Produced.** Culture Dairy Products Journal, 4: ,6–10, 1979.

- MORSE, P. M. **Investigation of Factors contributing to the bacteriological count of bulk tarak milk.III Increase in count from cow to bulk and effects of refrigerated storage and preliminary incubation.** Journal of Dairy Science, 51: 1992-2206, 1968.
- MOTTAR, J.; WAES, G.. **Quality control of pasteurized milk.** Bulletin of International Dairy Federation, 200: 66-70, 1986.
- MUIR, D. D.. **The Shelf life of Dairy Products: 1. Factors influencing raw milk and fresh products.** Journal of the Society of Dairy Technology 49 (1): 24-32, 1996 a.
- MUIR, D. D.. **The Shelf life of Dairy Products: 3 . Factors influencing intermediate and long life dairy products.** Journal of the Society of Dairy Technology 49 (3): 67-72, 1996 b.
- MUIR, D.D.. The microbiology of heat-treated fluid milk products. In: **Dairy Microbiology-The Microbiology of Milk.** London:Elsevier Applied, 1990. V 1, cap.6, p 212.
- MUIR, D. D; KELLY, M. E.; PHILLIPS, J. D.. **The effect of storage temperature on bacterial growth and lipolysis in raw milk.** Journal of the Society of Dairy Technology 31: 203, 1978.
- MURTHY, G. K.; KLEYN, D. H.;RICHARDSON, T. & ROCCO, R.M.. **Alkaline Phosphatase Methods, In: Standard Methods for the Examination of Dairy Products,** 16 ed. American Public Health Association, Washington, D.C., 413-431, 1992.
- NAKAE, T.. **Characterization of psychrotrophic bacteria in milk by means of temperature–gradient incubation.** Milchwissenschaft, 25: 161, 1970.
- NELSON, J. A.; TROUT G.M.. **Judging Dairy Products.** 4th ed.. The Olsen Publishing CO., Milwaukee, 1964, 463 p.
- NIELSEN, W. K.. **New Methods for Food Preservation.** Treatments & Alternative Methods, International Dairy Federation Symposium–Vienna (Áustria), 240-248, 1995.
- NORTH, C. E.; PARK, W.H.. **Standards for milk pasteurization.** American Journal of Hygiene, 7: 147-173, 1927.
- OLIVEIRA, J. S.de.. **Qualidade Microbiológica do Leite.** Industria Alimentar, 1: 38-40, 1976.
- OVERCAST, W. W.. **Psychrophilic microorganisms and keeping quality and its products.** Journal of Dairy Science, 51: 1336–1338, 1968.

- PANETTA, J. C.. **Avaliação de algumas características físico-químicas e microbiológicas de leites beneficiados, distribuídos ao consumo na cidade de São Paulo, durante o verão de 1977.** São Paulo, 1980, 416p. Dissertação (Livre docência), Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Estadual de São Paulo (USP).
- PATEL, G. B.; BLANKENAGEL, G.. **Bacterial counts of raw milk an flavour of the milk after pasteurization and storage.** Journal Milk Food Technology, 35: 203-206, 1972.
- PHILLIPS, J. D.; GRIFFITHS, M. W.. **Factors contributing to the seasonal variation of Bacillus ssp.in pasteurzed dairy products.** Journal of Applied Bacteriology, v.61(4): 275-285, 1986.
- PUNCH, J. D., OLSON, J. C., THOMAS, E. L.. **Psychrophilic bacteriaI II Population levels associated with flavor or physcal changes in milk.** Journal of Dairy Science 48: 1179-1183, 1966.
- RHODEHAMEL. E.J.; HARMON, S. M... **Bacillus cereus In:** FDA Bacteriological Analitical Manual, 8 ed.. AOAC International Chap.14, p.1401-1408, 1998.
- ROITMAN, I.; TRAVASSOS, L. R.; AZEVEDO, J. L.. **Tratado de microbiologia.** Ed. Manole, São Paulo, 1988, vol.I, 186 p.
- RUSSEL, P.. **Plant for Extended life Milks.** Milk Industry International 98 (6): 28-34, 1996.
- SALJI, J. S.; SAADI, S. R.; MASHHADI, A.. **The shelf life of Pasteurized Fresh Milk Manufactured in Saudi Arabia.** Journal of Food Products, 51 (12): 976-978, 1988.
- SANTOS, E. C.. **Controle da Eficiência da Pasteurização da leite beneficiado em Belo Horizonte.** Arq. Esc. Vet., 18: 99-104, 1966.
- SCHMIDT, D.; CROMIE, S. J.; DOMMET, T. W.. **Effect of Pasteurization and Storage Conditions on the Shelf Life and Sensory Quality of Aseptically Packaged Milk.** The Australian Journal of Dairy Technology 44 (1): 19-24, 1989.
- SECRETARIA DE AGRICULTURA E ABASTECIMENTO DO ESTADO DE SÃO PAULO (SAA/SP).Normas sobre a produção de Leite de Cabra e seus derivados em Condições Artesanais. **Resolução SAA-93**, 14/10/93, São Paulo, 1993.
- SECRETARIA DE AGRICULTURADO DISTRITO FEDERAL (SADF). **Portaria 002/95-SADF.** Diário Oficial do Distrito Federal, 15 de março de 1995. Brasília.

- SECRETARIA DE ESTADO DOS NEGÓCIOS DA AGRICULTURA, INDÚSTRIA E COMÉRCIO DO ESTADO DE SÃO PAULO. **Decreto nº 10.126**, abril de 1939.
- SHIPE, W. F.; BASSETTE, R.; DEANE, D. D.; DUNKLEY, W. L.; HAMMOND, E. G.; HARPER, W. J.; KLEYN, D. H.; MORGAN, M. E.; NELSON, J. H.; SCANLAN, R. A. **Off-flavors in milk: Nomenclature, standards and bibliography**. Journal of Dairy Science, 61: 855, 1978.
- SILVEIRA, V. V.; SAKUMA, H.; DUARTE, M.; RODAS, M. A. B.; SARUWTARI, J. H.; CHICOUREL, E. L. **Avaliação das Condições físico-químicas e Microbiológicas do Leite Pasteurizado na Cidade de São Paulo**. Revista do Instituto Adolfo Lutz, 49 (1): 19-25, 1989.
- SILVEIRA, I. A.; CARVALHO, E. P.; TEIXEIRA, D. **Influência de Microrganismos Psicotróficos sobre a Qualidade do Leite Refrigerado. Uma Revisão**. Revista Higiene Alimentar, 12 (55): 21-27, 1998.
- SOUZA, M. R. de; CERQUEIRA, M. M. de O.P.; SILVA A, A. N. da; RODRIGUES, R.; SAMPAIO, I. B. M. **Pasteurização Lenta e Rápida: uma avaliação de eficiência**. Leite e Derivados, São Paulo, 29 (4): 56-65, 1996.
- SPREER, E. **Lactologia Industrial**. Editorial Acribia, 461p., 1975.
- STAAL, P. F. J. **Monograph on Pasteurized Milk-Microbiological Aspects. Extended Shelf Life**. Bulletin International Dairy Federation nº200: 71-79, 1986.
- STUMBO, C. R. **Thermobacteriology in Food Processing**, 2 ed.. Academic Press, 1973.
- SUHREN, G. **Milk and milk products, In: Enzymes of Psychrotrophs in Raw Food**, CRC Press Inc, 4, 1989.
- TEIXEIRA NETO, R. O.; VANDENDER, A. G. F.; GARCIA, E. E. C.; EIROA, M. N. U.; BARBIERI, M. K.; MOURA, S. C. S. R. **Pasteurização de leite de cabra por processo simplificado**. Ciência Tecnologia Alimentar, Campinas, 14 (2): 202-218, 1994.
- TEIXEIRA NETO, R. O.; VAN- DENDER, A. G. F.; BARBIERI, M. K.; EIROA, M. N. U.; MOURA, S. C. S. R. **Pasteurização de leite na própria embalagem em banho - maria**. Ciência Tecnologia Alimentar, Campinas, 17 (2): 142-147, 1997.
- TEIXEIRA NETO, R. O.; VITALI, A. A. **Desenvolvimento de pasteurizador para leite embalado em sacos de polietileno**. Ciência Tecnologia Alimentar, Campinas, 15 (1): 86-88, 1995.

- TETRA-PAK – **ESL Technology: The Facts**. Tetra Pak Marketing Services AB/Promotional Material, 1999 a.
- TETRA-PAK – **ESL Technology—the Future for Chilled Products**. Tetra Pak Marketing Services AB/Promotional Material, 1999 b.
- VALLE do J. L. E.; TAKAHASHI, S.; KEATING, P. F.; MARTINS, J.F.P.; FIGUEIREDO, I. B.. **Comportamento do Leite Tipo “C”, Esterilizado pelo Processo UHT, Acondicionado em Embalagem não Estéril e Conservado a 4°C**. Boletim Ital, 16 (1): 81-89, 1979.
- VANDERBERG, M. G.. **Pasteurization of milk design and operation**. Bulletin of International Dairy Federation, 200, 35-51, 1986.
- VANDERZANT, C.; SPLITTSTOESSER, D. F.. **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods**. 3ª ed.. Washington, American Public Health Association, 1992, 1219p.
- VATNE, K. B.; CASTBERG, H. B.. **Processing and Packaging Aspects of Extended Shelf Life Products**. The Australian Journal of Dairy Technology 46 (2): 98-100, 1991.
- VEISSEYRE, R.. **Lactologia tecnica: composicion, recogida, tratamiento y transformación de la leche**. Zaragoza, Acribia, 629p, 1988.
- VILLARES, J. B.. **Qualidade do leite tipo C em São Paulo**. Boletim Indústria Animal, Nova Odessa, 17: 59-81, 1959.
- WALSTRA, P.; JENNES, R.. **Química y Física Lactológica**. Zaragoza, Espana: Editorial Acribia, 1987, 423p.
- WESTHOFF, D. C.. **Heating milk for microbial destruction: A Historical Outline and Update**. Journal of Food Protection, 41 (2): 122-130, 1978.
- WITTER, L. D.. **Psychrophilic bacteria. A review**. Journal of Dairy Science, 44, 983-1015, 1961.
- ZALL, R. R., CHEN, J. H.; MURPHY, S. C.. **Estimating the number of psychrotrofs in milk using the direct microscopic method**. Culture Dairy Products Journal, 17: 24-38, 1982.
- ZADOW, J. G.. **Extending the Shelf life of dairy products**. Food Australian, 41 (9): 935-937, 1989.

Capítulo 2

Estudo comparativo entre sistemas de pasteurização rápida de leite "HTST" e pasteurização lenta na embalagem

Este capítulo será submetido à publicação na Revista Higiene Alimentar

Estudo comparativo entre sistemas de pasteurização rápida de leite "HTST" e pasteurização lenta na embalagem

Resumo

O leite por ser um produto altamente nutritivo, rico em proteínas, lipídeos, gordura, sais minerais e vitaminas, constitui-se um excelente meio de cultura para o desenvolvimento de microrganismos.

Como o leite é um alimento fundamental na dieta do homem, é evidente a importância que deve ser dada a esse produto desde a sua obtenção até o produto final. As condições de higiene, a conservação de suas características nutricionais e os processos tecnológicos utilizados são decisivos à garantia do produto final ao consumidor.

Estima-se que cerca de 30 a 40% do leite distribuído à população brasileira não seja pasteurizado, sendo distribuído na forma de leite cru aos consumidores. Uma das possíveis razões para isso talvez seja a falta de uma tecnologia alternativa simples e econômica para a realização da pasteurização antes da distribuição do produto aos consumidores.

O processo de pasteurização do leite é de grande importância para garantir ao consumidor um produto de qualidade, saudável, livre de doenças provenientes de animais em tratamento e/ou controle deficientes como brucelose, febre aftosa e tuberculose. A pasteurização do leite na embalagem em banho-maria tem sido estudada como uma alternativa de pasteurização utilizando-se leite de cabra e de vaca.

Foi realizado um estudo para se avaliar a pasteurização de leite através de dois sistemas de pasteurização distintos. Foram realizados três processamentos com leite integral. O leite foi pasteurizado nos dois sistemas, armazenado em câmara frigorífica (4°C -5°C) e feito um acompanhamento de sua qualidade durante o armazenamento.

Em cada processamento foram empregados os sistemas de pasteurização: rápida em unidade de trocador de calor a placas com o binômio temperatura /tempo de 72°C a 75°C/17,5 segundos e lenta na própria embalagem com o binômio temperatura /tempo de 65°C/30 minutos em tanque de pasteurização.

Foram analisados os parâmetros físico-químicos, bioquímicos e microbiológicos que caracterizam a qualidade e a vida de prateleira dos leites pasteurizados ao longo de até 21 dias dependendo da data de processamento.

Conclui-se que os leites pasteurizados no sistema de pasteurização rápida (leite HTST) e pasteurização lenta na embalagem (leite LE), em todos os processamentos apresentaram-se em condições de consumo, considerando um período de vida útil de 4 a 5 dias, quando comparado microbiologicamente aos padrões exigidos para o leite tipo B. Os microrganismos deteriorantes nos três processamentos e nos dois sistemas de pasteurização, foram os microrganismos mesófilos aeróbicos.

Concluiu-se também que o sistema de pasteurização na embalagem apresentou-se viável, com um produto com boas condições de consumo, equivalente aos processos tradicionais para pequenas capacidades de produção. A viabilidade técnica de se efetuar este tipo de pasteurização com simplicidade e segurança foi demonstrada e confirmam os resultados da literatura.

Os leites pasteurizados na embalagem apresentaram condições de consumo semelhantes aos pasteurizados comercialmente e com prazo de vida de prateleira semelhante ao do tipo B.

Observou-se que o equipamento utilizado para a pasteurização lenta na embalagem se mostrou simples em sua utilização permitindo ser operado com facilidade para pequenas produções de leite. Assim poderia se evitar que leite cru seja distribuído comercialmente, provocando riscos a saúde dos consumidores.

Comparative study between “HTST” pasteurization system and slow in package pasteurization.

Summary

Being highly nutritious, rich in proteins, lipids, fats, minerals and vitamins, milk is an excellent means of culture for the development of microorganisms.

Since milk is an essential nutriment in man's diet the importance that should be attached to this product from the time it is obtained to the final product is evident. Hygienic conditions, conservation of its nutritious characteristics and the technological processes used are decisive as to the final product for the consumer.

It is estimated that between 30 to 40% of the milk distributed to the Brazilian population is not pasteurized, it is distributed raw to consumers. One of the reasons for this is perhaps due to the lack of simple alternatives and economical technology for pasteurization prior to distribution to consumers.

The milk pasteurization process is of great importance to guarantee quality, a healthy product, free from diseases that arise from the animals in treatment and or deficient control such as aftosa virusus, tuberculosis and brucellosis. Milk pasteurization in a double boiler in the package is being studied as pasteurization alternative using cow and goat milk.

A study was carried out to evaluate milk pasteurization through two distinct pasteurization processes. Three processes were carried out with whole milk. The milk was pasteurized in both systems, stored in cold chamber (4-5°C) and a follow up for quality was done during storage.

In each process two pasteurization methods were applied. They were defined as fast in plate heat exchange unit with temperature/time binomial of 72°C to 75°C/17,5 seconds, and slow in its own package with temperature/time binomial of 65°C/30 minutes in pasteurization tank.

Physical-chemical, biochemical and microbiological parameters that characterize quality and shelf life of pasteurized milk were analyzed during and up to 21 days, depending on processing date.

As a result we obtained milk pasteurized in the fast system (HTST milk) and slow pasteurization in package (LE milk) presented in all processes, good conditions for consumption, with no risk for consumers health, considering a period of 4 to 5 days as useful life, as when microbiologically compared to type B milk as standard. During the three processes and during the two pasteurization systems, the deteriorating microorganisms were aerobic mesophiles microorganisms.

It was also concluded that the in package pasteurization system was found viable, with the product in good consumption conditions, equivalent to the traditional processes for small production capacity. The technical viability of carrying out this type of pasteurization with simplicity and safety was demonstrated and confirms the results in literature.

Milk pasteurized in package presented consumption conditions similar to the one commercially pasteurized and with shelf life similar to type B's.

It was observed that the equipment used for slow in package pasteurization showed to be simple in its use allowing it to be easily operated by small milk productions. This way we could avoid raw milk being distributed commercially, causing serious health risks to consumers.

Introdução

O leite é um produto secretado por todas as fêmeas de mamíferos para nutrir e conferir proteção imunológica ao recém-nascido (Veisseyre, 1988), sendo composto por água, lípidos, carboidratos, proteínas, sais e outros constituintes, contendo milhares de tipos diferentes de moléculas. (Wong et al., 1988).

Desde a descoberta do fogo o homem usou calor para preparar alimentos, preservá-los e conservar seu sabor. Segundo Sommer (1952), citado por Hall & Trout al. (1968), o cientista sueco Scheele, em 1782, usou o calor na preservação de vinagre e, em 1765, Spallanzini preservava extratos cárneos em frascos selados por ebulição por 1 hora. Nicholas Appert, em 1804, publicou um trabalho intitulado "a arte de preservação de substâncias animal e vegetal".

Em 1824 William Dewees, professor de obstetria da Universidade da Pensilvânia, recomendou o aquecimento do leite próximo ao ponto de ebulição e depois resfriamento para a alimentação de crianças (Hall & Trout, 1968).

O desenvolvimento e adoção da prática de pasteurização não foram aceitos facilmente e muitas objeções foram feitas com relação ao método no início do século XX. Somente através do tempo e muitas pesquisas, principalmente com dados de que leite cru poderia ser um perigo para a saúde, foi que o método de pasteurização começou a ser adotado oficialmente em várias cidades americanas e passou a ser obrigatório (Hall & Trout, 1968).

Ajzental (1994) relata que em 1866, Pasteur relacionou a deterioração de um alimento com microrganismos, recomendando o aquecimento controlado do vinho, de forma a reduzir a carga microbiana, com conseqüente aumento da vida útil do produto.

Alguns anos mais tarde, Soxlet sugeriu a utilização do tratamento termico à baixas temperaturas em leite engarrafado que seria usado como alimento para crianças, sendo a primeira vez que o conceito de pasteurização foi aplicado ao leite (Ajzental, 1994).

No início do século XX, o bacilo de Koch (*Mycobacterium sp*) foi considerado o microorganismo de escolha para a pesquisa de tratamento térmico do leite, pois era a mais termorresistente das bactérias patogênicas não esporuladas.

North & Park (1927), apresentaram um grande dilema aos pesquisadores da época, quando um grande número de dados sobre destruição dos microrganismos patogênicos no leite eram muito confusos. Desde 1897 até aquela época os trabalhos sobre tempo e temperatura de destruição térmica do *Mycobacterium tuberculosis* apresentavam variações muito grandes.

Em 1941, Workman citado por Ajzental (1994), estudando os efeitos do binômio temperatura/tempo, conclui que 71,7°C por 15 segundos resultava na completa destruição de microrganismos patogênicos e a partir daí esses parâmetros foram considerados como aceitos para o sistema "HTST".

No Brasil a obrigatoriedade da pasteurização do leite ocorreu em julho de 1939, quando o governo do Estado de São Paulo baixou decreto instituindo o "Regulamento do Policiamento do Serviço de Alimentação Pública", que estabeleceu que todo o leite a ser distribuído a população a partir 1 de dezembro de 1939 deveria ser "pasteurizado" (Ajzental, 1994).

Como padrão de resistência ao calor inicialmente considerou-se o *Mycobacterium tuberculosis* como o microrganismo mais resistente entre os patogênicos, de tal modo que os índices de temperatura (71,1°C) e tempo (15 segundos), finalmente adotados como satisfatórios, não só foram eficientes, como ainda ofereciam segurança ao consumidor. Atualmente a temperatura de pasteurização eficiente e segura do leite passou a ser baseado na sobrevivência da *Coxiella burnetti*, agente causador da febre Q no homem, a qual é dotada de resistência ao calor superior a do *Mycobacterium tuberculosis*, necessitando de um tratamento de 71,7°C por um tempo de 15 segundos (OMS, 1982).

A Comissão do Codex Alimentarius (1982), da Organização Mundial de Saúde (OMS), define como pasteurização o processo aplicado ao leite com o objetivo de reduzir ao mínimo os possíveis perigos para a saúde, provenientes de microrganismos patogênicos. Tal processo consiste em um tratamento térmico que provoque as mínimas alterações químicas, físicas e organolépticas do produto.

O Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária dos Produtos de Origem Animal - RIISPOA, (Brasil, 1977), define pasteurização como o emprego conveniente do calor, com o fim de destruir a totalidade da flora microbiana patogênica, sem alteração sensível da

constituição física e equilíbrio químico do leite, sem prejuízo de seus elementos bioquímicos, assim como de suas propriedades organolépticas normais.

A legislação brasileira (Brasil, 1977) permite dois tipos de pasteurização, a lenta com temperatura de 62° a 65°C por 30 minutos e a rápida de curta duração com temperatura de 72°C-a 75°C por 15 a 20 segundos e esses parâmetros de temperatura/ tempo de pasteurização foram confirmados na Instrução Normativa nº51 (Brasil, 2002).

Souza et al. (1996) estudaram a eficiência dos processos de pasteurização lenta (62° a 65°C por 30 minutos em banho-maria) e rápida (72°C a 75°C por 15 a 20 segundos em pasteurizador a placas), avaliando as características microbiológicas e bioquímicas nos leites A, C e integral. Concluíram que o método rápido foi mais eficaz na diminuição da contagem bacteriana do que o método em banho-maria, ambos tratamentos foram efetivos na inativação da enzima fosfatase. Com relação a peroxidase, o método rápido apresentou um número significativamente maior de amostras fora do padrão do que o método lento em banho-maria, revelando um excesso de tratamento em mais de 70% das amostras, contra 20% das do processo lento. Porém, neste estudo a matéria-prima utilizada não era de uma mesma origem e nem com a mesma qualidade microbiológica e a pasteurização foi realizada em instalações físicas diferentes. Detalhes dos tratamentos térmicos não foram dados, supondo-se que utilizaram os tratamentos clássicos preconizadas pela legislação brasileira.

Teixeira Neto et al. (1994, 1995) desenvolveram e estudaram a viabilidade um equipamento para pasteurização lenta de leite de cabra embalado em saquinhos de polietileno e concluíram ser seguro o uso deste equipamento para pasteurização a temperatura de 65°C por 40 minutos. Nesse mesmo trabalho os autores destacam a simplicidade do equipamento e seu manejo, independente do grau de instrução do operador.

Teixeira Neto et al. (1997) estudaram a pasteurização do leite na embalagem em banho-maria com objetivo de verificar a viabilidade técnica do protótipo desenvolvido por Teixeira Neto et al. (1995). Concluíram que o leite embalado e a seguir pasteurizado em banho-maria apresentou condições de consumo semelhantes ao obtido pelo processo convencional de pasteurização. Os autores ressaltaram que a vida de prateleira do produto estava relacionada com a qualidade microbiológica após a pasteurização e tinha relação direta com a qualidade higiênico-sanitária do leite cru.

Materiais e Métodos

Materiais

◆ Leite cru integral.

O leite utilizado para nos processamentos foi fornecido por uma cooperativa de Leite B da região de Campinas. Em cada processamento foram utilizados aproximadamente 110 litros de leite cru integral divididos em 70 litros para a pasteurização rápida e 40 litros para a pasteurização lenta em embalagem.

◆ Processamentos

Foram realizados três processamentos em épocas distintas. Em cada processamento foram empregados dois sistemas distintos de pasteurização: pasteurização rápida (leite HTST) e pasteurização lenta na própria embalagem (leite LE) em tanque de pasteurização com controle de tempo e temperatura.

- Pasteurização rápida

Foi feita em circuito fechado até a embalagem, composto de uma unidade de pasteurização, modelo "Micro Plak", com capacidade de produção de 100 litros/hora da marca Sumá Indústria e Comércio Ltda, Campinas.

A unidade de pasteurização é formada por um trocador à placas constituído por três seções de calor (regeneração, aquecimento e resfriamento), bomba sanitária de produto, bomba de água quente, aquecedor de água, filtro de linha, retardador ou retenção, válvula pneumática de retorno do produto não pasteurizado, termoregistrador, painel de acionamento e controlador de temperatura microprocessado. A planta de pasteurização é formada ainda por um tanque de equilíbrio com capacidade de 50 litros, bomba centrifuga de 0,5 HP, tanque de leite pasteurizado com capacidade de 200 litros, bomba centrifuga para transferência do leite pasteurizado para a máquina de envase. Esse sistema por ser em

circuito fechado permite a realização de limpeza CIP “Cleaning in Place”, em toda a linha de produção, desde a entrada do leite cru até a máquina de envase.

As condições de temperatura e tempo de pasteurização foram 74°C/17,5 segundos (informação do fabricante do equipamento) para todos os processamentos.

- Pasteurização lenta na embalagem

Foi feita em pasteurizador de leite, utilizando o protótipo desenvolvido por Teixeira Neto et al. (1995), constituído por um tanque de PVC de 200 litros, com capacidade para pasteurizar 32 saquinhos de 1 litro de leite por lote, equipado com duas resistências elétricas de 3500 watts cada uma, uma bomba de circulação de água de 0,2 HP, quatro cestos de alumínio perfurados, sensor de temperatura e alarmes, acoplados a um controlador com microprocessador e painel de controle.

O leite cru refrigerado pré-embalado foi colocado nos cestos de alumínio, ficando em uma posição fixa vertical; os cestos foram colocados no tanque de PVC com água previamente aquecida a 75°C. Após a colocação dos saquinhos de leite no tanque de PVC foi feito o ajuste da temperatura para 65°C. Após completar-se o tempo de pasteurização, o painel soa um alarme indicando o final da pasteurização. O tempo total do leite no equipamento foi de 40 minutos que inclui 10 minutos para o leite atingir 65°C e 30 minutos de tempo de retenção a 65°C. O tempo de pasteurização é controlado através do microprocessador que controla e compensa também eventuais quedas de temperatura. A seguir os cestos foram retirados e colocados imediatamente em um banho de água gelada (2°C) para que ocorrer o resfriamento desse leite o mais rápido possível. Todos os procedimentos de pasteurização foram feitos seguindo as instruções de Teixeira Neto et al. (1997).

Após a pasteurização os leites foram identificados e armazenados em câmara frigorífica à temperatura de 5°C±1°C, para se verificar qual o prazo de vida útil de cada processamento.

As amostras de leite pasteurizado foram analisadas no dia da produção e a cada 2 a 3 dias de estocagem por um período de até 21 dias. Foram realizadas análises físico-químicas e microbiológicas.

◆ Embalagem do leite

O leite foi embalado em sacos de polietileno da baixa densidade, com espessura de 0,07 mg, de cor branca, com capacidade de 1 litro, da marca Lacto-Pack, (Hortolandia-SP), para os dois processos de pasteurização. Para a pasteurização lenta na embalagem o leite foi embalado cru e para a pasteurização “HTST” o leite foi embalado após pasteurização.

Foi utilizada uma embaladeira modelo 1000, marca Sumá Indústria e Comércio Ltda, Campinas/SP.

◆ Parâmetros de avaliação para a vida útil do leite pasteurizado

Os parâmetros utilizados para avaliação do final da vida de prateleira do leite pasteurizado HTST e LE foram os padrões máximos especificados pela legislação para o leite tipo B recém processado como contagem de microrganismos aeróbios mesófilos de $8,00 \times 10^4$ UFC/mL (Brasil, 2002) e /ou contagens de microrganismos psicrotróficos acima de 10^6 UFC/mL (Johns, 1969; Mikolajcik et al., 1979; Patel et al., 1972; Punch et al., 1966).

Parâmetros físico-químicos (acidez, pH, etc) também foram considerados como fatores de finalização da vida de prateleira. A partir do momento em que algum desses fatores se encontrou fora dos padrões especificados na legislação brasileira (Brasil, 2002) foi considerado o final da vida de prateleira.

- Lista de Símbolos e Definições

| | |
|--|---|
| HTST..... | High temperature short time (temperatura alta curto tempo) |
| LTLT..... | Low temperature long time (temperatura baixa longo tempo) |
| Tratamento térmico HTST..... | 72°C a 75°C/17,5 (valor entre 15 a 20 segundos) |
| Tratamento térmico LTLT..... | 65°C/30 minutos |
| Pasteurização rápida ou pasteurização HTST..... | Tratamento térmico HTST do leite em trocador de calor a placas. |
| Pasteurização lenta na embalagem ou pasteurização LE..... | Tratamento térmico LTLT do leite na própria embalagem |
| Leite HTST..... | Leite pasteurizado pelo sistema de pasteurização rápida |
| Leite LE..... | Leite pasteurizado pelo sistema de pasteurização lenta na embalagem |

Metodologias

Análises físico-químicas e bioquímicas

- Análise de pH, determinação em pHmetro digital, com correção automática de temperatura marca Acumet.
- Acidez titulável segundo metodologia 33.2.06, AOAC, 1995.
- Densidade segundo metodologia 33.2.03, AOAC, 1995.
- Gordura e Crioscopia - segundo Métodos Analíticos Oficiais Físico-Químicos, para Controle de Leite e Produtos Lácteos (Brasil, 2003).
- Presença de Antibióticos em leite cru, metodologia 12.4 do “Standard Methods for Examination of Dairy Products” (Marshall, 1992).
- Extrato seco total e desengordurado leitura direta por disco de Ackermann e diferença de gordura segundo Métodos Analíticos Oficiais Físico-Químicos, para Controle de Leite e Produtos Lácteos (Brasil, 2003).
- Fosfatase residual pelo método rápido de Scharer do "Standard Methods for the Examination of Dairy Products” (Marshall, 1992).
- Peroxidase segundo Métodos Analíticos Oficiais Físico-Químicos, para Controle de Leite e Produtos Lácteos (Brasil, 2003).

Análises microbiológicas

- Contagem total de microrganismos aeróbios mesófilos, determinação do NMP de coliformes totais e fecais, contagem total de microrganismos psicrotróficos, contagem total de esporos mesófilos e psicrotróficos, contagem total de microrganismos termodúricos mesófilos e psicrotróficos, segundo metodologias do “Standard Methods for the Examination of Dairy Products” (Marshall, 1992).
- Detecção de *Salmonella* segundo metodologia do "Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods" (Vanderzant et al., 1992).

Resultados e Discussão

Os resultados das análises de caracterização da matéria prima (leite cru) para os três processamentos são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 – Determinações físico-químicas, bioquímicas e microbiológicas do leite cru utilizado nos três processamentos

| Determinações | Leite cru | | |
|---|--------------------|--------------------|--------------------|
| | 1º processamento | 2º processamento | 3º processamento |
| pH | 6,72 | 6,70 | 6,72 |
| Acidez (% ac. Lático) | 0,15 | 0,15 | 0,15 |
| Densidade* | 1,0318 | 1,0319 | 1,0318 |
| Gordura (%)* | 3,40 | 3,40 | 3,40 |
| Extrato seco total (%)* | 12,29 | 12,32 | 12,30 |
| Ext. seco deseng. (%)* | 8,86 | 8,92 | 8,91 |
| Crioscopia (°Hortvert)* | -0,539 | -0,539 | -0,538 |
| Antibióticos | Negativo | Negativo | Negativo |
| Fosfatase | Positivo | Positivo | Positivo |
| Peroxidase | Positivo | Positivo | Positivo |
| Contagem de mesófilos (UFC/mL) | $1,30 \times 10^5$ | $5,8 \times 10^5$ | $3,40 \times 10^5$ |
| Contagem de psicrotróficos (UFC/mL) | $5,60 \times 10^4$ | $4,00 \times 10^5$ | $6,10 \times 10^5$ |

*Dados fornecidos pelo SIF da Cooperativa fornecedora do leite.

Todos os resultados de análises físico-químicas e bioquímicas, apresentaram-se dentro dos padrões especificados pela legislação no Regulamento Técnico de Identidade e

Qualidade de Leites, do Ministério de Estado da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (Brasil, 2002).

Para os resultados das análises microbiológicas verificou-se no 1º e 2º processamentos que a contagem de microrganismos psicotróficos ficou acima de 10% do número total de microrganismos mesófilos, que é o esperado para um leite produzido sob condições sanitárias (Cousin, 1982), e para o 3º processamento, a contagem de microrganismos psicotróficos foi maior que a do número total de microrganismos mesófilos. Esses resultados podem ser explicados pela prática da coleta de leite a granel em tanques isotérmicos, sistema atualmente adotado pela cooperativa de Leite B ou leites coletados sob condições sanitárias inadequadas.

Os resultados das análises físico-químicas, bioquímicas e microbiológicas do leite pasteurizado no dia dos processamentos são apresentados na Tabela 2.

Verificou-se que os resultados foram satisfatórios para todos os processamentos, em particular a ausência da atividade da fosfatase bem como a presença da atividade da peroxidase, tanto na pasteurização rápida como na pasteurização lenta na embalagem, confirmando que os tratamentos térmicos foram adequados em todos os processamentos.

Tabela 2 - Análises físico-químicas, bioquímicas e microbiológicas do leite pasteurizado HTST e LE nos dias dos processamentos.

| Análises | 1° Processamento | | 2° Processamento | | 3° Processamento | |
|---------------------------------------|-----------------------|------------------------|-----------------------|------------------------|------------------------|------------------------|
| | Leite HTST | Leite LE | Leite HTST | leite LE | Leite HTST | Leite LE |
| pH | 6,72 | 6,70 | 6,70 | 6,70 | S/ valor | S/ valor |
| Acidez (% ac. láctico) | 0,155 | 0,156 | 0,155 | 0,155 | 0,155 | 0,155 |
| Fosfatase | Negativo | Negativo | Negativo | Negativo | Negativo | Negativo |
| Peroxidase | Positivo | Positivo | Positivo | Positivo | Positivo | Positivo |
| Contagem de mesófilos totais (UFC/mL) | 1,00 X10 ³ | 8,60 X 10 ² | 8,00 X10 ¹ | 6,10 X 10 ² | 5,10 X 10 ² | 1,10 X 10 ³ |
| Coliformes totais (NMP/mL) | 0,07 | 0,11 | < 0,03 | < 0,03 | < 0,03 | < 0,03 |
| Coliformes fecais (NMP/mL) | < 0,03 | < 0,03 | < 0,03 | < 0,03 | < 0,03 | < 0,03 |
| Contagem de psicrotróficos (UFC/mL) | < 10 | < 10 | < 10 | < 10 | < 10 | < 10 |
| Salmonella (em 25 mL) | ausente | ausente | ausente | ausente | ausente | ausente |

A Tabela 3 nos mostra a eficiência de pasteurização para os dois sistemas, considerando o número total de microrganismos mesófilos do leite cru e dos leites pasteurizados respectivamente. Pode-se concluir que ambos os sistemas de pasteurização foram eficientes, uma vez que foi obtido uma redução de até 4 ciclos logarítmicos nos dois processamentos.

Tabela 3 - Cálculo da Eficiência de Pasteurização para os dos sistemas nos três processamentos realizados

| Sistema de pasteurização | Processamento | Eficiência de Pasteurização (%) | Redução em Ciclos Logarítmicos (mesófilos aeróbios) |
|--------------------------|---------------|---------------------------------|---|
| Leite HTST | 1 | 99,20 | 2 ciclos log. |
| Leite LE | 1 | 99,30 | 2 ciclos log. |
| Leite HTST | 2 | 99,99 | 4 ciclos log. |
| Leite LE | 2 | 99,90 | 3 ciclos log. |
| Leite HTST | 3 | 99,99 | 4 ciclos log. |
| Leite LE | 3 | 99,70 | 3 ciclos log. |

No 1º processamento, a redução logarítmica foi praticamente igual para os dois sistemas de pasteurização, porém nos processamentos 2 e 3 a pasteurização rápida se apresentou mais eficiente (um ciclo log.) do que o sistema de pasteurização lenta na embalagem. Mesmo assim a pasteurização LE atingiu valores preconizados pela literatura nacional e internacional que é de 2 a 3 ciclos log. de redução da carga microbiológica inicial (Brasil, 2002; Fredsted et al., 1995).

Os resultados das análises de pH, acidez e fosfatase ao longo do estudo da vida de prateleira dos leites pasteurizados para os processamentos 1, 2 e 3 são apresentados nas Tabelas 4 (leite HTST) e 5 (leite LE).

Considerando os valores de acidez preconizados pela Ministério da Agricultura, 0,14 a 0,18% de ácido láctico, observou-se que não houve alteração sensível nos valores de acidez ao longo da vida de prateleira, exceto no 2º processamento que, apresentou acidez de 0,18% de ácido láctico (leite LE) e 0,182% de ácido láctico (leite HTST) com 11 dias de vida útil.

Para o 3º processamento somente a partir de 17 dias de vida útil, os leites HTST e leite embalagem apresentaram valores de acidez acima de 0,18% de ácido láctico.

Tabela 4- Determinações físico-químicas e bioquímicas do leite HTST, nos processamentos 1, 2 e 3 em função do tempo de armazenamento.

| Leite HTST | | | | | |
|-----------------|----------------|------|-----------------------|-----------|------------|
| | Dia de análise | pH | Acidez (% Ac. Lático) | Fosfatase | Peroxidase |
| Processamento 1 | zero | 6,72 | 0,155 | neg. | pos |
| | 2 | 6,67 | 0,167 | neg. | * NR |
| | 6 | 6,66 | 0,167 | neg. | * NR |
| | 8 | 6,64 | 0,167 | neg. | * NR |
| | 10 | 6,62 | 0,170 | neg. | * NR |
| | 11 | 6,65 | 0,170 | neg. | * NR |
| Processamento 2 | zero | 6,70 | 0,155 | neg. | pos |
| | 2 | 6,65 | 0,159 | neg. | * NR |
| | 6 | 6,66 | 0,174 | neg. | * NR |
| | 9 | 6,58 | 0,179 | neg. | * NR |
| | 11 | 6,54 | 0,18 | neg. | * NR |
| Processamento 3 | zero | 6,72 | 0,155 | neg. | pos |
| | 2 | 6,78 | 0,16 | neg. | * NR |
| | 6 | 6,78 | 0,169 | neg. | * NR |
| | 9 | 6,76 | 0,175 | neg. | * NR |
| | 13 | 6,76 | 0,177 | neg. | * NR |
| | 15 | 6,76 | 0,178 | neg. | * NR |
| | 17 | 6,68 | 0,182 | neg. | * NR |
| | 21 | 6,65 | 0,183 | neg. | * NR |

Obs.: neg.: negativo; pos.: positivo; * NR – não realizada

Tabela 5- Determinações físico-químicas e bioquímicas do leite LE, nos processamentos 1, 2 e 3 em função do tempo de armazenamento.

| Leite LE | | | | | |
|-----------------|----------------|------|-----------------------|-----------|------------|
| | Dia de análise | PH | Acidez (% Ac. Lático) | Fosfatase | Peroxidase |
| Processamento 1 | 0 | 6,71 | 0,156 | neg. | pos |
| | 2 | 6,67 | 0,166 | neg. | * NR |
| | 6 | 6,66 | 0,167 | neg. | * NR |
| | 8 | 6,64 | 0,168 | neg. | * NR |
| | 10 | 6,62 | 0,173 | neg. | * NR |
| | 11 | 6,6 | 0,175 | neg. | * NR |
| Processamento 2 | 0 | 6,70 | 0,155 | neg. | pos |
| | 2 | 6,66 | 0,159 | neg. | * NR |
| | 6 | 6,64 | 0,179 | neg. | * NR |
| | 9 | 6,54 | 0,179 | neg. | * NR |
| | 11 | 6,50 | 0,182 | neg. | * NR |
| Processamento 3 | 0 | 6,77 | 0,155 | neg. | pos |
| | 2 | 6,77 | 0,16 | neg. | * NR |
| | 6 | 6,77 | 0,169 | neg. | * NR |
| | 9 | 6,77 | 0,175 | neg. | * NR |
| | 13 | 6,77 | 0,177 | neg. | * NR |
| | 15 | 6,77 | 0,178 | neg. | * NR |
| | 17 | 6,66 | 0,182 | neg. | * NR |
| | 21 | 6,64 | 0,183 | neg. | * NR |

Obs.: neg.: negativo; pos.: positivo; * NR – não realizada

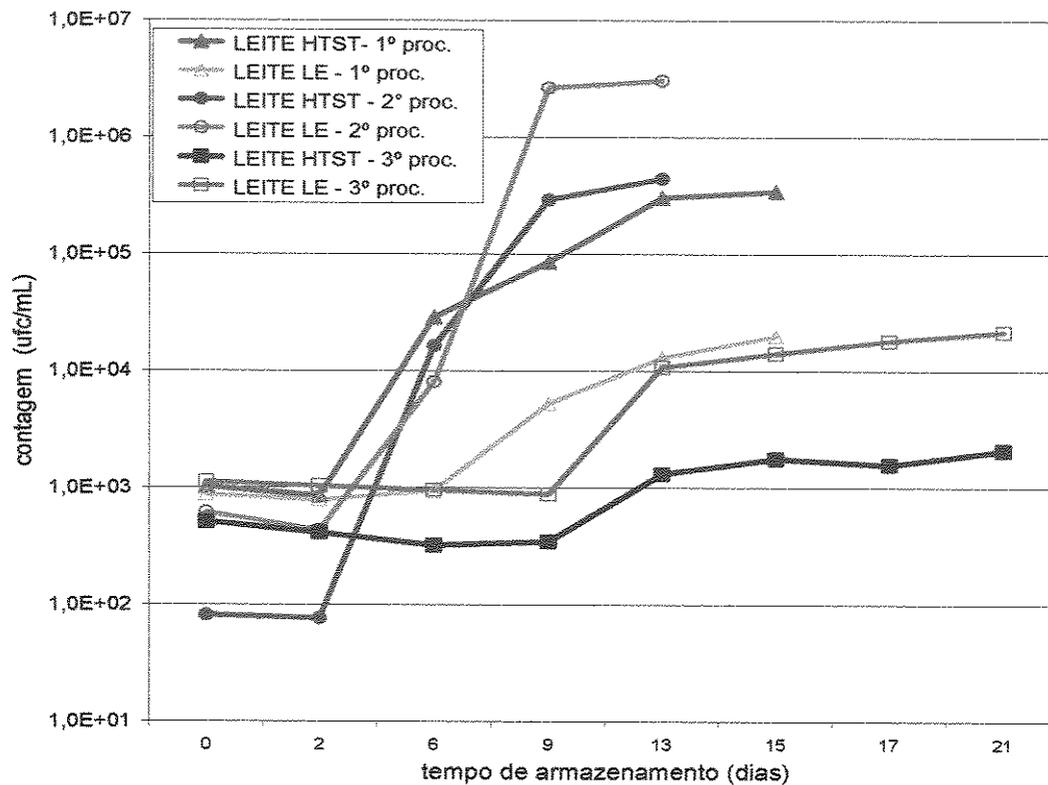


Figura 1 - Contagens de microrganismos mesófilos do leite pasteurizado HTST e LE para os três processamentos

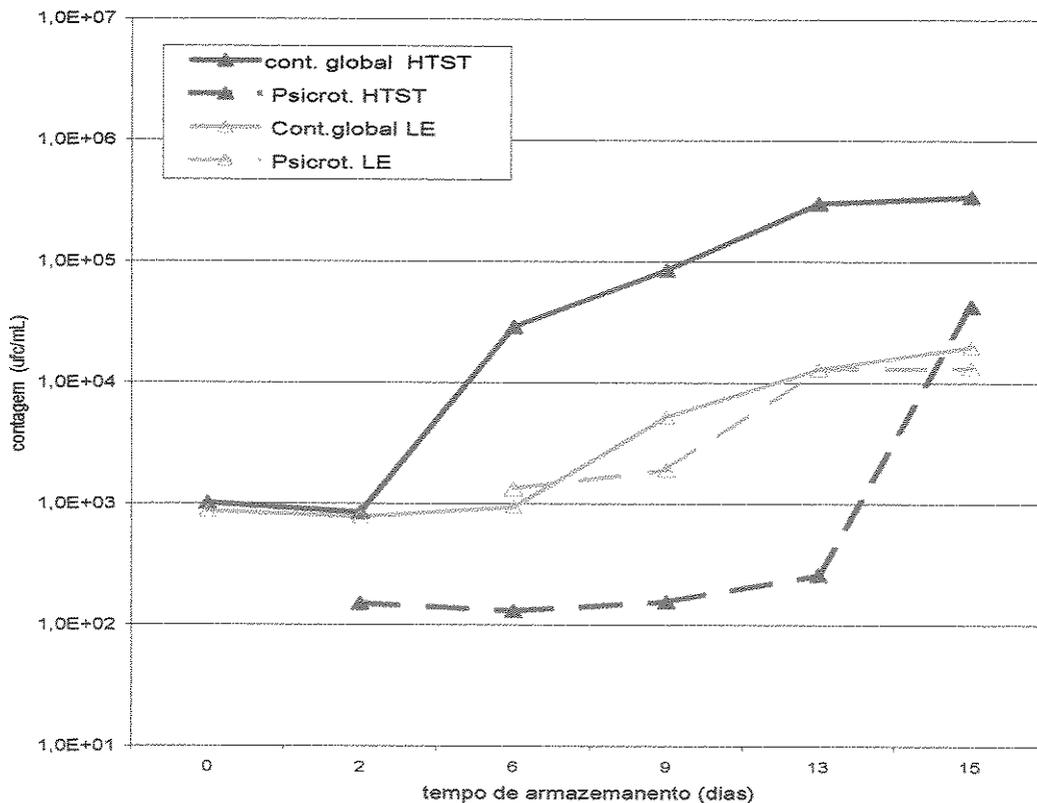


Figura 2 - Contagem de microrganismos mesófilos aeróbios e psicrotróficos do leite HTST e LE para o 1º processamento

Na Figura 1 pode-se verificar as médias dos resultados das contagens globais de microrganismos aeróbicos mesófilos dos leites HTST e leite LE, para os processamentos 1, 2 e 3 e o valor das médias de contagens globais de microrganismos aeróbicos mesófilos dos leites crus, respectivamente.

Nos processamentos 1 e 2, tanto o leite HTST como o leite LE, apresentaram uma vida útil de 4 a 5 dias com contagens de microrganismos aeróbicos mesófilos inferior a $4,0 \times 10^4$ UFC/mL, podendo ambos serem comparados ao padrão de leite pasteurizado tipo B (Fig. 1).

Para o 3º processamento, o leite HTST e leite LE obtiveram valores de contagens de microrganismos mesófilos na ordem de 10^2 e 10^3 UFC/mL, até um período de 9 dias de vida útil. Esses leites só atingiram contagens mais elevadas de 10^3 e 10^4 UFC/mL, após o 13º dia de vida útil, chegando após 21 dias o leite HTST com $2,10 \times 10^3$ UFC/mL e o leite LE com $2,10 \times 10^4$ UFC/mL (Fig. 1).

Considerando os 3 processamentos em conjunto, para os leites HTST e LE pode-se definir que o 3º processamento foi mais eficiente pois apresentou uma lag-fase maior, de até 9 dias, para começar o desenvolvimento de microrganismos aeróbicos mesófilos.

O 2º processamento foi o menos eficiente, pois os leites HTST e LE apresentaram uma lag-fase menor, embora os processos de pasteurização tenham atingido um maior rendimento de pasteurização. Com 7 dias de vida útil, os leites HTST e leite LE atingiram valores maiores que 10^5 UFC/mL, chegando acima de 10^6 UFC/mL, bem acima dos padrões especificados e permitidos por legislação, tanto para leites tipo B como tipo C.

Essas variações podem ser devido principalmente às diferenças existentes na qualidade higiênico-sanitária da matéria prima, uma vez que o leite cru do 2º processamento apresentou uma contagem de microrganismos mesófilos inicial mais alta.

Apesar das diferenças de vida de prateleira obtidas entre os 3 processamentos, podemos concluir que os leites de pasteurização lenta na embalagem e pasteurização rápida tiveram condições de consumo semelhantes se compararmos a um leite pasteurizado comercial com prazo de vida de prateleira de no máximo 4 dias para o leite tipo B ou de 5 dias para o leite tipo A, ou seja os leites pasteurizados obtido pelos sistemas de pasteurização rápida e lenta na embalagem sofreram processamentos satisfatórios de pasteurização. Esses resultados são coerentes com os obtidos por Teixeira Neto et al.

(1995), que obtiveram resultados semelhantes e os leites pasteurizados se apresentaram próprios para consumo.

Ainda em função dos resultados apresentados na Figura.1 podemos concluir que a lag-fase foi sempre igual em número de dias para os dois sistemas de pasteurização em todos os processamentos realizados. Quando a log-fase se iniciou para a pasteurização HTST, o mesmo aconteceu com a pasteurização LE, esse fato foi observado para os três processamentos.

Verificou-se ainda que para o 1º processamento o leite LE, apresentou sempre contagem de 1 ciclo log abaixo do leite HTST; já nos processamentos 2 e 3 o leite LE apresentou uma contagem de 1 ciclo log acima do leite HTST.

Os resultados das análises de contagens totais de microrganismos mesófilos aeróbios e psicrotróficos, ao longo do tempo de estocagem, são apresentados nas Figuras 2, 3 e 4 para os processamentos 1, 2 e 3 respectivamente.

Pode-se observar no 1º processamento (Figura 2) que a lag-fase para o leite HTST foi curta, de apenas dois dias, enquanto que para o leite LE a lag-fase foi de 6 dias. O leite LE apresentou-se em melhores condições microbiológicas do que o leite HTST.

O 1º processamento foi o que apresentou uma menor eficiência de pasteurização, de 2 ciclos log para os dois sistemas de pasteurização, esse fator pode explicar a lag-fase curta para o leite HTST. Os principais microrganismos deteriorantes desse 1º processamento foram os microrganismos mesófilos para ambos sistemas de pasteurização (Fig. 2).

Ainda considerando o 1º processamento, verificou-se que para o leite HTST ocorreu uma elevação populacional de microrganismos mesófilos em relação aos psicrotróficos, que pode ter sido causada por uma contaminação pós-pasteurização (Fig. 2).

No segundo processamento (Figura 3), pode-se observar que a lag-fase foi igual para os dois processamento e coincide com a lag-fase para os microrganismos psicrotróficos. É interessante observar que os microrganismos psicrotróficos por definição são aqueles capazes de crescer a temperaturas baixas (inferiores a 7°C) e possuem temperaturas ótimas de crescimento mais elevadas (25°C a 30°C) (Leitão, 1987). Portanto pode-se afirmar que para o segundo processamento, a contagem elevada de mesófilos foi devido a elevada presença de microrganismos psicrotróficos. As curvas de crescimento

seguem traçados semelhantes, embora o leite LE tenha no final de 13 dias um ciclo log acima do leite HTST.

Os principais microrganismos deteriorantes para o 2º processamento também foram os microrganismos mesófilos para o leite LE; para o leite HTST o crescimento de microrganismos mesófilos e psicrotróficos foi praticamente igual, não havendo predomínio de nenhum dos dois deteriorantes.

A matéria prima para o 2º processamento apresentou uma maior contagem de microrganismos mesófilos, provavelmente essa elevada carga inicial fez com que no 6º dia de vida útil os leites HTST e LE apresentassem contagens na faixa de 10^4 UFC/mL.

Os resultados das análises de contagem de microrganismos mesófilos e psicrotróficos para o 3º processamento, para os leites HTST e LE estão apresentados na Figura 4. Este processamento foi o mais eficiente pois a lag- fase para os dois sistemas de pasteurização foi de aproximadamente 9 dias e o crescimento de microrganismos psicrotróficos começou apenas a partir do 15º dia de armazenamento. Os principais microrganismos deteriorante foram os mesófilos para os leites HTST e LE (Fig. 4).

O leite pasteurizado no terceiro processamento apresentou um comportamento um pouco diferente dos outros processamentos. Essa diferença pode ser explicada pelo tipo da flora bacteriana inicial da matéria prima, uma vez que esta se apresentou com uma qualidade intermediária, (Tabela 1) e mesmo partindo de altas contagens de microrganismos mesófilos e psicrotróficos foi o processamento que obteve uma melhor eficiência de pasteurização, 4 ciclos log para o leite HTST e 3 ciclos log para o leite LE.

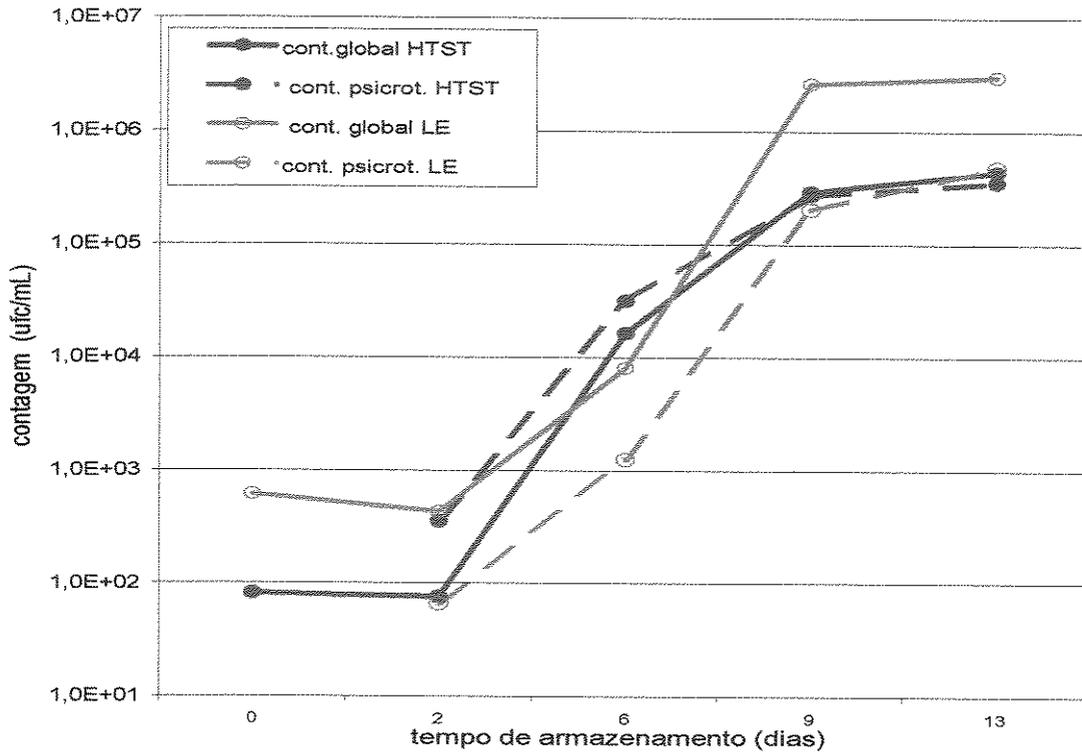


Figura 3 - Contagem de microrganismos mesófilos aeróbios e psicrotróficos dos leites HTST e LE para o 2º processamento

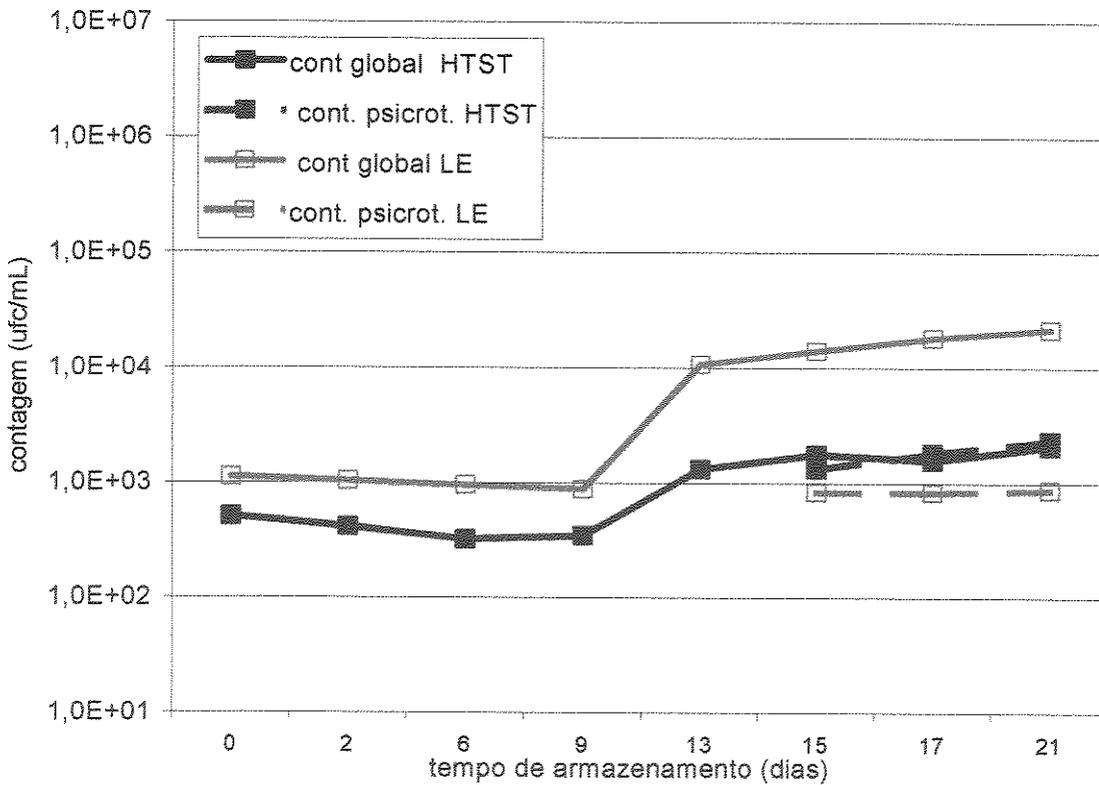


Figura 4 - Contagem de microrganismos mesófilos aeróbios e psicrotróficos dos leites HTST e LE para o 3º processamento

Os resultados das contagens de microrganismos psicrotróficos para os três processamentos e nos dois sistemas de pasteurização ao longo do tempo de armazenamento estão apresentados na Figura 5.

Apesar das contagens iniciais de microrganismos psicrotróficos nas matérias primas se apresentarem muito elevadas, verificou-se que esses microrganismos não foram os principais deteriorantes em nenhum dos processamentos realizados. Esse fato pode ser justificado devido a alta destruição desses microrganismos no processo de pasteurização, dado esse bastante divulgado na literatura internacional (Blake, 1998; Muir, 1996; Cromie, 1991).

Para leites pasteurizados que possuem uma vida de prateleira de 2 a 3 dias, esses microrganismos têm pouca, ou quase nenhuma, importância. Porém para leites com uma vida de prateleira acima de 4 dias, esses microrganismos poderão interferir na qualidade final do produto, limitando sua vida de prateleira.

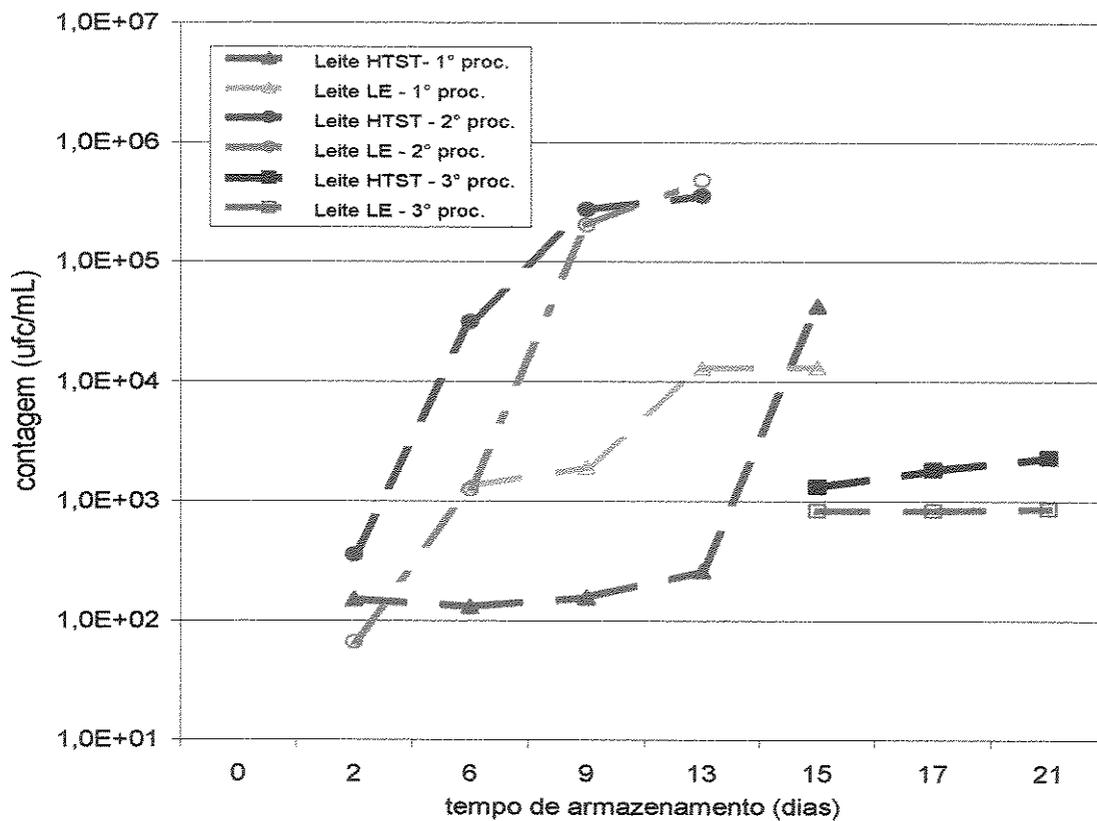


Figura 5 - Contagem de microrganismos psicrotróficos para os leites HTST e LE para os três processamentos

Conclusões

- Os leites pasteurizados no sistema de pasteurização rápida (leite HTST) e pasteurização lenta na embalagem (leite LE), em todos os processamentos apresentaram-se em condições de consumo, considerando um período de vida útil de 4 a 5 dias, quando comparado microbiologicamente ao leite tipo B utilizado como padrão.
- O sistema de pasteurização na embalagem apresentou viável, com um produto com boas condições de consumo, equivalente aos processos tradicionais para pequenas capacidades de produção. A viabilidade técnica de se efetuar este tipo de pasteurização com simplicidade e segurança foi demonstrada e confirmam os resultados da literatura.
- O equipamento utilizado para a pasteurização lenta na embalagem se mostrou simples em sua utilização permitindo ser operado com facilidade para pequenas produções de leite. Assim poderia se evitar que leite cru seja distribuído comercialmente, provocando sérios riscos a saúde dos consumidores.
- Os microrganismos deteriorantes no primeiro processamento foram os microrganismos mesófilos aeróbicos para as duas pasteurizações.
- No segundo e terceiro processamento os microrganismos deteriorantes foram os microrganismos mesófilos aeróbicos para a pasteurização LE. Para a pasteurização HTST o desenvolvimento dos microrganismos foram iguais, quando comparados no final do tempo de armazenamento.

Referências Bibliográficas

- ALMEIDA, A. A. P.. **Microorganismos psicrotróficos em leite e derivados**. Revista do Instituto de Laticínios "Cândido Tostes", Juiz de Fora, 304 (54), 184-196, 1998.
- AJZENTAL, A.. **Histórico do tratamento térmico do leite**. *Leite & Derivados*, São Paulo, 17 (4): 13-14, 1994.
- AUCLAIR, J. **Process avoiding recontamination of pasteurized milk**. Bulletin International Dairy Federation n°200: 15-16, 1986.
- BARROS, V. R. M.; PANETTA; J. C., PERCES; E. M. do C.. **Eficiência do Sistema de Pasteurização em Usinas de Beneficiamento de leite da Capital de São Paulo, Brasil**. *Higiene Alimentar*, São Paulo, 3(314): 199-206, 1984.
- BISHOP, J. R; WHITE, C. H.. **Assessment of Dairy Product Quality and Potential Shelf-Life – A review**. *Journal of Food Protection* 49(9): 739-753, 1986.
- BLAKE, M. R.; WEIMER, B. C.; MCMAHON, D. J.; SAVELLO, P. A.. **Sensory and Microbial Quality of Milk Processed for Extended Shelf Life by Direct Steam Injection**. *Journal of Food Protection*, 58(9): 1007-1013, 1995.
- BORGES, S. F.. **Qualidade do Leite Pasteurizado no Comércio Varejista na Região de Campinas - SP**. Campinas, 1987, 60p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos), Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP).
- BORGES, V. R. M.; RODRIGUES, R.; RUBINICH, J.. **Comparation of the Quality of two Types of Milk at Two Sources in Belo Horizonte, Brazil Market**. *Journal of Food Protection*, 41(9): 739-742, 1978.
- BRASIL, MINISTÉRIO DA AGRICULTURA. Departamento Nacional de Inspeção Federal de Produtos de Origem Animal. **Decreto n°2244**. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 05 junho 1997, Seção 1, p.11.555.
- BRASIL, MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Secretaria da Defesa Agropecuária, SDA/MAPA. **Instrução Normativa N°22**. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 02 maio 2003, Seção 1, n° 83, p.3-25.

BRASIL, MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Secretaria da Defesa Agropecuária, SDA/MAPA. **Instrução Normativa Nº51**. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 20 set.2002, Seção1, nº 183, p.13-22.

BRASIL, MINISTÉRIO DA JUSTIÇA. Secretaria do Direito Econômico e do Departamento de Proteção e Defesa do Consumidor. **Código de Defesa do Consumidor - Lei 8078/90**. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF 11 set. 1990.

BRODERICK, H. M.. **The Pratical Brewer: A Manual for the Brewing Industry**, 2°ed..Madisom/Wisconsin: Board, 475p. 1977.

BURTON, H. Monograph on Pasteurized Milk-Microbiological Aspects. Extended Shelf Life. Bulletin International Dairy Federation nº200: 9-14, 1986.

BUSANI, S .F. B. & OLIVEIRA, J. S. de. Leite Pasteurizado - Sua qualidade desde a Fonte de Produção. Coletânea do ITAL, Campinas, 19(2): 113-120, 1989.

CARDOSO, A. L. de M P. **Ocorrência,multiplicação e produção de Toxina diarréica por cepas de mesófilas e psicrotróficas de Bacillus cereus, em leite pasteurizado**. Campinas, 2000, 95 p.. Dissertação (Doutor em Tecnologia de Alimentos), Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP).

CARUSO, J. G .B., OLIVEIRA, A. J. de.. Leite: Obtenção, Controle de Qualidade e Processamento. Piracicaba: Depto de Tecnologia Rural, ESALQ/USP, 1-45. 1983.

COLLINS, E. B.. **Heat resistant Psychrotrophic microorganisms**. Journal of Dairy Science 64: 157-160, 1981.

COMISSION DEL CODEX ALIMENTARIUS. Organizaion de las Naciones Unidas para la Agricultura e la Alimentacion. Organizacion Mundial de la Salud. **Programa Conjunto FAO/OMS sobre Normas Alimentarias.Definiciones de tratamiento térmico segundo se aplica a la Leche y los productos lacteos**. Roma, abril, 1982.

COUSIN, M. A.. **Presence and Activity of Psychrotrophic microorganisms in milk and Dairy products, a review**. Journal of Food Protection, 45 (2): 172-207, 1982.

COUSINS, C.M.; BRAMLEY, A. J.. The microbiology of milk, In: **Dairy Microbiology-The Microbiology of Milk**. London:Elsevier Applied, 1981, p119.

- COVARRUBIAS, M. P.; HARVERBECK, J.. **Variações na Qualidade do Leite Cru fase Estábulo-Indústria**. Revista do Instituto de Laticínios "Cândido Tostes", Juiz de Fora, 33 (195): 3-12, 1978.
- CROMIE, S. J.. **Microbiological Aspects of Extended Shelf Life Products**. The Australian Journal of Dairy Technology 46 (2), 101-104, 1991.
- CROMIE, S. J.; DOMMET, T. W. and SCHMIDT, D.. **Changes in the Microflora of Milk with Different Pasteurization and Storage Conditions and Aseptic Packaging**. The Australian Journal of Dairy Technology 44 (1), 74-77, 1989 a.
- CROMIE, S.J.; SCHMIDT, D.and DOMMET, T. W. **Effect of Pasteurization and Storage Conditions on the Microbiological, Chemical and Physical Quality of Aseptically Packaged Milk**. The Australian Journal of Dairy Technology 44 (1), 25-30, 1989 b.
- EDDY, B. P.. **The use of the term Psychrotrophic**. Journal of Applied Bacteriology, 23 (2), 189-190, 1986.
- FARREL, H. M., Jr.. Physical Equilibria: Proteins. **In: Fundamentals of Dairy Chemistry**, 2nd ed.. AVI publishing Co., Westport, Con., 725p, 1974.
- FORSYTE, S., J.. **Microbiologia da Segurança Alimentar**. Porto Alegre, Artmed, 2002, 424p.
- FRAM, H.. **Phosphatase reactivation in high-temperature, short time pasteurized cream**. Journal of Dairy Science, 40: 1694, 1957.
- FREDSTED, L. B.; RYSSTAD, G. and EIE, T. **Pure-Lac: The New Milk with Protected Freshness and Extended Shelf Life**. Heat Treatments & Alternative Methods, International Dairy Federation Symposium-Vienna (Austria), 104-125, 1995.
- GOMES, F. M.; LEMOS, M. A.. **Implantação , transporte e coleta de leite a granel**. Revista do Instituto de Laticínios "Cândido Tostes", Juiz de Fora, 309 (54), 184-196, 1999.
- GRIFFITS, M. W.. **Bacillus cereus in liquid milk and other milk products**. Bulletin of the International Dairy Federation, n°275, 36-39, 1992.
- GRIFFITS, M. W.; PHILLIPS, J. D. and MUIR, D. D.. **The effect of sub-pasteurization heat treatments on the shelf life of milk**. Dairy Industries International 51 (5), 31-35, 1986.

- GRIFFITS, M. W.; PHILLIPS, J. D. and MUIR, D. D.. **Development of flavour defects in pasteurized double cream during storage at 6°C and 10°C.** Journal of the Society of Dairy Technology 34: 142–146, 1981.
- HALL, C. W., TROUT, G. M.. **Milk Pasteurization.** Westport, Connecticut: The AVI Publishing Company, 234p, 1968.
- HUNN, S.; HAJDENURERCEL, J. R.; MORAES, J. M.; VARGAS, O. L.. **Qualidade Microbiológica do Leite cru Obtido por Meio de Ordenha Manual e Mecânica e a chegar à plataforma.** Revista do Instituto de Laticínios "Cândido Tostes", Juiz de Fora, 32 (209): 3-8, 1980.
- INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS (ICMSF). **Microbial Ecology Of Foods - V1 Factors Affecting Life and Death of Microorganisms,** New York: Academic Press. 1980.
- INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION. **Psychrotrophs in milk and milk products.** IDF E Doc 68, International Dairy Federation, Brussels, 1976.
- INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION. **Monograph on Pasteurized Milk,** Bulletin 200/1986, Brussels, 1986.
- INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION. **Alkaline Phosphatase Test as a Measure of Correct Pasteurization,** Bulletin 262/1991, Brussels, 1991.
- ISEPON, J. S.; JUNIOR, M. S. N.; PEREIRA, R. L.. **Avaliação da qualidade do leite pasteurizado por mini-usinas de beneficiamento.** Revista do Instituto de Laticínios "Cândido Tostes", Juiz de Fora, 309 (54): 120-124, 1999.
- JOHNS, C. K.. **Tests For Estimating Shelf-Life of Milk and Milk Products.** Journal of Milk Food Technology, 32: 301-303, 1969.
- KEEHNER, K.. **Easy Life.** Dairy Field, March, 57-60, 1994.
- LAMPERT, L. M.. **Modern Dairy Products.** Chemical Publishing Company, Inc. N.Y., 1975, 437p.
- LANGEVELD, L. P. M.; VAN SPROSEN, W. A.; VAN BERESTEIJN, E. C. H.; NOTERMANS, S. H. W.. **Consumption by healthy adults of pasteurized milk with a high concentration of Bacillus cereus: a double-blind study.** Journal of Food Protection, 59 (7): 723–726, 1996.

- LEDFOORD, R. A., SENYK, G. A. ; KOTSIDES, E. **Growth relationships of psychrotrophs *Pseudomonas* and *Enterobacter* isolates in milk.** Journal of Dairy Science, 66 (63) (abstract), 1983.
- LEITÃO, M. F. F.. **Microbiologia de Alimentos, In:** Tratado de Microbiologia, Editora Manole, São Paulo, 3-81, 186p, 1988.
- LEITÃO, M. F. F.; TEIXEIRA, L.T.; MORI, E. E. M..**Bactérias Termodúricas não Esporogênicas e seu Significado na Qualidade do Leite Comercial Pasteurizado.** Coletânea do Instituto de Tecnologia de Alimentos, 17 (1): 54-64, 1987.
- MARSHALL, R. T.. **Standard Methods for the Examination of Dairy Products.**16 ed. American Public Health Association, Washington, D.C., 1992, 546p.
- MEIRELES, A. J..**Leite Paulista: História da formação de um Sistema Cooperativista no Brasil.** 1ªed. São Paulo: Cultura HMR Editores Associados Ltda, 1983.
- MORSE, P. M..**Investigation of Factors contributing to the bacteriological count of bulk tarak milk.III Increase in count from cow to bulk and effects of refrigerated storage and preliminary incubation.** Journal of Dairy Science, 51: 1992-2206, 1968.
- MOTTAR, J.; WAES, G..**Quality control of pasteurized milk.** Bulletin of International Dairy Federation, 200: 66-70, 1986.
- MUIR, D. D.. **The Shelf life of Dairy Products: 1. Factors influencing raw milk and fresh products.** Journal of the Society of Dairy Technology 49 (1): 24-32, 1996 a.
- MUIR, D.D.. **The microbiology of heat-treated fluid milk products.** In: Dairy Microbiology-The Microbiology of Milk. London:Elsevier Applied, 1990. V 1, cap.6, p 212.
- MUIR, D. D; KELLY, M. E.; PHILLIPS, J. D.. **The effect of storage temperature on bacterial growth and lipolysis in raw milk.** Journal of the Society of Dairy Technology 31: 203, 1978.
- MURTHY, G. K.; KLEYN, D. H.;RICHARDSON, T., ROCCO, R.M.. **Alkaline Phosphatase Methods, In:** Standard Methods for the Examination of Dairy Products, 16 ed. American Public Health Association, Washington, D.C., 413-431, 1992.
- NELSON, J. A.; TROUT G.M.. **Judging Dairy Products.** 4th ed.. The Olsen Publishing CO., Milwaukee, 1964, 463 p.

- NIELSEN, W. K.. **New Methods for Food Preservation. Treatments & Alternative Methods**, International Dairy Federation Symposium–Vienna (Áustria), 240-248, 1995.
- NORTH, C. E.; PARK, W.H.. **Standards for milk pasterization**. American Journal of Hygiene, 7: 147-173, 1927.
- OFFICIAL METHODS of ANALYSIS of AOAC INTERNATIONAL, 16th ed., Washington, DC, USA, 1995.
- OLIVEIRA, J. S.de. **Qualidade Microbiológica do Leite**. Industria Alimentar, 1:38-40, 1976.
- PANETTA, J. C.. **Avaliação de algumas características físico-químicas e microbiológicas de leites beneficiados, distribuídos ao consumo na cidade de São Paulo, durante o verão de 1977**. São Paulo, 1980, 416p. Dissertação (Livre docência), Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Estadual de São Paulo (USP).
- PATEL, G. B., BLANKENAGEL, G.. **Bacterial counts of raw milk an flavour of the milk after pasteurization and storage**. Journal Milk Food Technology, 35: 203-206, 1972.
- PUNCH, J. D., OLSON, J. C., THOMAS, E. L.. **Psychrophilic bacterial II Population levels associated with flavor or physical changes im milk**. Journal of Dairy Science 48: 1179-1183, 1966.
- RHODEHAMEL. E.J.; HARMON, S. M.. **Bacillus cereus In: FDA Bacteriological Analitical Manual**, 8 ed.. AOAC International Chap.14, p.1401-1408, 1998.
- ROITMAN, I.; TRAVASSOS, L. R.; AZEVEDO, J. L.. **Tratado de microbiologia**. Ed.Manole, São Paulo, 1988, vol.I, 186 p.
- SALJI, J. S.; SAADI, S. R.; MASHHADI, A.. **The shelf life of Pasteurized Fresh Milk Manufactured in Saudi Arabia** . Journal of Food Products, 51 (12): 976-978, 1988.
- SANTOS, E. C.. **Controle da Eficiência da Pasteurização da leite beneficiado em Belo Horizonte**. Arq. Esc. Vet., 18: 99–104, 1966.
- SCHMIDT, D.; CROMIE, S. J.; DOMMET, T. W.. **Effect of Pasteurization and Storage Conditions on the Shelf Life and Sensory Quality of Aseptically Packaged Milk**. The Australian Journal of Dairy Technology 44 (1): 19-24, 1989.

SECRETARIA DE AGRICULTURA E ABASTECIMENTO DO ESTADO DE SÃO PAULO (SAA/SP). Normas sobre a produção de Leite de Cabra e seus derivados em Condições Artesanais. **Resolução SAA-93**, 14 de out. de 1993. São Paulo.

SECRETARIA DE AGRICULTURADO DISTRITO FEDERAL (SADF). **Portaria 002/95** - SADF. Diário Oficial do Distrito Federal, 15 de março de 1995. Brasília.

SHIPE, W. F.; BASSETE, R.; DEANE, D. D.; DUNKLEY, W. L.; HAMMOND, E. G.; HARPER, W. J.; KLEYN, D. H.; MORGAN, M. E.; NELSON, J. H.; SCANLAN, R. A.. **Off-flavors in milk: Nomenclature, standards and bibliography**. Journal of Dairy Science, 61: 855, 1978.

SILVEIRA, V. V.; SAKUMA, H.; DUARTE, M.; RODAS, M. A. B.; SARUWTARI, J. H.; CHICOUREL, E. L.. **Avaliação das Condições físico-químicas e Microbiológicas do Leite Pasteurizado na Cidade de São Paulo**. Revista do Instituto Adolfo Lutz, 49 (1): 19-25, 1989.

SILVEIRA, I. A; CARVALHO, E .P.; TEIXEIRA, D.. **Influência de Microrganismos Psicrotróficos sobre a Qualidade do Leite Refrigerado. Uma Revisão**. Revista Higiene Alimentar, 12 (55): 21-27, 1998.

SOUZA, M. R.de; CERQUEIRA, M. M. de O.P; SILVA A, A. N. da; RODRIGUES, R.; SAMPAIO, I. B. M.. **Pasteurização Lenta e Rápida: uma avaliação de eficiência**. Leite e Derivados, São Paulo, 29 (4): 56-65, 1996.

SPREER, E.. **Lactologia Industrial**. Editorial Acribia, 461p., 1975.

STAAL, P. F. J.. **Monograph on Pasteurized Milk-Microbiological Aspects. Extended Shelf Life**. Bulletin International Dairy Federation n°200: 71-79, 1986.

STUMBO, C. R.. **Thermobacteriology in Food Processing**, 2 ed.. Academic Press, 1973.

SUHREN, G..**Milk and milk products**, In: Enzymes of Psychrotrophs in Raw Food, CRC Press Inc, 4, 1989.

TEIXEIRA NETO, R. O; VAN DENDER, A. G. F.; GARCIA, E. E. C.; EIROA, M. N. U.; BARBIERI, M. K.; MOURA, S. C. S. R.. **Pasteurização de leite de cabra por processo simplificado**. Ciência Tecnologia Alimentar, Campinas, 14(2):202-218, 1994.

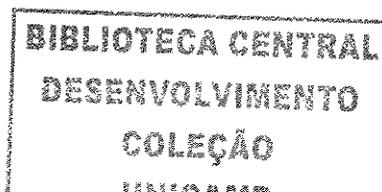
TEIXEIRA NETO, R. O.; VAN DENDER, A. G. F.; BARBIERI, M. K.; EIROA, M. N. U; MOURA, S. C. S. R.. **Pasteurização de leite na própria embalagem em banho -maria**. Ciência e Tecnologia Alimentar, Campinas, 17 (2): 142-147, 1997.

- TEIXEIRA NETO, R. O.; VITALI, A. A.. **Desenvolvimento de pasteurizador para leite embalado em sacos de polietileno.** *Ciência Tecnologia Alimentar*, Campinas, 15 (1): 86-88, 1995.
- VANDERBERG, M. G.. **Pasteurization of milk design and operation.** *Bulletin of International Dairy Federation*, 200, 35-51, 1986.
- VANDERZANT, C.; SPLITTSTOESSER, D. F.. **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods.** 3ª ed. Washington, American Public Health Association, 1992, 1219p.
- VEISSEYRE, R.. **Lactologia tecnica: composicion, recogida, tratamiento y transformación de la leche.** Zaragoza, Acribia, 629p, 1988.
- VILLARES, J. B.. **Qualidade do leite tipo C em São Paulo.** *Boletim Indústria Animal*, Nova Odessa, 17: 59-81, 1959.
- WALSTRA, P.; JENNES, R.. **Química y Física Lactológica.** Zaragoza, Espana: Editorial Acribia, 1987, 423p.
- WESTHOFF, D. C.. **Heating milk for microbial destruction: A Historical Outline and Update.** *Journal of Food Protection*, 41 (2): 122-130, 1978.
- WITTER, L. D.. **Psychrophilic bacteria. A review.** *Journal of Dairy Science*, 44, 983-1015, 1961.

Capítulo 3

Estudo comparativo entre matérias-primas de qualidades microbiológicas diferentes submetidas aos sistemas de pasteurização rápida "HTST" e pasteurização lenta na embalagem

Este capítulo será submetido à publicação na Revista Higiene Alimentar



Estudo comparativo entre matérias-primas de qualidades microbiológicas diferentes submetidas aos sistemas de pasteurização rápida "HTST" e pasteurização lenta na embalagem

Resumo

Ao deixar a glândula mamária durante a ordenha, o leite já traz consigo um número apreciável de microrganismos, alguns banais e eventualmente outros patogênicos dependendo do estado de saúde dos animais e das condições higiênicas observadas na obtenção do mesmo.

Leite cru de duas diferentes procedências, um de uma granja leiteira produtora de leite A, outro de uma usina processadora de leite B, foi pasteurizado por dois sistemas de pasteurização: rápida em trocador de calor a placas ou pasteurização "HTST" e pasteurização lenta na embalagem ou pasteurização LE. O experimento foi realizado em duplicata em datas diferentes.

As matérias-primas apresentaram contagens médias de microrganismos mesófilos aeróbios inicial de 10^5 UFC/mL e de 10^6 UFC/mL. Ambas matérias-primas apresentaram altas contagens de microrganismos psicrotróficos, acima de 10% da carga microbiana mesófila esperada para um leite coletado sob boas condições higiênicas.

Obteve-se como resultado final que ambos os sistemas de pasteurização foram eficientes, com uma eficiência de pasteurização superior a 98,0% e redução da carga microbiana de 1,88 a 2,41 ciclos logarítmicos. Para a pasteurização lenta na embalagem as reduções da carga microbiana ficaram abaixo de 2 ciclos logarítmicos e para a pasteurização HTST as reduções das cargas microbianas foram maiores que 2 ciclos logarítmicos, com uma eficiência de pasteurização acima de 99,0%.

Para a matéria prima com microbiota inicial mais elevada, os leites pasteurizados apresentaram uma vida de prateleira menor, de até 4 dias; considerando como padrão valores especificados por legislação para o leite tipo B recém pasteurizado de $8,0 \times 10^4$ UFC/mL. Para a matéria prima com microbiota inicial menor, os leites pasteurizados pelos

dois sistemas de pasteurização apresentaram uma vida de prateleira de até 10 dias segundo o mesmo critério acima.

Os leites pasteurizados no decorrer da vida útil foram analisados sensorialmente segundo a metodologia de “Score Cards” da American Dairy Science Association. Para a matéria prima com microbiota inicial menor o leite apresentou uma vida útil de 3 a 5 dias com condições de consumo. Para a matéria prima com microbiota inicial mais elevada o leite apresentou-se desde sem condições de consumo até uma vida útil de 3 dias.

Comparative study between raw materials of different microbiological quality and submitted to fast pasteurization system “HTST” and slow in package pasteurization.

Summary

When leaving the mammary glands during milking, the milk already brings a considerable number of microorganisms, some not harmful, others pathogenic depending on the animal's health and on the hygienic conditions observed during milking. It is a known fact that bad raw material will result in bad quality products.

Raw milk originating from different places, one from A milk producing farm and the other from a B milk producing farm, was pasteurized through two systems: fast on plate heat exchanger or “HTST” pasteurization and slow pasteurization in the package, or LE pasteurization. The experiment was carried out twice and on different dates.

The raw material presented average count of initial aerobic mesophile microorganisms of 10^5 UFC/mL and of 10^6 UFC/mL. Both raw materials presented high counts of psychotrophic microorganisms, 10% above mesophile microbia load which is expected for milk collected under good hygienic conditions.

As final result we concluded that both pasteurization systems were effective, with pasteurization effectiveness of over 98,0% and microbial load reduction of 1,88 to 2,41 logarithmic cycles. For the slow in package pasteurization the microbia load reduction was below 2 cycles log and the HTST pasteurization resulted in microbial load reduction greater than 2 logarithmic cycles, with pasteurization efficiency above 99,0%.

For the raw material with higher initial microbiota, the pasteurized milk presented a smaller shelf life, of up to 4 days; considering as standard, values specified by legislation for type B milk recently pasteurized of $8,0 \times 10^4$ UFC/mL. For the raw material with smaller initial microbiota, the pasteurized milk through both pasteurization systems showed a shelf life of up to 10 days according to the same criterion above.

The milk that was pasteurized during the useful life was analyzed through a sensorial stand point through the “Score Cards” methodology according to the American

Dairy Science Association. For the raw material with lower initial microbiota the milk showed a useful life of 3 to 5 days safe for consumption. For raw material with higher initial micro biota, the milk went from not safe for consumption to up to 3 days of useful life.

Introdução

Ao deixar a glândula mamária durante a ordenha, o leite já traz consigo um número apreciável de microrganismos, alguns banais, outros patogênicos, dependendo do estado de saúde dos animais e das condições higiênicas observadas durante sua na obtenção (Veisseyre, 1988).

A qualidade do leite cru está intimamente relacionada com o grau de contaminação inicial, com a temperatura e o tempo em que esse leite permanece da ordenha até a pasteurização. Em geral quanto maior o número de contaminantes iniciais e quanto mais próximo de 30°C for a temperatura do leite, menor será o seu tempo de conservação (Oliveira, 1976).

A baixa qualidade do leite "in natura" é um problema muito comum em nosso país, isto pode ser explicado tendo em vista a influência das estações do ano, as práticas de produção, manuseio do leite nas fazendas, a localização geográfica, a temperatura em que ele permaneceu após ordenha e a distância de transporte entre a fazenda e a usina beneficiadora (Huhn et al., 1980).

Bactérias como *Brucella abortus*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus sp*, *Enterococcus faecalis* e outras assumem importância na qualidade do leite, pois podem ser transmitidas ao homem causando doenças, pelo consumo de leite cru ou ainda são responsáveis por mudanças na cor, sabor e aroma e por alterações nos teores de gordura, lactose, cálcio, proteína, pH (Oliveira, 1976).

Os microrganismos contaminantes podem provocar defeitos organolépticos e físico-químicos acarretando perdas econômicas e problemas de saúde pública, diminuindo a vida útil do leite e seus subprodutos (Zadow, 1989).

Segundo Fredsted et al. (1995) existe uma variação muito grande na qualidade do leite cru, que é não só dependente das condições higiênicas no momento da ordenha, como intensamente dependente também da região.

Por outro lado altas contagens de mesófilos no leite cru influenciam a durabilidade do produto final (Covarrubias et al., 1978). Autores como Villares (1959), Hoffmann et al. (1996), Busani et al. (1989) e Blake (1998) citam que uma boa qualidade do leite cru como

matéria-prima é de grande importância para a qualidade dos produtos processados, principalmente no caso de leites pasteurizados.

Kraft, citado por Almeida et al. (1983), cita que os microrganismos psicotróficos, grupo importante na indústria de leite e derivados, têm se tornado de grande interesse em países e regiões onde se pratica a refrigeração do leite na fazenda e/ou coleta de leite a granel. Nestas regiões têm se notado a substituição da flora de bactérias deteriorantes mesófilas produtoras de ácido láctico por uma flora de bactérias psicotróficas.

Um grande número de microrganismos psicotróficos na matéria prima pode produzir sabores estranhos, instabilidade protéica e enzimas termorresistentes que podem deteriorar o leite pasteurizado, durante a estocagem (Hoffmann et al., 1996).

Blake (1998) cita que a flora do leite cru é geralmente formada por microrganismos Gram-positivos, Gram-negativos e microrganismos psicotróficos. Ele define os microrganismos psicotróficos como sendo aqueles que podem crescer a temperaturas de 7°C, independente de sua temperatura ótima de crescimento. São facilmente destruídos pela pasteurização comercial, cujos parâmetros tempo e temperatura geralmente são estabelecidos pela legislação.

Segundo Witter (1961), psicotróficos são bactérias que se desenvolvem em uma faixa acima de 7,2°C e são capazes de formar colônias visíveis nas placas incubadas a 7°C +/- 0,5°C. Posteriormente através de uma sugestão feita por Eddy (1960), o termo psicotrófico passou a ser utilizado para aqueles microrganismos que são mesófilos com respeito a sua temperatura ótima de crescimento mas são também capazes de se desenvolver bem a temperaturas abaixo de 10°C. Tem-se observado que uns grandes números de espécies considerados estritamente mesófilos, já estão sendo incluídos também entre os microrganismos psicotróficos (Silveira, 1988).

Bactérias psicotróficas promovem a degradação das proteínas, principalmente a caseína, formando polipeptídios, peptonas e aminoácidos ou mesmo amoníaco causando sabor amargo. Muir (1996), considera que se a contagem de microrganismos psicotróficos for maior que 5×10^6 UFC/mL no leite cru antes da pasteurização, haverá um prejuízo grande na vida de útil desse leite.

Para Muir (1996) a flora psicotrófica termodúrica que sobrevive à pasteurização (72°C/15 a 20 s), constitui um dos principais problemas limitante da vida de prateleira de

um leite pasteurizado e seus derivados. Muir (1996) considera como flora psicotrófica termodúrica, aquela que sobrevive ao tratamento térmico de 72°C/15 s e tem capacidade de se desenvolver a temperaturas de refrigeração, podendo produzir enzimas intracelulares e extracelulares que deterioram o leite.

Para Fredsted et al. (1995) os microrganismos termodúricos e esporos que são capazes de sobreviver à pasteurização podem causar sérios problemas ao produto final, principalmente se forem estocados e distribuídos a temperaturas maiores que 5°C (8°C-12°C).

Material e métodos

Materiais

Leite cru integral.

Foram utilizados dois tipos de matéria prima de qualidade microbiológica diferente: leite cru integral fornecido por uma granja leiteira produtora de leite A e outro fornecido por uma usina processadora de leite B, ambos da região de Campinas/SP.

Em cada processamento foram utilizados aproximadamente 100 litros de cada matéria-prima, sendo dividido cada uma delas em 70 litros de leite cru para a pasteurização rápida e 40 litros para a pasteurização lenta em saquinhos.

Foram realizados dois processamentos (duas repetição) datas diferentes.

Processamentos:

Em cada dia de processamento foram empregados dois métodos de pasteurização; rápida (leite HTST) e lenta na embalagem (leite LE) em tanque de pasteurização com controle de tempo e temperatura.

- **Pasteurização rápida**

Feita em circuito fechado até a embalagem, composto de uma unidade de pasteurização, modelo "MICRO PLAK" da marca SUMÁ Indústria e Comércio Ltda, com capacidade de produção de 100 litros/hora.

Foi feita em circuito fechado até a embalagem, composto de uma unidade de pasteurização, modelo "MICRO PLAK", com capacidade de produção de 100 litros/hora da marca SUMÁ Indústria e Comércio Ltda, Campinas.

A unidade de pasteurização é formada por um trocador a placas constituído por três seções de calor (regeneração, aquecimento e resfriamento), bomba sanitária de produto, bomba de água quente, aquecedor de água, filtro de linha, retardador ou retenção, válvula pneumática de retorno do produto não pasteurizado, termoregistrador, painel de

acionamento e controlador de temperatura microprocessado. A planta de pasteurização é formada ainda por um tanque de equilíbrio com capacidade de 50 litros, bomba centrífuga de 0,5 HP, tanque de leite pasteurizado com capacidade de 200 litros, bomba centrífuga para transferência do leite pasteurizado para a máquina de envase. Esse sistema por ser em circuito fechado permite a realização de limpeza CIP “Cleaning in Place”, em toda a linha de produção, desde a entrada do leite cru até a máquina de envase.

As condições de temperatura e tempo de pasteurização foram 74°C/17,5 segundos (informação do fabricante) para todos os processamentos.

- **Pasteurização lenta na embalagem**

Feita em pasteurizador de leite, utilizando o protótipo desenvolvido por Teixeira Neto & Vitali (1995), constituído por um tanque de PVC de 200 litros, com capacidade para pasteurizar 32 saquinhos de 1 litro de leite por lote, equipado com duas resistências elétricas de 3500 watts cada uma, uma bomba de circulação de água de 0,2 HP, quatro cestos de alumínio perfurados, sensor de temperatura e alarmes, acoplados a um controlador com microprocessador e painel de controle.

O leite cru refrigerado pré-embalado é colocado nos cestos de alumínio, ficando em uma posição fixa vertical, os cestos são colocados no tanque de PVC com água previamente aquecida a 75°C. Após a colocação dos saquinhos de leite no tanque de PVC é feito o ajuste da temperatura para 65°C. Após completar-se o tempo de pasteurização, o painel soa um alarme indicando o final da pasteurização. O tempo total do leite no equipamento foi de 40 minutos que inclui 10 minutos para o leite atingir 65°C e 30 minutos de tempo de retenção a 65°C. O tempo de pasteurização é controlado através do microprocessador que controla e compensa também eventuais quedas de temperatura.

A seguir os cestos são retirados e colocados imediatamente em um banho de água gelada (2°C) para que ocorra o resfriamento desse leite o mais rápido possível. Todos os procedimentos de pasteurização foram feitos seguindo as instruções de Teixeira Neto et al. (1997).

Após a pasteurização, os leites foram identificados e armazenados em câmara frigorífica à temperatura de 5°C±1°C, para se verificar qual o prazo de vida útil de cada processamento. As amostras de leite pasteurizado foram analisadas no dia da produção e a

cada 2 a 3 dias de estocagem por um período de até 10 dias. Foram realizadas análises físico-químicas e microbiológicas e sensoriais.

Envase do leite

Os leites foram envasados com volume de 1000 mL, em sacos de polietileno de baixa densidade com espessura de 0,07 mg, de cor branca, da marca Lacto-Pack, fornecido pela Industria Americam Pack Embalagens Ltda, Hortolândia / SP.

Foi utilizada uma embaladeira, modelo 1000, marca SUMÁ Industria e Comércio Ltda, Campinas / SP.

Parâmetros de avaliação para a vida útil do leite pasteurizado

Os parâmetros utilizados para avaliação do final da vida de prateleira dos leites pasteurizados foram os padrões máximos especificados pela legislação para o leite tipo B recém processado como contagem de microrganismos aeróbios mesófilos de $8,00 \times 10^4$ UFC/mL (Brasil, 2002) e /ou contagens de microrganismos psicrotóxicos acima de 10^6 UFC/mL (Johns, 1969; Mikolajcik et al., 1979; Patel et al., 1972; Punch et al., 1966).

Parâmetros físico-químicos (acidez, pH, etc) e resultados de análises sensoriais (bom, regular, insatisfatório, etc) também foram considerados como fatores de finalização da vida de prateleira. A partir do momento em que algum desses fatores se encontrou fora dos padrões especificados na legislação brasileira (Brasil, 2002) e/ou literatura internacional para análise sensorial (Nelson et al., 1964) foi considerado a finalização da vida útil do leite pasteurizado.

Metodologias de análises

Análises físico-químicas e bioquímicas

- Análise de pH, determinação em pHmetro digital, com correção automática de temperatura marca Acumet.
- Acidez titulável segundo metodologia 33.2.06, AOAC, 1995.

- Densidade segundo metodologia 33.2.03, AOAC, 1995.
- Gordura e Crioscopia - segundo Métodos Analíticos Oficiais Físico-Químicos, para Controle de Leite e Produtos Lácteos (Brasil, 2003).
 - Presença de Antibióticos em leite cru, metodologia 12.4 do “Standard Methods for Examination of Dairy Products” (Marshall, 1992).
 - Extrato seco total e desengordurado leitura direta por disco de Ackermann e diferença de gordura segundo Métodos Analíticos Oficiais Físico-Químicos, para Controle de Leite e Produtos Lácteos (Brasil, 2003).
 - Fosfatase residual pelo método rápido de Scharer do "Standard Methods for the Examination of Dairy Products” (Marshall, 1992).
 - Peroxidase segundo Métodos Analíticos Oficiais Físico-Químicos, para Controle de Leite e Produtos Lácteos (Brasil, 2003).

Análises microbiológicas

- Contagem total de microrganismos aeróbios mesófilos, determinação do MNP de coliformes totais e fecais, contagem total de microrganismos psicrotróficos, contagem total de esporos mesófilos e psicrotróficos, contagem total de microrganismos termodúricos mesófilos e psicrotróficos, segundo metodologias do “Standard Methods for the Examination of Dairy Products” (Marshall, 1992).
 - Detecção de *Salmonella* segundo metodologia do "Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods" (Vanderzant et al., 1992).

Análise sensorial

A avaliação sensorial foi realizada com provadores treinados, com a metodologia de “Score Card for Milk”, da American Dairy Science Association (ADSA) do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (Shipe et al., 1978; Nelson & Trout, 1964; Aires, 2002).

A análise sensorial do leite foi realizada com um painel treinado com 5 provadores para avaliar atributos de sabor, odor através de uma ficha de pontuação (Aires, 2002). Após degustação, os provadores marcaram na ficha qual o sabor e/ou odor identificado e qual sua intensidade. Conforme a intensidade foram descontados pontos no total da ficha que é de

45 pontos. Para leite normal a pontuação é de 31 a 45 pontos e segue a classificação indicada na Tabela 1. Leite com pontuação inferior a 31 é considerado leite anormal ou impróprio para consumo.

Tabela 1 – Classificação do leite de acordo com a avaliação sensorial com Score Card for Milk

| Classe do leite quanto ao sabor | Faixa de pontuação | Descrição específica do sabor |
|---|--------------------|---|
| excelente | 45 a 40 | inalterado |
| bom | 39,5 a 38,0 | Adstringente, falta de frescor e salgado: Suave Cozido, alimento e aguado: de Suave a definido |
| satisfatório ou regular | 37,5 a 36,0 | Vaca e oxidado: Suave Adstringente e salgado: Definidos Falta de frescor: Definido a pronunciado Cozido e aguado: Pronunciado |
| pobre | 35,5 a 31,0 | Muito ácido, Ranço e Sujo: de Suave a definido Curral, amargo, estranho, Cebola/Alho, maltado e metálico: Suave, definido ou pronunciado |
| leite anormal ou impróprio para consumo | menor que 31,0 | Ácido, ranço, sujo: Pronunciado |

Leite normal: 31 a 40 pontos

Fonte: Nelson & Trout, p.96 (1964).

Lista de Símbolos e definições usadas

| | |
|---|---|
| HTST..... | High temperature short time (temperatura alta / curto tempo). |
| LTLT..... | Low temperature long time (temperatura baixa / longo tempo). |
| Tratamento térmico HTST..... | 72°C a 75°C/17,5 segundos. |
| Tratamento térmico LTLT..... | 65°C/30 minutos. |
| Pasteurização rápida ou pasteurização HTST..... | tratamento térmico HTST do leite em trocador de calor a placas. |
| Pasteurização lenta na embalagem ou pasteurização LE | tratamento térmico LTLT do leite na própria embalagem. |
| Leite cru A1..... | leite cru integral fornecido por uma granja leiteira produtora de leite A da região de Campinas/SP, utilizado no processamento 1. |
| Leite cru A2..... | idem acima, utilizado no processamento 2. |
| Leite cru B1..... | leite cru integral fornecido por uma usina processadora de leite B, da região de Campinas/SP, utilizados no processamento 1. |
| Leite cru B2..... | idem acima, utilizado no processamento 2. |

Leite HTST A1..... leite pasteurizado em sistema de pasteurização rápida, com leite cru A1.

Leite HTST A2..... idem acima, com leite cru A2.

Leite HTST B1..... leite pasteurizado em sistema de pasteurização rápida, com leite cru B1.

Leite HTST B2..... idem acima, com leite cru B2.

Leite LE A1..... leite pasteurizado em sistema de pasteurização lenta na embalagem, com leite cru A1.

Leite LE A2..... idem acima, com leite cru A2.

Leite LE B1..... leite pasteurizado em sistema de pasteurização lenta na embalagem, com leite cru B1.

Leite LE B2..... idem acima, com leite cru B2.

Resultados e discussão

A Tabela 2, apresenta os resultados das análises microbiológicas, físico-químicas e bioquímicas dos leites crus utilizados. Para os leites crus A1 e A2, verificou-se que a contagem de mesófilos aeróbios foi de $1,2 \times 10^5$ UFC/mL e $1,30 \times 10^5$ UFC/mL respectivamente e de microrganismos psicotróficos de $1,0 \times 10^4$ UFC/mL e $4,3 \times 10^4$ UFC/mL respectivamente. Verificaram-se também contagens de esporos mesófilos e de microrganismos termodúricos mesófilos com valores menores que 10^2 UFC/mL. Para os esporos psicotróficos e microrganismos termodúricos psicotróficos verificou-se contagens menores que 10 UFC/mL.

Para os leites crus B1 e B2, as contagens de microrganismos mesófilos aeróbios foram um ciclo log mais elevados de $1,1 \times 10^6$ UFC/mL e $1,6 \times 10^6$ UFC/mL respectivamente, as de microrganismos psicotróficos também foram mais elevadas de $6,2 \times 10^5$ UFC/mL e $8,9 \times 10^5$ UFC/mL respectivamente. Para os esporos mesófilos e microrganismos termodúricos mesófilos, os leites crus B1 e B2 apresentaram contagens menores que 10^3 UFC/mL e para microrganismos psicotróficos esporulados e termodúricos psicotróficos apresentou contagens menores que 10 UFC/mL.

Pode-se observar ainda pela Tabela 2 que para as análises físico químicas e bioquímicas dos leites crus A1, A2 e B1, B2 se apresentaram dentro dos padrões normais especificados por legislação brasileira (Brasil, 2002) com destaque para análises de presença de antibióticos com resultados negativos e análise de fosfatase e peroxidase positivas, indicando assim que as matérias-primas não passaram por nenhum tratamento térmico antes dos processos de pasteurização.

Os leites crus A1 e A2 (Tabela 2) apresentaram-se com uma contagem de microrganismos psicotróficos 1 ciclo logarítmico mais baixo que os leites crus B1 e B2, sendo que o mesmo ocorreu com a contagem de microrganismos termodúricos mesófilos. Portanto verifica-se que os leites crus A1 e A2 apresentaram-se em melhores condições microbiológicas como matéria-prima.

Tabela 2 – Resultados das determinações físico-químicas, bioquímicas e microbiológicas para os leites crus A1, A2, B1 e B2.

| Determinações | Leite cru | | Leite cru | |
|--|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| | A1 | A2 | B1 | B2 |
| pH | 6,72 | 6,70 | 6,75 | 6,76 |
| Acidez (% ac. Láctico) | 0,16 | 0,16 | 0,16 | 0,16 |
| Densidade | 1,0320 | 1,0320 | 1,0320 | 1,0321 |
| Gordura (%) | 3,30 | 3,30 | 3,40 | 3,40 |
| Extrato seco total (%) | 12,30 | 12,30 | 12,32 | 12,32 |
| Extrato seco desengordurado (%) | 8,80 | 8,80 | 8,92 | 8,92 |
| Crioscopia (°Hortvet) | -0,545 | -0,545 | -0,546 | -0,546 |
| Antibióticos | Negativo | Negativo | Negativo | Negativo |
| Fosfatase | Positivo | Positivo | Positivo | Positivo |
| Peroxidase | Positivo | Positivo | Positivo | Positivo |
| Contagem de mesof. aeróbios (UFC/mL) | $1,2 \times 10^5$ | $1,3 \times 10^5$ | $1,1 \times 10^6$ | $1,6 \times 10^6$ |
| Contagem de psicrotróficos (UFC/mL) | $1,0 \times 10^4$ | $4,3 \times 10^4$ | $6,2 \times 10^5$ | $8,9 \times 10^5$ |
| Esporos mesófilos (UFC/mL) | $6,00 \times 10^1$ | $8,00 \times 10^1$ | $1,00 \times 10^2$ | $1,20 \times 10^2$ |
| Esp. psicrotróficos (UFC/mL) | < 10 | < 10 | < 10 | < 10 |
| Termodúricos mesófilos (UFC/mL) | $9,00 \times 10^1$ | $8,00 \times 10^1$ | $1,50 \times 10^2$ | $1,80 \times 10^2$ |
| Termodúricos psicrotróficos (UFC/mL) | < 10 | < 10 | < 10 | < 10 |

A Tabela 3 apresenta os resultados das determinações realizadas nos leites pasteurizados HTST A1, HTST A2, LE A1, LE A2 nos dias de processamentos.

Tabela 3 - Resultado das análises físico-químicas, bioquímicas e microbiológicas do leite pasteurizado com os leites crus A1 e A2.

| Determinações | 1° Processamento | | 2° Processamento | |
|--|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|
| | HTST A1 | LE A1 | HTST A2 | LE A2 |
| pH | 6,72 | 6,72 | 6,75 | 6,75 |
| Acidez (% ácido Láctico) | 0,16 | 0,16 | 0,16 | 0,16 |
| Fosfatase | Negativo | Negativo | Negativo | Negativo |
| Peroxidase | Positivo | Positivo | Positivo | Positivo |
| Contagem de mesófilos aeróbios (UFC/mL) | 1,10 X 10 ³ | 1,30 X 10 ³ | 1,20 X 10 ³ | 1,20 X 10 ³ |
| Coliformes totais (NMP/mL) | < 0,03 | < 0,03 | < 0,03 | < 0,03 |
| Coliformes fecais (NMP/mL) | < 0,03 | < 0,03 | < 0,03 | < 0,03 |
| Contagem de psicrotróficos (UFC/mL) | < 10 | < 10 | < 10 | < 10 |
| Salmonella (em 25 mL) | ausente | ausente | ausente | ausente |

Verificou-se que os resultados foram satisfatórios para os dois tipos de pasteurização, em particular observou-se a ausência da atividade da fosfatase bem como a presença da atividade da peroxidase, tanto na pasteurização HTST como na pasteurização LE, confirmando que os tratamentos térmicos foram adequados em todos as repetições. As contagens de microrganismos aeróbios mesófilos nos dias dos processamentos apresentaram-se praticamente com valores iguais. Verifica-se também que no dia de

processamento não ocorreu crescimento de microrganismos psicrotróficos para nenhum dos leites processados.

Tabela 4 - Resultado das análises físico-químicas, bioquímicas e microbiológicas do leite pasteurizado com os leites crus B1 e B2.

| Determinações | 1° Processamento | | 2° Processamento | |
|--|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| | HTST B1 | LE B1 | HTST B2 | LE B2 |
| pH | 6,75 | 6,75 | 6,76 | 6,76 |
| Acidez (% ácido Láctico) | 0,16 | 0,16 | 0,16 | 0,16 |
| Fosfatase | Negativo | Negativo | Negativo | Negativo |
| Peroxidase | Positivo | Positivo | Positivo | Positivo |
| Contagem de mesóf. aeróbios (UFC/mL) | $4,25 \times 10^3$ | $1,20 \times 10^4$ | $1,60 \times 10^4$ | $1,85 \times 10^4$ |
| Colif. totais (NMP/mL) | < 0,03 | < 0,03 | < 0,03 | < 0,03 |
| Colif. fecais (NMP/mL) | < 0,03 | < 0,03 | < 0,03 | < 0,03 |
| Contagem de psicrotróficos (UFC/mL) | < 10 | < 10 | < 10 | < 10 |
| Salmonella (em 25 mL) | ausente | ausente | ausente | ausente |

A Tabela 4 apresenta os resultados das determinações realizadas nos leites pasteurizados HTST B1, HTST B2, LE B1, LE B2 nos dias de processamentos.

Verificou-se que os resultados foram satisfatórios para os dois tipos de pasteurização, em particular observou-se a ausência da atividade da fosfatase bem como a presença da atividade da peroxidase, tanto na pasteurização HTST como na pasteurização LE, confirmando que os tratamentos térmicos foram adequados em todas as repetições.

A Figura 1 apresenta os resultados das contagens de microrganismos mesófilos aeróbios para os leites processados na pasteurização HTST. Verificou-se que os leites HTST A1 e HTST A2, apresentaram contagens no dia da pasteurização de $1,2 \times 10^3$ UFC/mL (Tabela 3) e ao final de dez dias ainda apresentaram contagens da ordem 10^3 UFC/mL ($6,3 \times 10^3$ UFC/mL e $7,8 \times 10^3$ UFC/mL respectivamente).

Para os leites HTST B1 e HTST B2, os valores iniciais de contagem de mesófilos aeróbios foram mais altos de $4,25 \times 10^3$ UFC/mL e $1,6 \times 10^4$ UFC/mL, respectivamente (Tabela 4), e ao final de dez dias apresentaram contagens mais elevadas de $3,5 \times 10^4$ UFC/mL e $2,6 \times 10^5$ UFC/mL respectivamente.

Os leites pasteurizados HTST B1 e HTST B2 apresentaram-se com contagens de microrganismos mesófilos aeróbios maiores que os leites HTST A1 e HTST A 2 (Figura 1), este fato pode ser explicado pela presença nas matérias-primas de uma contagem mais elevada de microrganismos termodúricos (Tabela 2).

A Figura 2 apresenta as contagens de microrganismos psicrotróficos para os leites acima citados. O crescimento de microrganismos psicrotróficos iniciou-se a partir de dois dias de vida de prateleira com contagens na ordem de 10^3 UFC/mL e 10^4 UFC/mL para os leites HTST A1, HTST B2 e HTST B1 e de 4 dias com contagens na ordem de 10^3 UFC/mL para o leite HTST A2.

Pode-se verificar pelos gráficos 1 e 2 que as curvas de crescimento, tanto de microrganismos mesófilos aeróbios como de psicrotróficos, apresentam traçados semelhantes no mesmo período de tempo, isto é, quando ocorreu um maior desenvolvimento de microrganismos mesófilos também ocorreu um crescimento de microrganismos psicrotróficos. Verifica-se facilmente isso pelas curvas, por exemplo, do leite HTST B2 que com quatro dias apresentou um crescimento grande de microrganismos psicrotróficos, o mesmo acontecendo para os microrganismos mesófilos aeróbios.

Considerando que os microrganismos psicrotróficos por definição são aqueles que podem crescer a temperaturas de 7°C , independente de sua temperatura ótima de crescimento (Blake,1998) e que as temperaturas ótimas de crescimento podem ser as mesmas temperaturas dos microrganismos mesófilos, pode-se supor que grande parte dessa microbiota mesófila pode também crescer a temperaturas de refrigeração, aparecendo também nas contagens de microrganismos psicrotróficos.

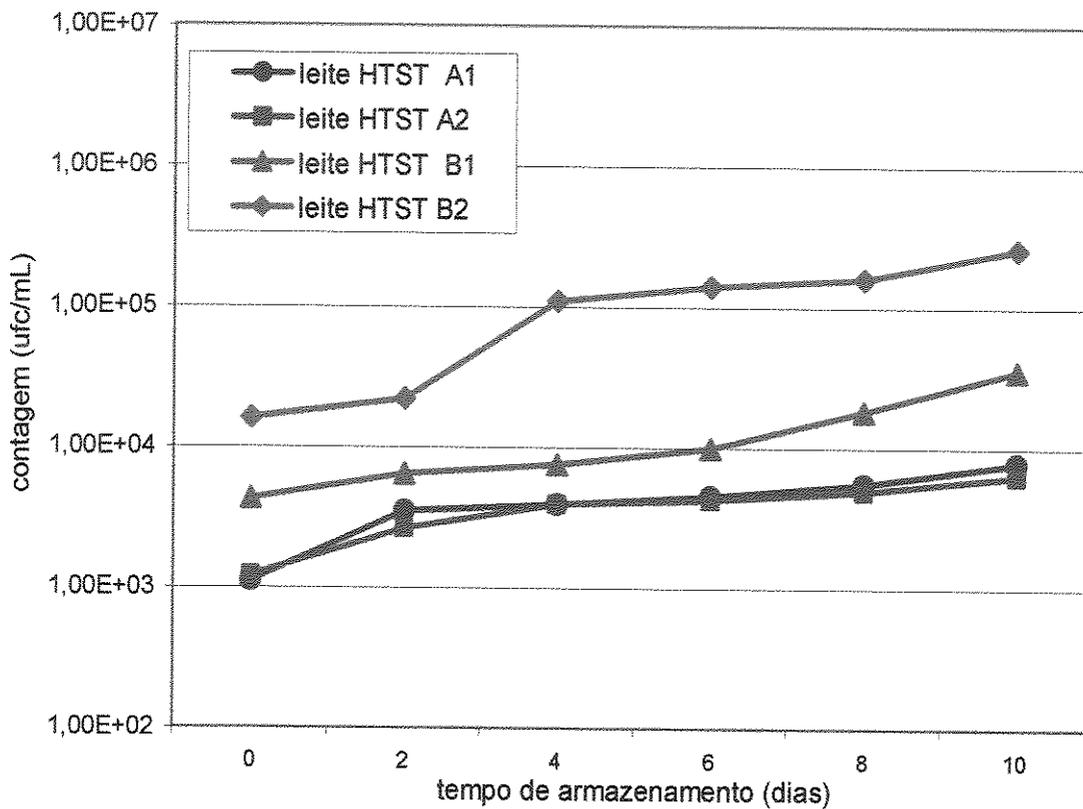


Figura 1 - Contagem de mesófilos aeróbios para os leites processados na pasteurização HTST com as matérias primas A e B, nas duas repetições

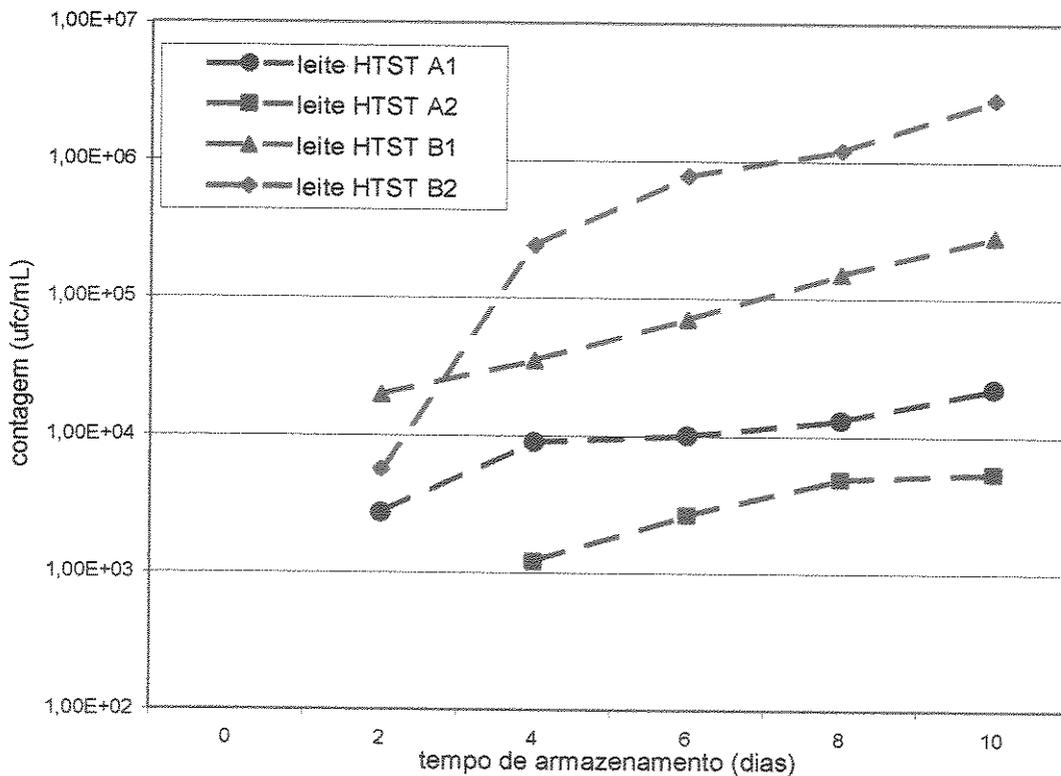


Figura 2 - Contagem microrganismos psicotróficos para os leites processados na pasteurização HTST com as matérias primas A e B, nas duas repetições

Verifica-se que ao longo da vida de prateleira não ocorreu o desenvolvimento de microrganismos coliformes e coliformes fecais (Tabelas 5 e 6), indicando não ter ocorrido nenhuma contaminação pós-pasteurização bem como condições adequadas de sanitização da planta.

Também pode-se verificar que o tratamento HTST se situou de acordo com os parâmetros esperados, uma vez que as análises de peroxidase foram positivas e fosfatase negativas, indicando pasteurizações dentro dos limites de temperatura de 72°C a 75°C/15 a 20 s especificados por legislação.

As análises de detecção de presença de *Salmonella* para o sistema de pasteurização HTST também se situaram dentro dos padrões esperados e preconizados por legislação, tendo como resultado ausência de *Salmonella*, para todos os leites pasteurizados.

Os resultados das contagens de microrganismos mesófilos aeróbios e psicrotróficos para os leites pasteurizados com o sistema de pasteurização lenta na embalagem com os leites crus A1, A2 e B1 e B2 estão apresentados nas Figuras 3 e 4.

Verifica-se que os leites LE A1 e LE A2 apresentaram contagens no dia de pasteurização de $1,2 \times 10^3$ UFC/mL (Tabela 3) e ao final de dez dias ainda apresentaram contagens de 10^3 UFC/mL ($3,5 \times 10^3$ UFC/mL e $9,5 \times 10^3$ UFC/mL respectivamente (Figura 3)).

Para os leites LE B1 e LE B2 os valores iniciais de contagem de microrganismos mesófilos aeróbios foram mais altos de $1,24 \times 10^3$ UFC/mL e $1,85 \times 10^4$ UFC/mL respectivamente (Tabela 4). Ao final de dez dias apresentaram valores de $3,8 \times 10^5$ UFC/mL e $8,7 \times 10^6$ UFC/mL respectivamente (Figura 3), valores 1 ciclo logarítmico mais elevados que para os leites HTST. No leite LE B2 a partir do segundo dia ocorreu um crescimento rápido de microrganismos mesófilos aeróbios e com seis dias de vida de prateleira atingiu valores de 10^6 UFC/mL.

Verifica-se pela Figura 4 que as contagens dos microrganismos psicrotróficos são semelhantes no mesmo período de tempo, o que leva a suposição de que à medida que o tempo de estocagem aumentou, ocorreu um crescimento maior de microrganismos mesófilos e também dos psicrotróficos. Este fato pode ser observado muito claramente quando se comparam as duas curvas de crescimento para o leite embalagem B2.

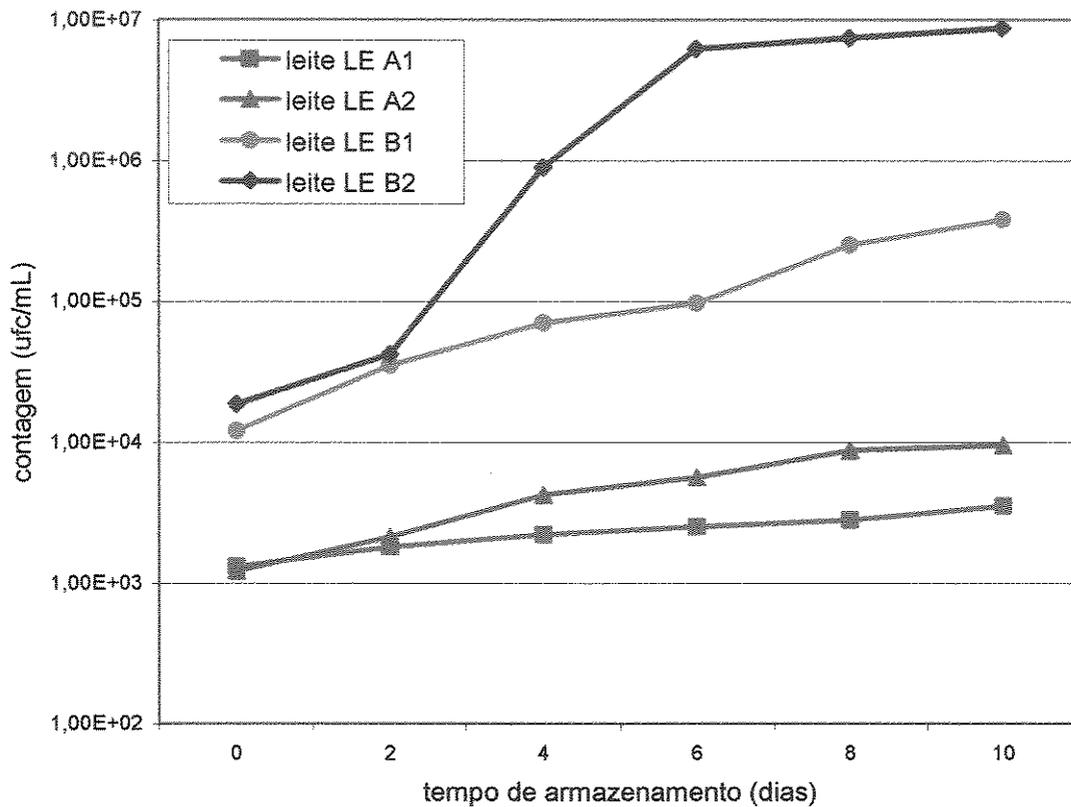


Figura 3 - Contagem mesófilos aeróbios para os leites pasteurizados na embalagem com as materias primas A e B, nas duas repetições

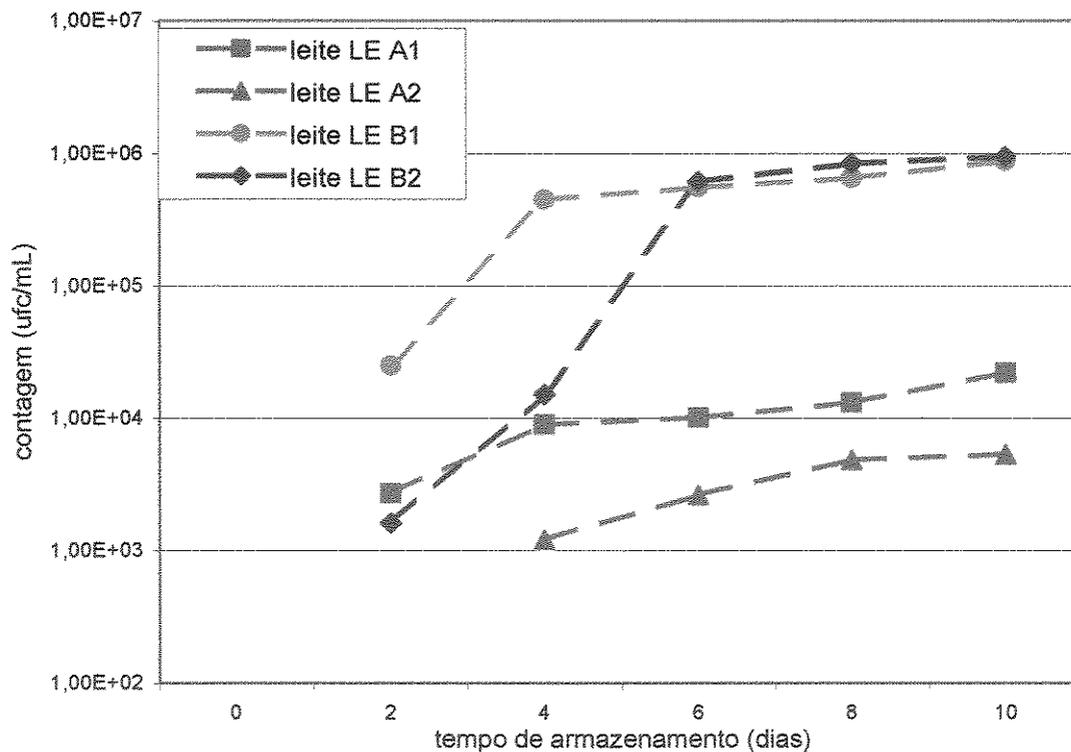


Figura 4 - Contagem microrganismos psicotróficos para os leites pasteurizados na embalagem com as materias primas A e B, nas duas repetições

Verifica-se também que ao longo do tempo de estocagem dos leites processados na pasteurização LE não ocorreu o desenvolvimento de microrganismos coliformes nem de coliformes fecais (Tabelas 5 e 6). Esse resultado era esperado uma vez que estes microrganismos são sensíveis a temperaturas de pasteurização. Da mesma forma a contaminação pós-pasteurização neste processo é muito difícil porque o leite é embalado ainda cru e posteriormente sofre processo de pasteurização.

Os resultados foram negativos para a presença de *Salmonella* estando portanto, de acordo e dentro de padrões preconizados por legislação brasileira, indicando assim que a pasteurização lenta nas embalagens foi eficiente. As análises de fosfatase e peroxidase se apresentaram também dentro dos padrões de legislação, indicando que o leite foi tratado adequadamente (Tabelas 5 e 6).

Ao se comparar os dois sistemas de pasteurização com os dois leites crus utilizados verifica-se que os leites crus A1 e A2, que apresentou contagens iniciais de microrganismos mesófilos e psicrotróficos mais baixos (10^4 UFC/mL), o leite pasteurizado tanto no sistema HTST como pasteurização lenta na embalagem se apresentou com contagens de 10^3 UFC/mL, chegando até valores máximos de 10^4 UFC/mL com dez dias de vida de prateleira (Figuras 1 e 3).

Para os leites crus B 1 e B 2, que inicialmente apresentaram uma contagem de microrganismos mesófilos e psicrotróficos mais alta (10^5 UFC/mL) tanto os leites HTST e LE apresentaram contagens de microrganismos mesófilos maiores atingindo valores até 10^7 UFC/mL ao final de 10 dias (Figuras 1 e 3).

Pode-se assim concluir que o leite cru que inicialmente apresentou contagem de microrganismos mesófilos mais baixa apresentou após a pasteurização valores também mais baixos e o leite cru que apresentou valores iniciais de contagens de microrganismos mesófilos mais altos apresentou leite pasteurizado com valores de contagem de microrganismo mesófilos também mais altos (Figuras 1 e 3). Esse fato é confirmado por várias pesquisas que relacionam a qualidade da matéria prima como um fator fundamental para um produto final de boa qualidade (Hoffmann et al. 1996; Villares, 1959; Busani et al, 1989 e Blake, 1998).

Tabela 5 – Contagem de microrganismos coliformes totais fecais ao longo do tempo de armazenamento com os leites crus A1 e A2

| Dia de análise | Leite HTST A1 | | Leite HTST A2 | |
|----------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|
| | Colif. totais (NMP/mL) | Colif. fecais (NMP/mL) | Colif. totais (NMP/mL) | Colif. fecais (NMP/mL) |
| 0 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 |
| 2 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 |
| 4 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 |
| 6 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 |
| 8 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 |
| 10 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 |

| Dia de análise | Leite LE A1 | | Leite LE A2 | |
|----------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|
| | Colif. totais (NMP/mL) | Colif. fecais (NMP/mL) | Colif. totais (NMP/mL) | Colif. fecais (NMP/mL) |
| 0 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 |
| 2 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 |
| 4 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 |
| 6 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 |
| 8 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 |
| 10 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 |

Obs: Colif. totais: coliformes totais; Colif. fecais: coliformes fecais

Tabela 6 – Contagem de microrganismos coliformes totais fecais ao longo do tempo de armazenamento com os leites crus B1 e B2

| Dia de análise | Leite HTST B1 | | Leite HTST B2 | |
|----------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|
| | Colif. totais (NMP/mL) | Colif. fecais (NMP/mL) | Colif. totais (NMP/mL) | Colif. fecais (NMP/mL) |
| 0 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 |
| 2 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 |
| 4 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 |
| 6 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 |
| 8 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 |
| 10 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 |

| Dia de análise | Leite LE B1 | | Leite LE B2 | |
|----------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|
| | Colif. totais (NMP/mL) | Colif. fecais (NMP/mL) | Colif. totais (NMP/mL) | Colif. fecais (NMP/mL) |
| 0 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 |
| 2 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 |
| 4 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 |
| 6 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 |
| 8 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 |
| 10 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 |

Obs: Colif. totais: coliformes totais; Colif. fecais: coliformes fecais

Tabela 7 - Cálculo da eficiência de pasteurização HTST e pasteurização LE para os dois processos com os leites crus A1, A2, B1 e B2

| Leite Pasteurizado | Processo | Eficiência de Pasteurização (%) | Redução de Ciclos Logarítmicos |
|--------------------|----------|---------------------------------|--------------------------------|
| HTST A1 | 1 | 99,08 | 2,04 ciclos log. |
| LE A1 | 1 | 98,92 | 1,97 ciclos log. |
| HTST A2 | 2 | 99,08 | 2,03 ciclos log |
| LE A2 | 2 | 98,88 | 1,95 ciclos log |
| HTST B1 | 1 | 99,61 | 2,41 ciclos log. |
| LE B1 | 1 | 98,91 | 1,96 ciclos log. |
| HTST B2 | 2 | 99,00 | 2,00 ciclos log |
| LE B2 | 2 | 98,68 | 1,88 ciclos log |

A Tabela 7 apresenta os resultados das eficiências dos sistemas de pasteurização. Pode-se observar que todas as pasteurizações realizadas com as duas matérias-primas apresentaram rendimentos superiores a 98%, com uma redução da carga microbiana de 1,88 a 2,41 ciclos logarítmicos. Para a pasteurização LE as reduções de ciclos logarítmicos foram menores que 2 ciclos logarítmicos, com eficiências de pasteurização entre 98,68% a 98,91%. A pasteurização HTST apresentou uma redução maior de 2 ciclos logarítmicos, com uma eficiência de pasteurização entre 99,00% a 99,61%. Os, leites crus que tiveram contagens de microrganismos aeróbios mesófilos mais altas apresentaram-se com valores finais mais elevados.

Avaliação sensorial

A Tabela 8 apresenta os resultados da avaliação sensorial com 5 provadores para a pasteurização LE com os leites crus A1, A2, B1 e B2. Com cinco dias armazenamento os leites LE A1, LE A2 apresentaram-se com classificação anormal ou impróprio para consumo para 60% (LE A1) a 80% (LE A2) dos provadores, para os demais julgadores o leite apresentou-se pobre (40% e 20 %, respectivamente). O leite LE B1 se apresentou com

80% de classificação pobre e 20% anormal. Para o leite LE B2 a classificação anormal apresentou-se desde o primeiro dia de avaliação sensorial.

Tabela 8 - Avaliação sensorial do leite pasteurizado com os leites crus A e B e pasteurização LE.

| Nota e classificação do leite | | | | | |
|-------------------------------|--------------|--------------|--------------|---------------|---------------|
| Dia de análise | Provedores | | | | |
| | P1 | P2 | P3 | P4 | P5 |
| Leite LE A1 | | | | | |
| 1º dia | 38,5/bom | 35,0/pobre | 35,0/pobre | 35,5/pobre | 37,5/regular |
| 3º dia | 35,0/pobre | 31,0/pobre | 31,0/pobre | 35,0/pobre | 35,0/pobre |
| 5º dia | 33,5/pobre | 30,0/anormal | 30,0/anormal | 30,0/anormal | 33,0/pobre |
| 7º dia | 33,0/pobre | 30,0/anormal | 30,0/anormal | 30,0/anormal | 30,0/ anormal |
| Leite LE A2 | | | | | |
| 1º dia | 37,5/regular | 35,0/pobre | 35,0/pobre | 35,0/pobre | S/ análise |
| 3º dia | 35,0/pobre | 33,0/pobre | 33,0/pobre | 31,0/pobre | S/ análise |
| 5º dia | 35,0/pobre | 23,0/anormal | 30,0/anormal | 30,0/anormal | 30,0/anormal |
| 7º dia | 30,0/anormal | 26,0/anormal | 23,0/anormal | 23,0/anormal | 23,0/anormal |
| Leite LE B1 | | | | | |
| 1º dia | 37,5/regular | 35,0/pobre | 38,0/bom | 35,5/pobre | 38,0/bom |
| 3º dia | 37,0/regular | 33,0/pobre | 35,0/pobre | 35,0/pobre | 37,0/regular |
| 5º dia | 35,0/pobre | 30,0/anormal | 35,0/pobre | 33,0/pobre | 35,0/pobre |
| 7º dia | 30,0/anormal | 23,0/anormal | 30,0/anormal | 30,0/ anormal | 30,0/anormal |
| Leite LE B2 | | | | | |
| 1º dia | 30,0/anormal | 30,0/anormal | 30,0/anormal | 30,0/anormal | S/ análise |
| 3º dia | 28,0/anormal | 28,0/anormal | 28,0/anormal | 30,0/anormal | S/ análise |
| 5º dia | 26,0/anormal | 26,0/anormal | 26,0/anormal | 28,0/anormal | 30,0/anormal |
| 7º dia | 23,0/anormal | 23,0/anormal | 23,0/anormal | 26,0/anormal | 28,0/anormal |

OBS - S/ análise – sem análise

Tabela 9 - Avaliação sensorial de leite pasteurizado com os leites crus A e B e pasteurização HTST.

| Nota e classificação do leite | | | | | |
|-------------------------------|---------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| Dia de análise | Provadores | | | | |
| | P1 | P2 | P3 | P4 | P5 |
| HTST A1 | | | | | |
| 1° dia | 37,5/regular | 38,5/bom | 37,5/regular | 35,5/pobre | 38,5/bom |
| 3° dia | 37,5/regular | 35,0/pobre | 39,5/bom | 35,0/pobre | 37,5/regular |
| 5° dia | 33,0/pobre | 31,0/pobre | 33,5/pobre | 35,0/pobre | 35,0/pobre |
| 7° dia | 36,5/regular | 30,0/anormal | 30,0/anormal | 30,0/anormal | 30,0/anormal |
| HTST A2 | | | | | |
| 1° dia | 38,0/bom | 37,5/regular | 35,0/pobre | 35,0/pobre | S/ análise |
| 3° dia | 35,0/pobre | 33,0/pobre | 33,0/pobre | 33,0/pobre | S/ análise |
| 5° dia | 35,0/pobre | 31,0/pobre | 31,0/pobre | 31,0/pobre | 31,0/pobre |
| 7° dia | 33,0/pobre | 26,0/anormal | 23,0/anormal | 23,0/anormal | 23,0/anormal |
| HTST B1 | | | | | |
| 1° dia | 38,5/bom | 35,0/pobre | 35,5/pobre | 35,5/pobre | 36,5/regular |
| 3° dia | 38,0/bom | 33,0/pobre | 35,0/pobre | 35,0/pobre | 38,0/bom |
| 5° dia | 35,0/pobre | 31,0/pobre | 35,0/pobre | 33,0/pobre | 35,0/pobre |
| 7° dia | 35,0/pobre | 23,0/anormal | 30,0/anormal | 30,0/anormal | 30,0/anormal |
| HTST B2 | | | | | |
| 1° dia | 35,5/pobre | 30,0/anormal | 30,0/anormal | 30,0/anormal | S/ análise |
| 3° dia | 35,0/pobre | 28,0/anormal | 28,0/anormal | 30,0/anormal | S/ análise |
| 5° dia | 33,0/pobre | 26,0/anormal | 26,0/anormal | 28,0/anormal | 30,0/anormal |
| 7° dia | 30,0/ anormal | 23,0/anormal | 23,0/anormal | 26,0/anormal | 28,0/anormal |

OBS - S/ análise – sem análise

A Tabela 9 apresenta os resultados da avaliação sensorial para a pasteurização HTST com os leites cru A1, A2, B1 e B2 para os 5 provadores. Pode-se observar que com cinco dias de vida útil os leites a HTST A1, HTST A2, HTST B1 se apresentaram em condições de consumo para 100% dos provadores e o leite HTST B2 ao final cinco dias se apresentou com condições de consumo para 20% dos provadores, sendo reprovado sensorialmente por 80% dos provadores como leite impróprio para consumo.

Baseado nesses resultados e pelas Tabelas 8 e 9, pode-se dizer que para o sistema de pasteurização HTST o melhor leite foi o HTST A1 e o pior leite foi o LE B2. É interessante observar que esses dados coincidem com os resultados de contagens de microrganismos mesófilos e microrganismos psicotróficos, onde o leite com menores contagens apresentou melhores condições sensoriais e o leite com maiores contagens apresentou piores condições sensoriais. Pode-se explicar este fato uma vez que produtos com contagem de microrganismos mesófilos aeróbios e/ou contagens de microrganismos psicotróficos com valores acima de 10^6 UFC/mL começam a aparecer alterações sensoriais no produto final (Blake, 1998).

Para os leites crus A1 e A2, considerando-se somente os resultados microbiológicos verifica-se que o leite pasteurizado pelos dois sistemas de pasteurização obteve uma vida de prateleira de 10 dias, mas como a vida útil de um produto deve ser avaliada também do ponto de vista sensorial (Tabelas 8 e 9), pode-se concluir que os leites com as matérias primas A para o sistema HTST apresentaram uma vida útil de até 5 dias. Para o sistema de pasteurização lenta na embalagem os leites apresentaram uma vida útil de 3 dias com condições de consumo, embora com uma classificação pobre, porém em condições de consumo.

Para o leite pasteurizado com os leites crus B1 e B2, os leites HTST B1 e HTST B2 apresentaram uma vida útil de 3 dias e 1 dia respectivamente. O leite LE B1 apresentou-se com vida útil de 3 dias e o leite LE B2 já no 1º dia de avaliação sensorial apresentou-se sem condições de consumo para todos os provadores.

Quando comparados com os resultados das análises microbiológicas verifica-se que o leite cru B2 apresentou valores de contagens de microrganismos mesófilos e psicotróficos elevados (10^6 UFC/mL e 10^5 UFC/mL respectivamente), e que possivelmente já apresentam alterações sensoriais nos leites, principalmente pela provável produção das

enzimas proteolíticas e lipolíticas que muitas vezes são termorresistentes ao processo de pasteurização causando alterações de sabor tanto na matéria-prima como nos produtos finais. Uma contagem de microrganismos mesófilos de 10^6 UFC/mL é considerada muito acima do limite para a aceitação sensorial de um produto, quando a vida de prateleira desse produto é determinada pela estabilidade microbiológica e sensorial. Para valores de contagens de microrganismos mesófilos aeróbios acima de 10^5 UFC/mL alterações organolépticas já podem ser percebidas, comprometendo os produtos especialmente quando ao odor, sabor e aroma (Fredsted et al., 1995; Blake, 1998, Knight, 1989).

Conclusões

A pasteurização rápida (leite HTST) e pasteurização lenta na embalagem (leite LE) apresentaram-se viáveis como sistemas de pasteurização com eficiências entre 98,68 a 99,61%. A diferença de vida útil nos leites processados deveu-se a diferença de qualidade microbiológica dos leites crus.

Leite pasteurizado obtido com a matéria-prima (leite cru B) com uma microbiota inicial mais elevada (10^6 UFC/mL) apresentou uma vida útil de três dias sob refrigeração.

Leite pasteurizado obtido com a matéria-prima (leite cru A) com uma microbiota inicial mais baixa (10^5 UFC/mL) apresentou uma vida útil de 10 dias sob refrigeração.

Quando avaliados sensorialmente o leite pasteurizado obtido a partir de matéria-prima com microbiota inicial menor (10^5 UFC/mL), apresentou uma vida útil de três a cinco dias sob refrigeração, com uma classificação sensorial pobre.

O leite pasteurizado obtido a partir de matéria-prima com microbiota inicial mais elevada (10^6 UFC/mL), quando avaliado sensorialmente apresentou uma vida útil de 1 a 3 dias, com uma classificação sensorial pobre.

Referências Bibliográficas

- AIRES, G. S. B.. **Treinamento de um Painel de Estudantes para Julgamento de Qualidade Sensorial de Leite Fluido**. Campinas, 2002, 149 p.. Dissertação (Mestre em Tecnologia de Alimentos), Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP).
- ALMEIDA, A. A. P.. **Microrganismos psicrotóxicos em leite e derivados**. Revista do Instituto de Laticínios "Cândido Tostes", Juiz de Fora, 304 (54), 184-196, 1998.
- AJZENTAL, A.. **Histórico do tratamento térmico do leite**. *Leite & Derivados*, São Paulo, 17 (4): 13-14, 1994.
- AUCLAIR, J. **Process avoiding recontamination of pasteurized milk**. Bulletin International Dairy Federation n°200: 15-16, 1986.
- BARROS, V. R. M., PANETTA, J. C., PERCES, E. M. do C.. **Eficiência do Sistema de Pasteurização em Usinas de Beneficiamento de leite da Capital de São Paulo, Brasil**. *Higiene Alimentar*, São Paulo, 3 (314): 199-206, 1984.
- BORGES, S. F.. **Qualidade do Leite Pasteurizado no Comércio Varejista na Região de Campinas - SP**. Tese mestrado da, Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas, 60p., 1987.
- BORGES, V. R. M.; RODRIGUES, R.; RUBINICH, J.. **Comparasion of the Quality of two Types of Milk at Two Sources in Belo Horizonte, Brazil market**. *Journal of Food Protection*, 41(9): 739-742, 1978.
- BRASIL, MINISTÉRIO DA AGRICULTURA. Departamento Nacional de Inspeção Federal de Produtos de Origem Animal. **Decreto n°2244**. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 05 junho 1997, Seção1, p.11.555.
- BRASIL, MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Secretaria da Defesa Agropecuária, SDA/MAPA. **Instrução Normativa N°22**. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 02 maio 2003, Seção1, n° 83, p.3-25.
- BRASIL, MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO Secretaria da Defesa Agropecuária, -SDA/MAPA. **Instrução Normativa N°51**. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 20 set., Seção1, n 183, p.13-22.

BRASIL, MINISTÉRIO DA JUSTIÇA. Secretaria do Direito Econômico e do Departamento de Proteção e Defesa do Consumidor. **Código de Defesa do Consumidor - Lei 8078/90**. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF 11 set. 1990.

BRODERICK, H. M.. **The Pratical Brewer: A Manual for the Brewing Industry**, 2°ed..Madison/Wisconsin: Board, 475p. 1977.

BURTON, H. Monograph on Pasteurized Milk - Microbiological Aspects. Extended Shelf Life. Bulletin International Dairy Federation n°200: 9-14, 1986.

BUSANI, S .F. B.; OLIVEIRA, J. S. de. Leite Pasteurizado - Sua qualidade desde a Fonte de Produção. Coletânea do ITAL, Campinas, 19 (2): 113-120, 1989.

CARDOSO, A. L. de M P. **Ocorrência,multiplicação e produção de Toxina diarréica por cepas de mesófilas e psicrotróficas de Bacillus cereus, em leite pasteurizado**. Campinas, 2000, 95 p.. Dissertação (Doutor em Tecnologia de Alimentos), Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP).

CARUSO, J. G .B., OLIVEIRA, A. J. de.. Leite: Obtenção, Controle de Qualidade e Processamento. Piracicaba: Depto de Tecnologia Rural, ESALQ/USP, 1-45. 1983.

COMISSION DEL CODEX ALIMENTARIUS. Organizacion de las Naciones Unidas para la Agricultura e la Alimentacion. Organizacion Mundial de la Salud. **Programa Conjunto FAO/OMS sobre Normas Alimentarias.Definiciones de tratamiento térmico segundo se aplica a la Leche y los productos lacteos**. Roma, abril, 1982.

COVARRUBIAS, M. P.; HARVERBECK, J.. **Variações na Qualidade do Leite Cru fase Estábulo-Indústria**. Revista do Instituto de Laticínios "Cândido Tostes", Juiz de Fora, 33 (195): 3-12, 1978.

CROMIE, S. J.. **Microbiological Aspects of Extended Shelf Life Products**. The Australian Journal of Dairy Technology 46 (2), 101-104, 1991.

CROMIE, S. J.; DOMMET, T. W.; SCHMIDT, D. **Changes in the Microflora of Milk with Different Pasteurization and Storage Conditions and Aseptic Packaging**. The Australian Journal of Dairy Technology 44 (1), 74-77, 1989 a.

CROMIE, S.J.; SCHMIDT, D.; DOMMET, T. W. **Effect of Pasteurization and Storage Conditions on the Microbiological, Chemical and Physical Quality of Aseptically Packaged Milk**. The Australian Journal of Dairy Technology 44 (1), 25-30, 1989 b.

- EDDY, B. P.. **The use of the term Psychrotrophic**. Journal of Applied Bacteriology, 23 (2), 189–190, 1986.
- FARREL, H. M., Jr.. Physical Equilibria: Proteins. **In: Fundamentals of Dairy Chemistry**, 2nd ed.. AVI publishing Co., Westport, Con., 725p, 1974
- FORSYTE, S., J.. **Microbiologia da Segurança Alimentar**. Porto Alegre, Artmed, 2002, 424p.
- FREDSTED, L. B.; RYSSTAD, G.; EIE, T. Pure-Lac: The New Milk with Protected Freshness and Extended Shelf Life. **Heat Treatments & Alternative Methods**, International Dairy Federation Symposium–Vienna (Austria), 104-125, 1995.
- GLAESER, H. Alternative Methods: Legal and Control Aspects. **Heat Treatments & Alternative Methods**, International Dairy Federation Symposium–Vienna (Austria), 438-447, 1995.
- GOMES, F. M.; LEMOS, M. A.. **Implantação , transporte e coleta de leite a granel**. Revista do Instituto de Laticínios "Cândido Tostes", Juiz de Fora, 309(54), 184-196, 1999.
- GRIFFITS, M. W.; PHILLIPS, J. D.; MUIR, D. D.. **The effect of sub-pasteurization heat treatments on the shelf life of milk**. Dairy Industries International 51 (5), 31-35, 1986.
- GRIFFITS, M. W.; PHILLIPS, J. D.; MUIR, D. D.. **Development of flavour defects in pasteurized double cream during storage at 6°C and 10°C**. Journal of the Society of Dairy Technology 34: 142–146, 1981.
- HALL, C. W.& TROUT, G. M.. **Milk Pasteurization**. Westpot, Connecticut: The AVI Publishing Company, 234p, 1968.
- HAMMER B. W.; HAUSER, A. J.. **Studies on uniformity of heating in the final Package of pasteurization**. The Journal of Dairy Science, 1 (6) :462-474, 1918.
- HUNN, S.; HAJDENURERCEL, J. R.; MORAES, J. M.; VARGAS, O. L.. **Qualidade Microbiológica do Leite cru Obtido por Meio de Ordenha Manual e Mecânica e a chegar à plataforma**. Revista do Instituto de Laticínios "Cândido Tostes", Juiz de Fora, 32 (209): 3-8, 1980.
- INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION. **Monograph on Pasteurized Milk**, Bulletin 200/1986, Brussels, 1986.

- ISEPON, J. S.; JUNIOR, M. S. N.; PEREIRA, R. L.. **Avaliação da qualidade do leite pasteurizado por mini-usinas de beneficiamento**. Revista do Instituto de Laticínios "Cândido Tostes", Juiz de Fora, 309 (54): 120-124, 1999.
- KNIGHT, A. H.; FRYER S. M.. **The development of heat-resistant phosphatase activity in raw milk**. Journal of the Society of Dairy Technology 42 (3), 81-86, 1989.
- LAMPERT, L. M.. **Modern Dairy Products**. Chemical Publishing Company, Inc.N.Y., 1975, 437p.
- LEITÃO, M. F. F.. **Microbiologia de Alimentos**, In: Tratado de Microbiologia, Editora Manole, São Paulo, 3-81, 186p, 1988.
- LEITÃO, M. F. F.; TEIXEIRA, L.T.; MORI, E. E. M.. **Bactérias Termofílicas não Esporogênicas e seu Significado na Qualidade do Leite Comercial Pasteurizado**. Coletânea do Instituto de Tecnologia de Alimentos, 17 (1): 54-64, 1987.
- MARSHALL, R. T.. **Standard Methods for the Examination of Dairy Products**. 16 ed. American Public Health Association, Washington, D.C., 1992, 546p.
- MEIRELES, A. J.. **Leite Paulista: História da formação de um Sistema Cooperativista no Brasil**. 1ªed. São Paulo: Cultura HMR Editores Associados Ltda, 1983.
- MOTTAR, J.; WAES, G.. **Quality control of pasteurized milk**. Bulletin of International Dairy Federation, 200: 66-70, 1986.
- MUIR, D. D.. **The Shelf life of Dairy Products: 1. Factors influencing raw milk and fresh products**. Journal of the Society of Dairy Technology 49 (1): 24-32, 1996 a.
- MUIR, D.D.. **The microbiology of heat-treated fluid milk products**. In: Dairy Microbiology-The Microbiology of Milk. London: Elsevier Applied, 1990. V 1, cap.6, p 212.
- MURTHY, G. K.; KLEYN, D. H.; RICHARDSON, T. & ROCCO, R.M.. **Alkaline Phosphatase Methods**, In: **Standard Methods for the Examination of Dairy Products**, 16 ed. American Public Health Association, Washington, D.C., 413-431, 1992.
- NELSON, J. A.; TROUT G.M.. **Judging Dairy Products**. 4th ed.. The Olsen Publishing CO., Milwaukee, 1964, 463 p.
- NIELSEN, W. K.. **New Methods for Food Preservation. Treatments & Alternative Methods**, International Dairy Federation Symposium-Vienna (Áustria), 240-248, 1995.

- OFFICIAL METHODS of ANALYSIS of AOAC INTERNATIONAL, 16th ed. Washington, DC, USA, 1995.
- OLIVEIRA, J. S.de. **Qualidade Microbiológica do Leite.** Indústria Alimentar, 1: 38-40, 1976.
- OVERCAST, W. W.. **Psychrophilic microorganisms and keeping quality and its products.** Journal of Dairy Science, 51:1336–1338, 1968
- PANETTA, J. C.. **Avaliação de algumas características físico-químicas e microbiológicas de leites beneficiados, distribuídos ao consumo na cidade de São Paulo, durante o verão de 1977.** São Paulo, 1980, 416p. Dissertação (Livre docência), Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Estadual de São Paulo (USP).
- PATEL, G. B. &BLANKENAGEL, G.. **Bacterial counts of raw milk an flavour of the milk after pasteurization and storage.** Journal Milk Food Technology, 35: 203-206, 1972.
- ROITMAN, I.; TRAVASSOS, L. R.; AZEVEDO, J. L.. **Tratado de microbiologia.** Ed.Manole, São Paulo, 1988, vol.I, 186 p.
- SALJI, J. S.; SAAFI, S. R.; MASHHADI, A.. **The shelf life of Pasteurized Fresh Milk Manufactured in Saudi Arabia.** Journal of Food Products, 51(12): 976-978, 1988.
- SANTOS, E. C.. **Controle da Eficiência da Pasteurização da leite beneficiado em Belo Horizonte.** Arq. Esc. Vet., 18: 99–104, 1966.
- SCHMIDT, D.; CROMIE, S. J.; DOMMET, T. W.. **Effect of Pasteurization and Storage Conditions on the Shelf Life and Sensory Quality of Aseptically Packaged Milk.** The Australian Journal of Dairy Technology 44 (1): 19-24, 1989.
- SECRETARIA DE AGRICULTURA E ABASTECIMENTO DO ESTADO DE SÃO PAULO (SAA/SP). **Normas sobre a produção de Leite de Cabra e seus derivados em Condições Artesanais.** Resolução SAA-93, 14/10/93, São Paulo, 1993.
- SECRETARIA DE AGRICULTURADO DISTRITO FEDERAL (SADF). **Portaria 002/95 - SADF.** Diário Oficial do Distrito Federal, 15 de março de 1995. Brasília.
- SHIPE, W. F.; BASSETTE, R.; DEANE, D. D.; DUNKLEY, W. L.; HAMMOND, E .G.; HARPER, W. J.; KLEYN, D. H.; MORGAN, M. E.; NELSON, J. H.; SCANLAN, R. A.. **Off-flavors in milk: Nomenclature, standards and bibliography.** Journal of Dairy Science, 61: 855, 1978.

- SILVEIRA, V. V.; SAKUMA, H.; DUARTE, M.; RODAS, M. A. B.; SARUWTARI, J. H.; CHICOUREL, E. L.. **Avaliação das Condições físico-químicas e Microbiológicas do Leite Pasteurizado na Cidade de São Paulo**. Revista do Instituto Adolfo Lutz, 49 (1): 19-25, 1989.
- SILVEIRA, I. A.; CARVALHO, E .P.; TEIXEIRA, D.. **Influência de Microrganismos Psicrotróficos sobre a Qualidade do Leite Refrigerado. Uma Revisão**. Revista Higiene Alimentar, 12 (55): 21-27, 1998.
- SOUZA, M. R.de; CERQUEIRA, M. M. de O.P; SILVA A, A. N. da; RODRIGUES, R.; SAMPAIO, I. B. M.. **Pasteurização Lenta e Rápida: uma avaliação de eficiência**. Leite e Derivados, São Paulo, 29 (4): 56-65, 1996
- SPREER, E.. **Lactologia Industrial**. Editorial Acribia, 461p., 1975.
- STAAL, P. F. J.. **Monograph on Pasteurized Milk-Microbiological Aspects. Extended Shelf Life**. Bulletin International Dairy Federation n°200: 71-79, 1986.
- STUMBO, C. R.. **Thermobacteriology in Food Processing**, 2 ed.. Academic Press, 1973.
- SUHREN, G.. **Milk and milk products**, In: Enzymes of Psychrotrophs in Raw Food, CRC Press Inc, 4, 1989.
- TEIXEIRA NETO, R. O; VAN DENDER, A. G. F.; GARCIA, E. E. C.; EIROA, M. N. U.; BARBIERI, M. K.; MOURA, S. C. S. R.. **Pasteurização de leite de cabra por processo simplificado**. Ciência Tecnologia Alimentar, Campinas, 14 (2): 202-218, 1994.
- TEIXEIRA NETO, R. O.; VAN- DENDER, A. G. F.; BARBIERI, M. K.; EIROA, M. N. U; MOURA, S. C. S. R.. **Pasteurização de leite na própria embalagem em banho - maria**. Ciência Tecnologia Alimentar, Campinas, 17 (2): 142-147, 1997.
- TEIXEIRA NETO, R. O.; VITALI, A. A.. **Desenvolvimento de pasteurizador para leite embalado em sacos de polietileno**. Ciência Tecnologia Alimentar, Campinas, 15 (1): 86-88, 1995.
- THE INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS (ICMSF). **MICROBIAL ECOLOGY OF FOODS - V1**. Factors Affecting Life and Death of Microorganisms, New York: Academic Press. 1980
- VALLE do J. L E.; TAKAHASHI, S.; KEATING, P. F.; MARTINS, J.F.P.; FIGUEIREDO, I. B.. **Comportamento do Leite Tipo “C”, Esterilizado pelo Processo**

- UHT, Acondicionado em Embalagem não Estéril e Conservado a 4°C.** Boletim Ital, 16(1): 81-89, 1979.
- VANDERBERG, M. G.. Pasteurization of milk design and operation.** Bulletin of International Dairy Federation, 200, 35-51, 1986.
- VANDERZANT, C.; SPLITTSTOESSER, D. F.. Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods.** 3ª ed. Washington, American Public Health Association, 1992, 1219 p.
- VEISSEYRE, R.. Lactologia tecnica: composicion, recogida, tratamiento y transformación de la leche.** Zaragoza, Acribia, 629p, 1988.
- VILLARES, J. B.. Qualidade do leite tipo C em São Paulo.** Boletim Indústria Animal, Nova Odessa, 17: 59-81, 1959.
- WALSTRA, P.; JENNES, R.. Quimica y Fisica Lactologica.** Zaragoza, Espana: Editorial Acribia, 1987, 423p.
- WESTHOFF, D. C.. Heating milk for microbial destruction: A Historical Outline and Update.** Journal of Food Protection, 41 (2): 122-130, 1978.
- WITTER, L. D.. Psychrophilic bacteria. A review.** Journal of Dairy Science, 44, 983-1015, 1961.
- ZALL, R. R., CHEN, J. H.; MURPHY, S. C.. Estimating the number of psychrotrofs in milk using the direct microscopic method.** Culture Dairy Products Journal, 17: 24-38, 1982.
- ZADOW, J. G.. Extending the Shelf life of dairy products.** Food Australian, 41 (9): 935-937, 1989.

Produção de Leite de Vida de Prateleira Estendida por modificação do binômio temperatura / tempo do processamento térmico e envase asséptico.

Resumo

O objetivo deste trabalho foi avaliar alternativas de produção de um leite de vida de prateleira estendida, leite ESL (Extended Shelf life) por modificação do binômio temperatura/tempo de processo e envase asséptico.

Foram realizados três processamentos em datas distintas. Em cada dia de processamento foram utilizados 150 litros de leite cru divididos em três alíquotas de 50 litros. Cada alíquota foi tratada termicamente com um binômio de temperatura/tempo. Os binômios utilizados em cada dia de processamento foram: 74°C/17,5 segundos, 82°C/10 segundos e 87°C/10 segundos. Após cada tratamento térmico o leite foi resfriado, envasado assépticamente e armazenado em câmara frigorífica a 5°C a 6°C, por até 27 dias.

Foram avaliadas as características físico-químicas, bioquímicas, microbiológicas e sensoriais ao longo do tempo de armazenamento.

Pelos resultados obtidos neste trabalho concluiu-se que para produzir um leite de vida de prateleira estendida os melhores binômios de temperatura/tempo foram 74°C/17,5 s e 82°C/10 s. Os leites obtidos permaneceram em condições de consumo por até 15 dias em média, mantidos sob refrigeração (5 a 6°C), enquanto que o binômio 87°C/10 s produziu um leite com apenas 6 dias em média em condições de consumo.

Os principais microrganismos deteriorantes para todos os tratamentos térmicos foram os microrganismos psicrotróficos. As baixas temperaturas de estocagem foram provavelmente o fator que levou a esse fato uma vez que esses microrganismos são os que se desenvolvem a temperaturas baixas de armazenamento nos quais os leites ficaram por até 27 dias.

Para os três dias de processamentos realizados com os três tratamentos térmicos, verificou-se que para o binômio 87°C/10 segundos os leites produzidos apresentaram maior crescimento de microrganismos mesófilos aeróbios e psicrotróficos. Observou-se ainda que

o leite processado a 87°C/10 segundos apresentou contagem de *Bacillus cereus*, de 5,5 X 10⁶ UFC/mL com nove dias de vida de prateleira e ao final de 13 dias apresentou uma contagem de 1,2 X 10⁷UFC/mL. Os demais tratamentos térmicos em todas as suas repetições não apresentaram crescimento deste microrganismo patogênico. Portanto o binômio 87°C/10 s não foi adequado para produzir um leite com uma maior vida de prateleira e seguro sob o ponto de vista de consumo

Concluiu-se que nem sempre tratamentos térmicos mais intensos com temperaturas mais elevadas irão produzir um leite com uma vida de prateleira maior.

Capítulo 4

**Produção de Leite de Vida de Prateleira Estendida
por modificação do binômio temperatura / tempo
do processamento térmico e envase asséptico.**

Este capítulo será submetido à publicação na Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos

Production of Extended Shelf Life Milk through modification of the thermal processing binomial temperature/time and aseptic packaging.

Summary

The objective of the paper was to evaluate production alternatives for Extended Shelf Life milk (ESL) through modification of time/temperature processing and aseptic packaging.

Three procedures were carried out in on separate dates. On each processing day, 150 liters of raw milk were divided into 3 parts of 50 liters each. Each part was thermically treated with temperature/time binomials of: 74°C/17,5 seconds, 82°C/10 seconds and 87°C/10 seconds. After each thermal treatment the milk was cooled, aseptically packaged and stored in cold chambers at 5°C to 6°C, up to 27 days.

Physical-chemical, biochemical, microbiological and sensorial characteristics were evaluated along the extended shelf life.

Through the results obtained on this paper, we concluded that to produce extended shelf life milk the best temperature/time binomials were 74°C/17,5 s and 82°C/10 s. The resulting milk remained good for consumption up to 15 days when kept refrigerated (5 to 6°C), while the binomial 87°C/10 s produced milk suitable for consumption of only 6 days.

The main deteriorating microorganisms for all thermal treatments were the psychotropic microorganisms. The low storage temperatures were probably the factor that led to this fact considering that these micro-organisms are the ones that developed the low storage temperatures at which the milk was kept up to 27 days.

For the three processes that were carried out with the thermal treatment, it was verified that for the 87°C/10 second binomial, the produced milk showed higher growth of psychotropic, aerobic mesophile microorganisms. It was further observed that ESL milk processed at 87°C/10 seconds showed *Bacillus cereus*, count of $5,5 \times 10^6$ UFC/mL with a nine day storage time and at the end of 13 days showed a $1,2 \times 10^7$ UFC/mL count. The other thermal treatments in all of their repetitions did not present growth of these

pathogenic microorganisms. Therefore the 87°C/10 s binomial was not enough to produce ESL milk with a higher shelf life and safe as to consumption.

It was concluded that more intense thermal treatments, with higher temperatures will not always produce ESL milk of better quality with greater shelf life.

Introdução

Com o advento de novas tecnologias, de mudanças nas indústrias como descentralização e de mudanças sociais como aglomeração e novos hábitos dos consumidores (menos frequência de visitas aos supermercados) têm-se dado ênfase em aumentar a vida de prateleira de certos produtos, principalmente leite e seus derivados [24, 34].

A vida útil de um produto (vida de prateleira / shelf life) é definida como o tempo entre o processamento e o ponto no qual o produto torna-se inaceitável para o consumo [24]. O termo vida de prateleira estendida ou leite ESL (extended shelf life), está sendo muito utilizado atualmente na Europa, Estados Unidos e Austrália. Não há uma definição geral para o termo ESL, significando basicamente a capacidade de aumentar ou prolongar a vida de prateleira de um produto tradicional, sem causar alguma degradação significativa na qualidade do produto final [7].

O termo vida de prateleira estendida tem sido usado para se referir a leites refrigerados com vida de prateleira de 2 a 3 semanas a 3 meses [8], que está sendo comercializado com o objetivo de expandir o mercado e aumentar a área de distribuição de leite fluido [10].

Muitos trabalhos [10, 23, 25, 34, 46, 69] têm sido realizados com o intuito de aumentar a vida útil do leite pasteurizado para produzir leite com vida de prateleira estendida, que seja aceitável para o consumidor, às vezes apenas com modificações de temperatura de pasteurização, outras vezes com a incorporação de novas tecnologias ao processo de beneficiamento.

O leite pasteurizado e/ou leite ESL podem ser considerados inaceitáveis quando ocorrem mudanças microbiológicas, bioquímicas, físicas ou sensoriais no produto final. Fatores que mais contribuem para a vida útil do produto final são: qualidade do leite cru, condições de tratamentos térmicos, tipos de embalagem, condições de estocagem (temperatura, luz, etc.), condições de envase (ultra clean, asséptico, etc) e condições de limpeza (sistemas CIP e SIP) [23, 29, 8, 10].

A maneira mais simples e efetiva de reduzir o número de microrganismos presentes no leite é através da aplicação de calor, a eficiência do tratamento é determinada pela

combinação de binômio temperatura/tempo. Muitas vezes uma qualidade inferior do leite cru é compensada pelo aumento de temperatura do tratamento térmico com o objetivo de aumentar a qualidade e vida de prateleira do leite pasteurizado [46]. No entanto nem sempre apenas um aumento de temperatura resulta no efeito esperado [24, 29, 60], que pode ser devido ao estímulo do crescimento de microrganismos esporulados e/ou a possível destruição dos compostos inibidores naturais do leite [29, 60, 69].

A legislação brasileira [14] permite dois tipos de pasteurização, a lenta com temperatura de 62° a 65°C por 30 minutos e a rápida de curta duração com temperatura de 72° a 75°C por 15 a 20 segundos. Os padrões de temperatura/tempo para pasteurização atualmente utilizados são diferentes para os diversos países. Os Estados Unidos apresentam uma variação grande de parâmetros como: 63°C/30 min.; 72°C/15 s; 89°C/1,0 s; 90°C/0,5 s; 94°C/0,1 s; 96°C/0,05 s; 100°C/0,01 s [64].

Cromie et al. [24, 26]]; Schmidt et al. [60] realizaram trabalhos de produção de leite ESL com variação de temperaturas entre 72°C - 88°C/15 s e embalagem asséptica; estocados a temperaturas de refrigeração de 3°C a 7°C. Para uma mesma temperatura de estocagem, o leite que apresentou uma vida de prateleira maior com as melhores características foi o que sofreu tratamento térmico a temperaturas inferiores a 80°C/15 s.

O aumento da temperatura de pasteurização por si só, não implica em leite ESL com maior vida útil [24, 25, 34, 60, 69]; outros fatores devem ser levados em consideração juntamente com o tratamento térmico como temperatura de estocagem do produto final, tipo de embalagem, recontaminação após pasteurização. Cromie [24], Fredsted et al. [29], Russell [58] e Vatne et al [69] sugerem a utilização de máquinas de enchimento “ultra-clean” ou assépticas para se produzir leite ESL.

Blake et al. [11] estudaram a qualidade microbiológica de leites aquecidos por injeção direta de vapor, a temperaturas entre 100°C-140°C/2-4 s e estocados a 7°C, com o objetivo de obter um leite ESL com até 60 dias de vida de prateleira. Concluíram que para temperaturas menores que 120°C/2-4 s. a vida de prateleira do leite ESL ficou limitada a 15 dias sob refrigeração, devido ao crescimento de microrganismos coliformes e aeróbios mesófilos. Para os leites com tratamento térmico com temperaturas maiores que 120°C, o leite ESL apresentou vida de prateleira de até 60 dias, sob refrigeração.

A deterioração mais comum do leite pasteurizado distribuído em boa cadeia de frio é devido a recontaminação depois do tratamento térmico, com bactérias Gram-negativas e psicotróficas. Esses microrganismos geralmente estão associados com más práticas de limpezas e desinfecção de equipamentos nos laticínios e crescem rapidamente em leites estocados a baixas temperaturas [29, 69] e mesmo contagens baixas de 10 UFC/mL podem causar deterioração prematura de leites ESL [46, 69].

Pesquisas realizadas por Johns [37] indicaram que para um leite pasteurizado tratado convencionalmente o crescimento de microrganismos psicotróficos aumenta de 1 UFC/mL a 10^8 UFC/mL em 10 dias a temperatura de 7,2°C. Para vários autores [37, 42, 45, 52, 56] níveis de microrganismos psicotróficos de 10^6 a 10^7 UFC/mL são responsáveis por modificações organolépticas em leites tratados termicamente.

Zalazar et al. citado por Almeida [3] estudando o desenvolvimento de microrganismos psicotróficos em leite estocados a 0°C, 4°C e 6°C verificaram o aparecimento de alterações e defeitos organolépticos em contagens superiores a 10^6 UFC/mL, nas temperaturas de 4°C e 6°C.

Com o objetivo de aumentar a qualidade do leite fluído, técnicas para reduzir a contagem de esporos em leite como bactofugação e microfiltração têm sido utilizadas. Tratamentos térmicos combinados a altas temperaturas como "pure-lac system" [29, 58] e "Tetra Therm ESL" system [41] também têm sido utilizados na Europa e nos Estados Unidos [24, 34, 46].

O sistema Tetra Therm ESL Tetra Pack, é uma combinação de processos de microfiltração com pasteurização e tratamento térmico mais intenso, que podem produzir uma redução da carga microbiana de 3 a 5 ciclos logarítmicos [41].

O sistema "Pure Lac" [29, 58] combina tratamento térmico a altas temperaturas (câmara de infusão ou injeção de vapor direto), com embalagem 'ultra clean'. Esse sistema pode reduzir o número de esporos aeróbicos psicotróficos no leite no mínimo 8 reduções log., com mínimas alterações químicas e resistir a temperaturas de estocagem e distribuição de 10°C por 10-45 dias.

Outro processo para produzir leite ESL com 28 dias de prateleira [58] é uma combinação de sistema de pasteurização a altas temperaturas (120-130°C/1 segundo) com resfriamento rápido, seguido de embalagem asséptica e estocado sob refrigeração (5°C).

Esse processo utiliza uma planta de leite UHT modificada, tanques assépticos refrigerados e a embalagem asséptica. Por ser um processo flexível pode ser aplicado a todos tipos de leite e creme e a descrição produto "fresco" é permitida [58].

Kiesner et al. [39] realizaram um trabalho para produzirem leite ESL; onde o leite foi tratado termicamente a 85°C-127°C/3-4 segundos por aquecimento direto: por injeção de vapor ou infusão seguido de embalagem asséptica em garrafas, estocados a temperatura de 5, 10 e 15°C no escuro. Concluíram que foi possível produzir um leite ESL com duas a três semanas a temperatura máxima de estocagem de 10°C, porém com um leve sabor a cozido no início da estocagem.

Segundo diversos autores muitos processos de tratamentos térmicos tem sido sugeridos na Comunidade Européia. Uma avaliação detalhada desses processos deve ser feita, a fim de garantir que o produto final leite ESL tenha uma vida de prateleira desejada com garantia de qualidade e produto seguro [11, 30, 39, 48, 69].

Materiais e métodos

Materiais

Produção do leite ESL

Matéria prima

Foi utilizado leite integral (3,3% a 3,4% de gordura) fornecido por uma Granja leiteira da região de Campinas/SP. O leite foi transportado em latões previamente sanitizados e armazenados em câmara frigorífica (5°C), até o momento do processamento.

Tratamentos térmicos

Foram realizados três repetições em datas distintas. Em cada dia de processamento, utilizou-se 150 litros de leite, dividido em três alíquotas iguais. Cada alíquota foi tratada termicamente com um binômio temperatura/tempo. Os binômios utilizados em cada dia de processamento foram: 74°C/17,5 segundos, 82°C/10 segundos e 87°C/10 segundos (segundo informação do fabricante).

Foi utilizada uma planta piloto constituída por um tanque de recepção de matéria prima, com capacidade de 80 litros, uma unidade de pasteurização modelo "MICRO PLAK" da marca SUMÁ Industria e Comercio Ltda, Campinas, constituída por um trocador de calor a placas, válvula de reversão e bomba centrífuga, tubulações de ligação entre equipamentos e tanque asséptico, instalado dentro da sala de envase.

O leite tratado termicamente foi enviado através de tubulações em circuito fechado a um tanque de estocagem asséptico na sala limpa de envase [54], a seguir foi envasado em garrafas plásticas previamente sanificadas em sistemas assépticos [27].

Após envase os leites foram identificados e armazenados em câmara frigorífica com temperatura de 5 a 6°C por um período de até 27 dias de armazenamento.

Ao longo do tempo de armazenamento foram realizadas análises para avaliação da vida útil do leite ESL.

Material de embalagem

Garrafas PEAD (polietileno de alta densidade) na cor branca, sem barreira de luz ou barreira de oxigênio, frascos quadrados de 500 mL, fornecedor Plastirrico Embalagens SA, São Paulo/SP.

Tampas de PEAD com selo único para selagem por indução na cor azul, fabricante Wolfer Indústria de Embalagens SA–Jundiaí/SP.

Esterilização das garrafas e tampas

As garrafas e lacres de vedação foram sanificados quimicamente com com uma mistura de peróxido de hidrogênio e ácido peracético 0,05 % , aspergida no interior das garrafas por 4 segundos e enxaguadas por aspersão de água filtrada em filtro biológico durante 7 segundos [1], tempo suficiente para assegurar a remoção de resíduos da solução nas embalagens, evitando possíveis alterações de sabor no produto final.

Foi utilizado o esterilizador de garrafas com duas seções: esterilização e enxágue das embalagens por aspersão; desenvolvido por Faria [28], no departamento de Tecnologia de Alimentos na Faculdade de Engenharia de Alimentos da Unicamp.

Após a sanificação as garrafas foram acondicionadas em sacos plásticos, fechados e armazenados na ante-sala do sistema de acondicionamento asséptico [54].

Envase Asséptico

O envase do leite foi realizado em um sistema de acondicionamento asséptico de alimentos líquidos em garrafas plásticas na Faculdade de Engenharia de Alimentos da Unicamp [54] composto por sala de envase (sala limpa ISO classe 7), ante-sala e vestiário (ISO classe 8). Foi realizado por dois operadores paramentados na sala limpa. Após o envase as embalagens foram termo seladas por indução, dentro da sala limpa e rotuladas para identificação do lote, data de fabricação e processo utilizado.

Critério utilizado para definir a vida útil do leite

Os parâmetros utilizados para avaliação do final da vida de prateleira do leite pasteurizado ESL foram os padrões máximos especificados pela legislação para o leite tipo B recém processado como contagem de microrganismos aeróbios mesófilos de $8,00 \times 10^4$

UFC/mL [16] e/ou contagens de microrganismos psicrotóxicos acima de 10^6 UFC/mL [37, 45, 52, 56].

Parâmetros físico-químicos (acidez, pH, etc) e resultados de análises sensoriais (bom, regular, insatisfatório, etc) também foram considerados como fatores de finalização da vida de prateleira. A partir do momento em que algum desses fatores se encontrou fora dos padrões especificados na legislação brasileira [16] e/ou literatura internacional para análise sensorial [47] foi considerado a finalização da vida útil do leite pasteurizado.

Métodos de Análises

Análises físico-químicas e bioquímicas

- Análise de pH, determinação em pHmetro digital, com correção automática de temperatura marca Acumet.
- Acidez titulável segundo metodologia 33.2.06, AOAC [49].
- Densidade segundo metodologia 33.2.03, AOAC [49].
- Gordura e Crioscopia - segundo Métodos Analíticos Oficiais Físico-Químicos, para Controle de Leite e Produtos Lácteos [15].
- Presença de Antibióticos em leite cru, metodologia 12.4 do “Standard Methods for Examination of Dairy Products” [44].
- Extrato seco total e desengordurado leitura direta por disco de Ackermann e diferença de gordura segundo Métodos Analíticos Oficiais Físico-Químicos, para Controle de Leite e Produtos Lácteos [15].
- Fosfatase residual pelo método rápido de Scharer do “Standard Methods for the Examination of Dairy Products” [44].
- Peroxidase segundo Métodos Analíticos Oficiais Físico-Químicos, para Controle de Leite e Produtos Lácteos [15].

Análises microbiológicas

- Contagem total de microrganismos aeróbios mesófilos, determinação do MNP de coliformes totais e fecais, contagem total de microrganismos psicrotróficos, contagem total de esporos mesófilos e psicrotróficos, contagem total de microrganismos termodúricos mesófilos e psicrotróficos, segundo metodologias do “Standard Methods for the Examination of Dairy Products” [44].
- Detecção de *Salmonella*, segundo metodologia do "Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods" [68].
- Contagem presuntiva de *Bacillus cereus*, segundo metodologia FDA. Bacteriological Analytical Manual [57].

Análise sensorial

A avaliação sensorial foi realizada somente para os processos realizados na terceira repetição, com a metodologia de “Score Card for Milk”, da American Dairy Science Association (ADSA) do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos [2, 47, 61]. Foi realizada com um painel com 4 provadores treinados para avaliar atributos de sabor, odor através de uma ficha de pontuação. Após degustação, os provadores marcaram na ficha qual o sabor e/ou odor identificado e qual sua intensidade. Conforme a intensidade foram descontados pontos no total da ficha que é de 45 pontos. Para leite normal a pontuação é de 31 a 45, leite com pontuação inferior a 31 é considerado leite anormal ou impróprio para consumo. A classificação do leite de acordo com a avaliação sensorial com Score Card of Milk pode ser vista na Tabela 1.

Tabela 1 – Classificação do leite de acordo com a avaliação sensorial com Score Card for Milk

| Classe do leite quanto ao sabor | Faixa de pontuação | Descrição específica do sabor |
|---|--------------------|---|
| excelente | 45 a 40 | Inalterado |
| bom | 39,5 a 38,0 | Adstringente, falta de frescor e salgado: Suave Cozido, alimento e aguado: de Suave a definido |
| satisfatório ou regular | 37,5 a 36,0 | Vaca e oxidado: Suave Adstringente e salgado: definidos Falta de frescor: Definido a pronunciado Cozido e aguado: pronunciado |
| pobre | 35,5 a 31,0 | Muito ácido, Ranço e Sujo: de Suave a definido Curral, amargo, estranho, Cebola/Alho, maltado e metálico: Suave, definido ou pronunciado |
| leite anormal ou impróprio para consumo | menor que 31,0 | Ácido, ranço, sujo: Pronunciado |

Leite normal: 31 a 40 pontos

Fonte: [47].

Resultados e discussão

Apresenta-se na tabela 2 os dados de qualidade da matéria-prima (leite cru) utilizada para a realização dos três processamentos. As contagens microbiológicas de mesófilos aeróbios situaram-se na faixa de 10^3 UFC/mL ($8,9 \times 10^3$ UFC/mL; $3,30 \times 10^3$ UFC/mL e $4,6 \times 10^3$ UFC/mL) para os três leites cru utilizados, caracterizando uma matéria prima de boa qualidade microbiológica, com valores bem abaixo dos padrões máximos exigidos por legislação [16] para leite cru tipo B de 5×10^5 UFC/mL; já as contagens de microrganismos psicrotróficos apresentaram-se elevadas com valores de 10^3 UFC/mL ($3,90 \times 10^3$ UFC/mL; $1,80 \times 10^3$ UFC/mL e $1,20 \times 10^3$ UFC/mL) respectivamente. Considera-se como sendo normal em leite cru uma flora microbiana psicrotrófica de 10% da flora mesófila aeróbica [11, 22], porém, esses dados não afetaram a produção dos leites ESL, uma vez que a maioria desses microrganismos normalmente são sensíveis a tratamentos térmicos como a pasteurização [4, 22].

Para as análises de *Bacillus cereus*, esporos mesófilos e psicrotróficos, microrganismos termodúricos mesófilos e psicrotróficos os três leites crus apresentaram contagens menores que 10^2 UFC/mL. No leite utilizado no terceiro processamento a contagem de termodúricos mesófilos apresentou uma contagem um pouco mais elevada de 1×10^2 UFC/mL, enquanto que para os leites utilizados nos outros processamentos as contagens se apresentaram com contagens de $3,0 \times 10^1$ e $6,0 \times 10^1$ UFC/mL.

Análises físico-químicas e bioquímicas como: pH, acidez, gordura, fosfatase, peroxidase, crioscopia e resíduos de antibióticos foram realizadas. Pode-se verificar pelos dados apresentados na Tabela 1, que todos os parâmetros analisados apresentaram-se dentro dos padrões legais. Os resultados das análises para resíduos de antibióticos apresentaram-se negativos para as três matérias-primas, fator muito importante para os processos de fabricação de um leite ESL, pois qualquer resíduo de antibióticos poderia alterar os resultados finais ou fornecer resultados não confiáveis.

Pode-se concluir pela Tabela 2 que as matérias-primas (leite cru) utilizadas foram de boa qualidade apresentando baixas contagens microbiológicas, dentro dos padrões físico-químicos e bioquímicos esperados e aceitos como leite de qualidade [16].

Tabela 2 – Características das matérias-primas utilizadas nas três repetições.

| Determinações | 1º repetição | 2º repetição | 3º repetição |
|---|--------------------|--------------------|--------------------|
| pH | 6,72 | 6,70 | 6,72 |
| Acidez (% ac. láctico) | 0,15 | 0,15 | 0,15 |
| Densidade | 1,0318 | 1,0319 | 1,0318 |
| Gordura (%) | 3,30 | 3,40 | 3,30 |
| Extrato seco total (%) | 12,30 | 12,32 | 12,30 |
| Extrato seco deseng. (%) | 8,80 | 8,92 | 9,00 |
| Crioscopia (°Hortvet) | -0,545 | -0,546 | -0,546 |
| Antibióticos | Negativo | Negativo | Negativo |
| Fosfatase | Positivo | Positivo | Positivo |
| Peroxidase | Positivo | Positivo | Positivo |
| Contagem mesófilos aeróbios (UFC/mL) | $8,90 \times 10^3$ | $3,30 \times 10^3$ | $4,60 \times 10^3$ |
| Contagem psicotróficos (UFC/mL) | $3,90 \times 10^3$ | $1,80 \times 10^3$ | $1,20 \times 10^3$ |
| <i>Bacillus cereus</i> (UFC/mL) | $8,00 \times 10^1$ | $2,00 \times 10^1$ | $1,00 \times 10^1$ |
| Esporos mesófilos (UFC/mL) | $4,00 \times 10^1$ | $6,00 \times 10^1$ | $2,50 \times 10^1$ |
| Esporos psicrot. (UFC/mL) | < 10 | < 10 | < 10 |
| Contagem de Termodúricos mesófilos (UFC/mL) | $3,00 \times 10^1$ | $1,00 \times 10^2$ | $6,00 \times 10^1$ |
| Contagem de Termodúricos psicotróficos (UFC/mL) | < 10 | < 10 | < 10 |

As Tabelas 3, 4 e 5 mostram os resultados das análises físico-químicas, bioquímicas e microbiológicas para os leites de vida de prateleira estendida/ESL para cada dia de processamento e nelas observa-se que todos os parâmetros analisados estavam dentro dos padrões. Para as contagens de microrganismos mesófilos aeróbicos as contagens foram na ordem 10^1 a 10^2 UFC/mL para todos os tratamentos térmicos e suas repetições. Para as contagens de microrganismos psicotróficos destacamos que para a 2º repetição ocorreu o aparecimento desses microrganismos no primeiro dia de análises e em todas as

temperaturas utilizadas; para as demais análises microbiológicas todos os resultados se situaram dentro dos padrões esperados.

As análises de peroxidase e fosfatase, indicaram que todos os tratamentos térmicos foram realizados adequadamente. O binômio 74°C/17,5 s apresentou peroxidase positiva e fosfatase negativa e os binômios 82°C/10 s e 87°C/10 s apresentaram peroxidase e fosfatase negativas.

Tabela 3 - Resultado das análises físico-químicas, bioquímicas e microbiológicas dos leites pasteurizados com o tratamento térmico 74°C/17,5 s (*)

| Determinações | 1º repetição | 2º repetição | 3º repetição |
|--------------------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|
| pH | 6,78 | 6,79 | 6,78 |
| Acidez (% ac. láctico) | 0,155 | 0,15 | 0,155 |
| Fosfatase | Negativo | Negativo | Negativo |
| Peroxidase | Positivo | Positivo | Positivo |
| Contagem mesófilos aeróbios (UFC/mL) | 1,20 X 10 ² | 1,10 X 10 ² | 8,00 X 10 ¹ |
| Coliformes totais (NMP/mL) | < 0,03 | < 0,03 | < 0,03 |
| Coliformes fecais (NMP/mL) | < 0,03 | < 0,03 | < 0,03 |
| Contagem psicotróficos (UFC/mL) | < 10 | 1,50 X 10 ¹ | < 10 |
| Salmonella (em 25 mL) | ausente | ausente | ausente |
| <i>Bacillus cereus</i> (UFC/mL) | < 10 | < 10 | < 10 |

(*) – Determinações realizadas nos dias dos processamentos

Tabela 4 - Resultado das análises físico-químicas, bioquímicas e microbiológicas dos leites pasteurizados com o tratamento térmico 82°C/10 s (*)

| Determinações | 1° repetição | 2° repetição | 3° repetição |
|---|------------------------|------------------------|------------------------|
| pH | 6,78 | 6,78 | 6,78 |
| Acidez (% ac. láctico) | 0,15 | 0,15 | 0,155 |
| Fosfatase | Negativo | Negativo | Negativo |
| Peroxidase | Negativo | Negativo | Negativo |
| Contagem mesófilos aeróbios (UFC/mL) | 1,00 X 10 ² | 1,00 X 10 ² | 1,00 X 10 ² |
| Coliformes totais (NMP/mL) | < 0,03 | < 0,03 | < 0,03 |
| Coliformes fecais (NMP/mL) | < 0,03 | < 0,03 | < 0,03 |
| Contagem psicrotróficos (UFC/mL) | < 10 | 6,50 X 10 ¹ | < 10 |
| Salmonella (em 25 mL) | ausente | ausente | ausente |
| <i>Bacillus cereus</i> (UFC/mL) | < 10 | < 10 | < 10 |

(*) – Determinações realizadas nos dias dos processamentos

Tabela 5 - Resultado de análises físico-químicas, bioquímicas e microbiológicas dos leites pasteurizados com o tratamento térmico 87°C/10 s (*).

| Determinações | 1° repetição | 2° repetição | 3° repetição |
|---|------------------------|------------------------|------------------------|
| pH | 6,78 | 6,79 | 6,78 |
| Acidez (% ac. láctico) | 0,15 | 0,15 | 0,155 |
| Fosfatase | Negativo | Negativo | Negativo |
| Peroxidase | Negativo | Negativo | Negativo |
| Contagem mesófilos aeróbios (UFC/mL) | 1,20 X 10 ² | 1,10 X 10 ² | 8,00 X 10 ¹ |
| Coliformes totais (NMP/mL) | < 0,03 | < 0,03 | < 0,03 |
| Coliformes fecais (NMP/mL) | < 0,03 | < 0,03 | < 0,03 |
| Contagem psicrotróficos (UFC/mL) | < 10 | 3,00 X 10 ¹ | < 10 |
| Salmonella (em 25 mL) | ausente | ausente | ausente |
| <i>Bacillus cereus</i> (UFC/mL) | < 10 | < 10 | < 10 |

(*) – Determinações realizadas nos dias dos processamentos

A Figura 1 apresenta as contagens de microrganismos mesófilos aeróbios para o tratamento térmico de 74°C/17,5 s nas suas três repetições. Observa-se que as lag-fases para as três repetições foram de quatro dias de vida de prateleira; para a segunda repetição ocorreu um crescimento expressivo em sua contagem de microrganismos mesófilos aeróbios enquanto que para as repetições 1 e 3 as contagens se mantiveram com valores abaixo de 10⁴ UFC/mL. Com 15 dias de vida de prateleira os leites ESL da primeira e terceira repetição, atingiram valores de 5,6 X 10² UFC/mL e 1,8 X 10³ UFC/mL

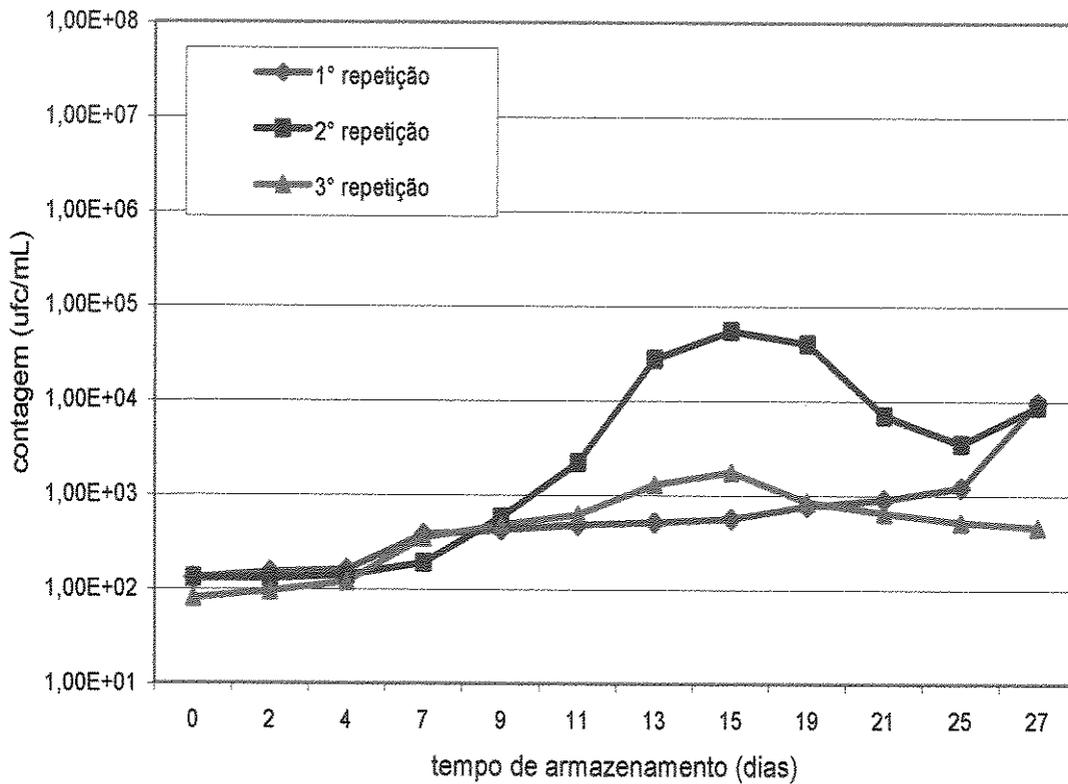


Figura 1 - Contagem de microrganismos mesófilos aeróbios para o tratamento térmico de 74°C/15 s na três repetições

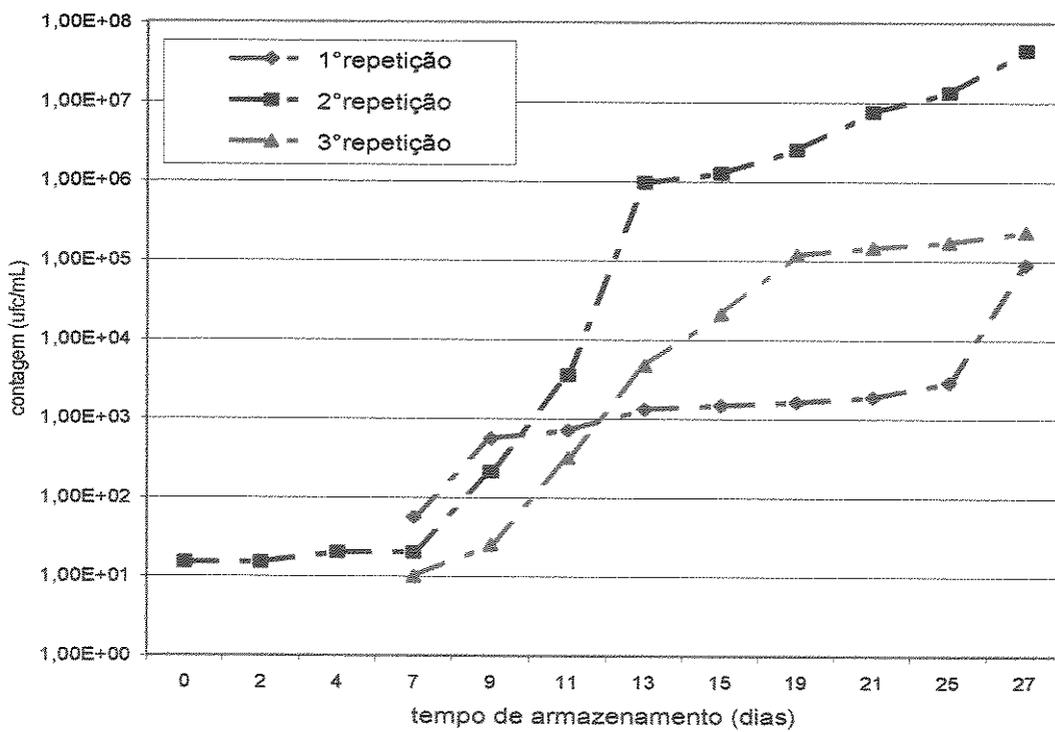


Figura 2 - Contagem de microrganismos psicrótróficos para o tratamento térmico de 74°C/15 s nas três repetições

respectivamente, enquanto que para a segunda repetição ocorreu um grande crescimento de microrganismos atingindo valores de 5×10^4 UFC/mL (Fig. 1).

A primeira repetição foi a que apresentou menores valores para as contagens de mesófilos aeróbios sendo que com 25 dias de vida de prateleira as contagens padrão se apresentaram na ordem de 10^3 UFC/mL (Fig. 1), somente ocorrendo um pico de crescimento com 27 dias de vida de prateleira. A segunda repetição apresentou um desempenho inferior, provavelmente devido à presença de uma maior quantidade de microrganismos termodúricos na matéria-prima.

A Figura 2 apresenta as contagens de microrganismos psicrotóxicos para o tratamento térmico de $74^\circ\text{C}/17,5$ s. Observa-se que para a segunda repetição ocorreu um crescimento mais intenso desses microrganismos do que o ocorrido nos processos 1 e 3, a partir de 9 dias de vida de prateleira, enquanto para as demais repetições o crescimento foi menor com contagens acima de 10^4 Ufc/mL, apenas a partir de 19 dias de vida de prateleira.

A Figura 3 apresenta as contagens de microrganismos mesófilos aeróbios para o tratamento térmico de $82^\circ\text{C}/10$ segundos com três repetições. Observa-se que as lag-fases foram de quatro dias para as 3 repetições e que ocorreu um maior desenvolvimento de mesófilos aeróbios na segunda repetição, como aconteceu para o tratamento térmico de $74^\circ\text{C}/17,5$ segundos. Para a terceira repetição o leite ESL atingiu contagens de mesófilos aeróbios de $8,9 \times 10^3$ UFC/mL com 15 dias de vida de prateleira. Observa-se ainda que a primeira repetição foi aquela em que as contagens se situaram abaixo de 10^3 UFC/mL com até 21 dias de vida de prateleira.

A Figura 4 apresenta as contagens de microrganismos psicrotóxicos para o tratamento térmico de $82^\circ\text{C}/10$. A primeira repetição apresentou um pequeno crescimento de microrganismos psicrotóxicos entre 7 a 9 dias, permanecendo com uma faixa de crescimento de 10^3 UFC/mL entre 9 a 25 dias e após esse período começou um crescimento mais intenso (Figura 4).

A segunda e terceira repetições apresentaram um crescimento de microrganismos psicrotóxicos a partir do primeiro dia (segunda repetição) e 4 dias (terceira repetição), ultrapassando a contagem de 10^6 UFC/mL a partir de 13 dias de armazenamento (Fig. 4).

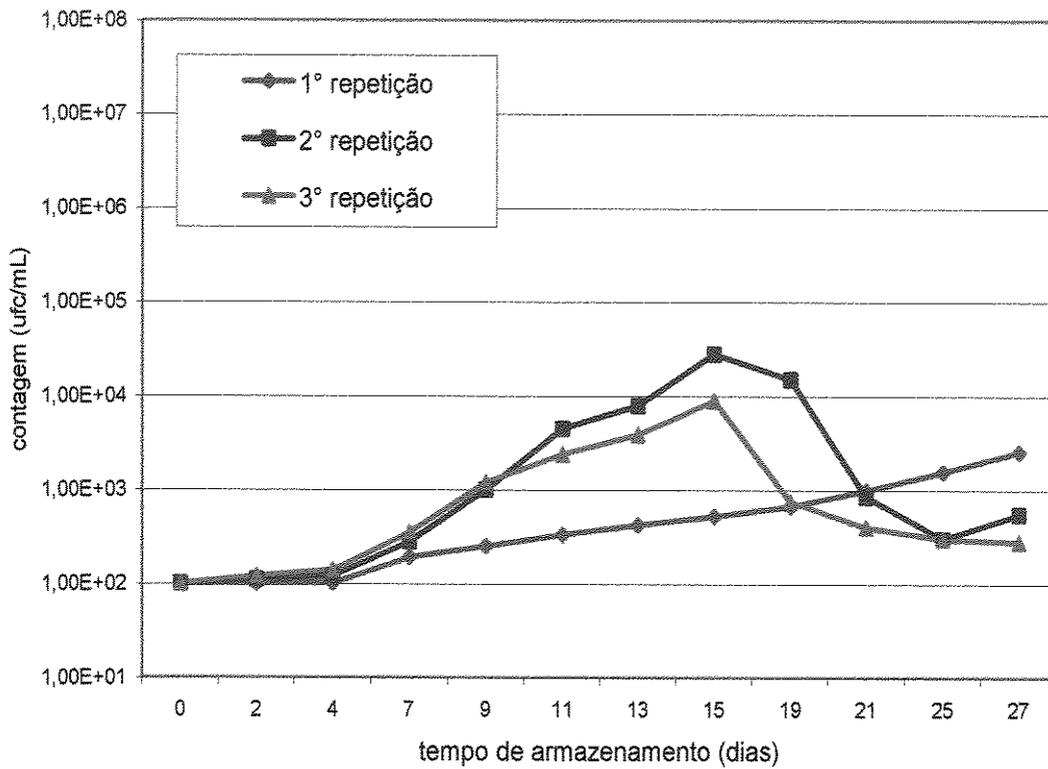


Figura 3 - Contagem de microrganismos mesófilos aeróbios para o tratamento térmico de 82°C/10 s nas três repetições

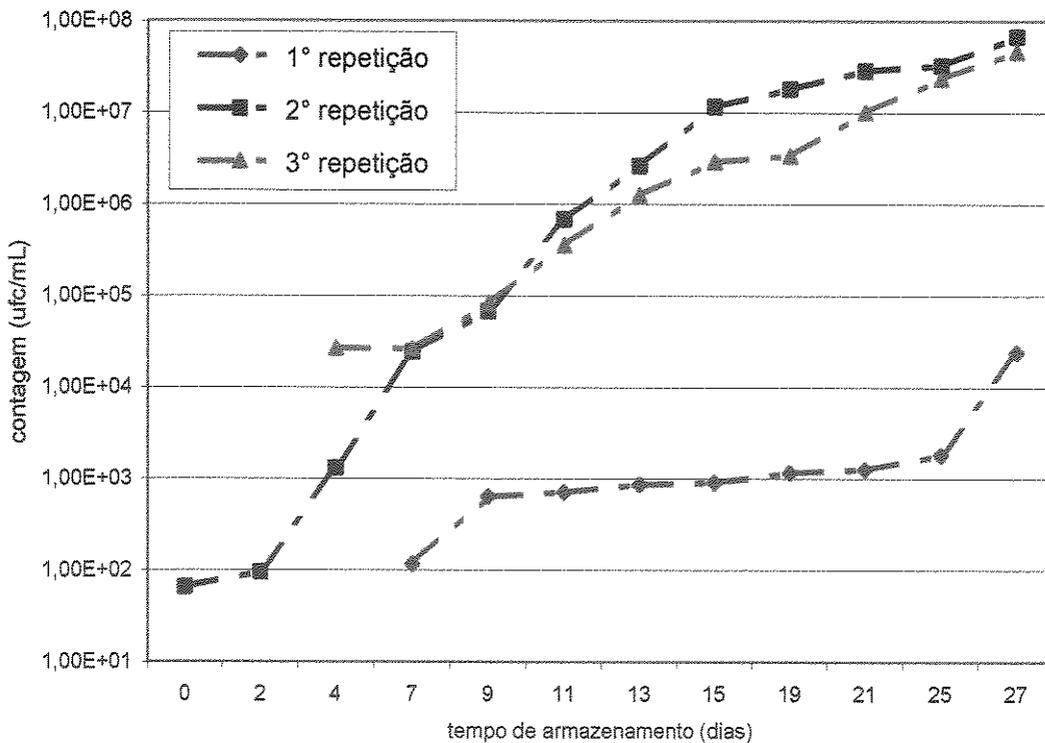


Figura 4 - Contagem de microrganismos psicrótrópicos para o tratamento térmico de 82°C/10 s nas três repetições

A Figura 5 apresenta as contagens de mesófilos aeróbios para o tratamento térmico de 87°C/10 segundos nas três repetições. Observa-se que na primeira repetição ocorreu um crescimento expressivo da contagem de mesófilos aeróbios a partir de 2 dias de armazenamento e com nove dias o leite apresentou contagens de $6,5 \times 10^5$ UFC/mL. Para as outras duas repetições o maior crescimento microbiano ocorreu com quinze dias de vida de prateleira com contagens de $3,39 \times 10^5$ UFC/mL para a segunda repetição e $2,7 \times 10^3$ UFC/mL para a terceira repetição.

A Figura 6 apresenta as contagens de microrganismos psicrotróficos para o tratamento térmico de 87°C/10 segundos. Na primeira repetição ocorreu um crescimento de microrganismos psicrotróficos a partir de dois dias de vida de prateleira, com nove dias apresentou contagens de $3,88 \times 10^5$ UFC/mL e ao final de 13 dias contagens de $5,95 \times 10^5$ UFC/mL. Para as demais repetições o maior crescimento de microrganismos psicrotróficos ocorreu a partir de 15 dias de vida de prateleira com contagens de 10^5 UFC/mL.

Ao comparar-se as três repetições realizadas observa-se que ocorreu um maior crescimento tanto de microrganismos mesófilos aeróbios como psicrotróficos na segunda repetição para os três tratamentos térmicos. Pela Tabela 2 verifica-se que a matéria prima nessa data, apresentou uma maior contagem de esporos mesófilos e microrganismos termofílicos mesófilos. Esses microrganismos podem ter sido os responsáveis pelo maior desenvolvimento microbiológico pós-tratamento térmico, ou ainda pode ter ocorrido uma contaminação pós-tratamento térmico que se desenvolveu ao longo do armazenamento.

Ao comparar-se os tratamentos térmicos realizados (74°C/17,5 s, 82°C/10 s, e 87°C/10 s) verificou-se que para o binômio 87°C/10 segundos, os leites produzidos apresentaram um maior crescimento de microrganismos mesófilos aeróbios e microrganismos psicrotróficos.

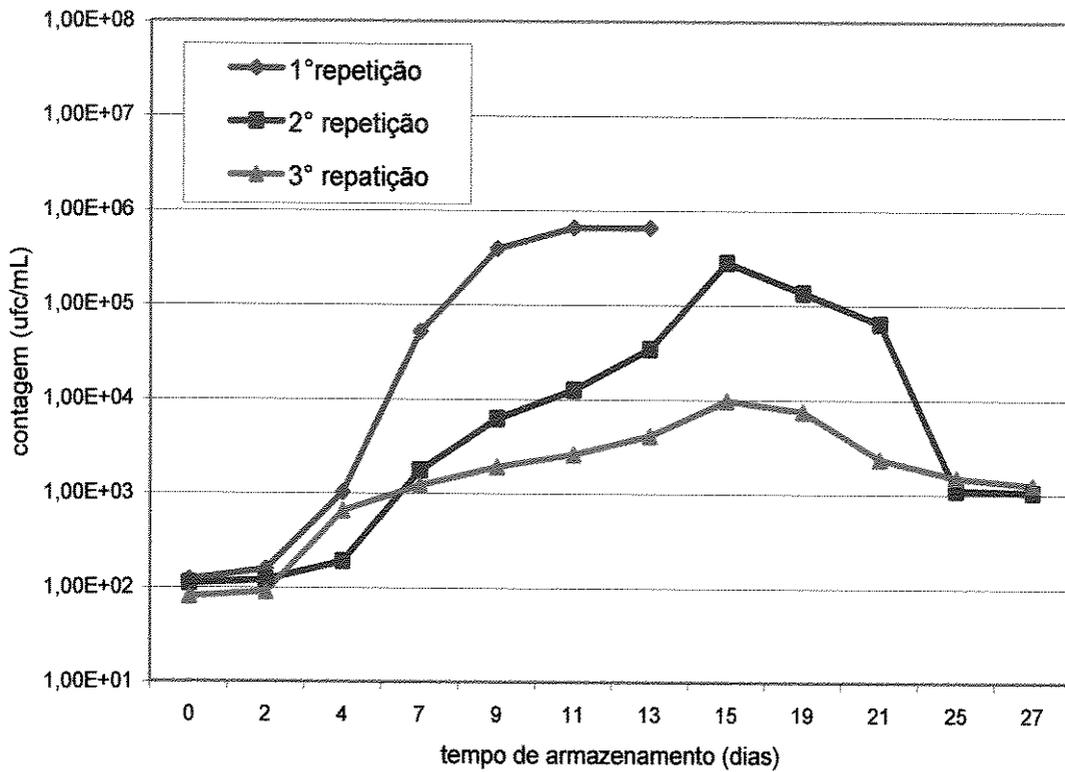


Figura 5 - Contagem de microrganismos mesófilos aeróbios para o tratamento térmico de 87°C/10 s nas três 3 repetições

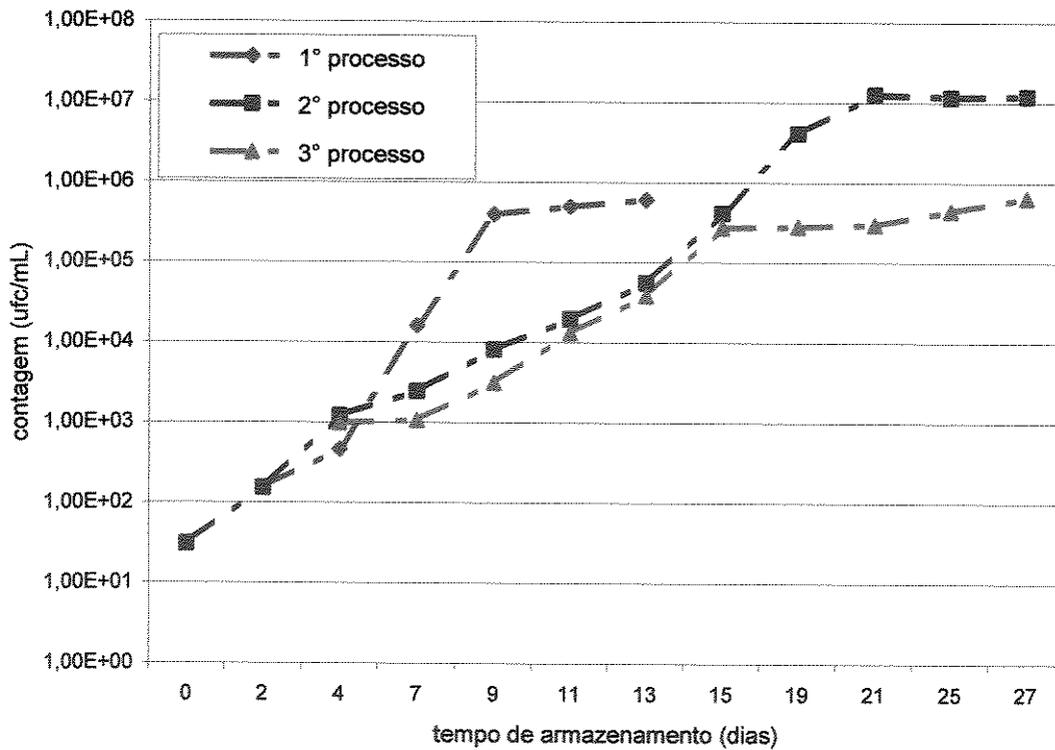


Figura 6 - Contagem de microrganismos psicrotróficos para o tratamento térmico de 87°C/10 s nas três 3 repetições

Observa-se ainda que o leite ESL processado a 87°C/10 segundos, na primeira repetição, foi o único que apresentou um crescimento de *Bacillus cereus*, com nove dias de vida de prateleira, com contagem de $5,5 \times 10^6$ UFC/mL e ao final de 13 dias apresentou contagem de $1,2 \times 10^7$ UFC/mL (Tabela 6). Os demais tratamentos térmicos, em todas as suas repetições, não apresentaram crescimento de *Bacillus cereus*. Esse fato pode ser explicado talvez pela carga inicial de *Bacillus cereus* ser maior na matéria prima do segundo processamento e com temperaturas mais elevadas (87°C) ocorreu uma ativação de esporos que após alguns dias de adaptação as novas condições, se desenvolveu. Nos demais processamentos a contagem inicial de *Bacillus cereus* foi menor nas matérias primas utilizadas, ou as condições de processamento não foram suficientes para a ativação de esporos.

Tabela 6 – Contagens de *Bacillus cereus* para os três processamentos nas repetições 1, 2 e 3.

| | | <i>Bacillus cereus</i> (UFC/mL) | | | | | | | | |
|-------------------|------------|-------------------------------------|------|------------|------------------------------------|------|--------------------|-----------------------------------|------|------|
| | | Tratamento térmico 74°C/17,5secs | | | Tratamento térmico 82°C/10 segs | | | Tratamento térmico 87°C/10secs | | |
| Dia de análise | repetições | | | repetições | | | repetições | | | |
| | 1° | 2 | 3° | 1° | 2 | 3° | 1° | 2 | 3° | |
| zero | < 10 | < 10 | < 10 | < 10 | < 10 | < 10 | < 10 | < 10 | < 10 | < 10 |
| 9 | < 10 | < 10 | < 10 | < 10 | < 10 | < 10 | $5,50 \times 10^6$ | < 10 | < 10 | < 10 |
| 13 | < 10 | < 10 | < 10 | < 10 | < 10 | < 10 | $1,20 \times 10^7$ | < 10 | < 10 | < 10 |
| 18 | < 10 | < 10 | < 10 | < 10 | < 10 | < 10 | NR* | < 10 | < 10 | < 10 |
| 27 | < 10 | < 10 | < 10 | < 10 | < 10 | < 10 | NR* | < 10 | < 10 | < 10 |

*NR = não realizada

Para os leites com tratamentos térmicos de 74°C/17,5 segundos e 82°C/10 segundos a vida de prateleira média foi 15 dias. Para o leite com o tratamento térmico de 87°C/10 s a vida de prateleira média foi de apenas sete dias, considerando os padrões microbiológicos, como também alterações organolépticas durante o armazenamento (observações pessoais).

Foi observado nos três tratamentos térmicos realizados principalmente nas segunda e terceira repetições, que as populações de microrganismos mesófilos aeróbios a partir do 15º dia de armazenamento sofreram uma redução significativa em sua contagem. A partir desse mesmo período observa-se que as populações de microrganismos psicrotróficos apresentaram um crescimento também expressivo paralelo ao decaimento da população de microrganismos mesófilos aeróbios. Esse fato parece indicar que após 15 dias de armazenamento algumas cepas de microrganismos mesófilos presentes nos leites refrigerados se adaptaram a melhores condições de crescimento a temperaturas mais baixas, respondendo mais efetivamente a contagens de microrganismos psicrotróficos do que a contagem de microrganismos mesófilos. Portanto pode-se supor que uma parcela de microrganismos mesófilos aeróbios adaptaram-se as condições de armazenamento e cresceram melhor a temperaturas baixas. Essa teoria já foi confirmada em outros trabalhos de pesquisa realizada por vários autores [9, 36, 43 e 73].

Nas tabelas 7, 8 e 9 verifica-se que em nenhum processamento térmico ocorreu o crescimento de coliformes totais e fecais logo após aos tratamentos térmicos, nem ao longo do período de armazenamento. Esse fato nos indica que os processamentos foram realizados dentro de condições higiênico-sanitárias boas, que os equipamentos, embalagens e utensílios utilizados foram adequadamente sanitizados e não ocorreu nenhuma contaminação por esses microrganismos ao longo do processo e após os tratamentos térmicos.

Os leites ESL produzidos na terceira repetição com os tratamentos térmicos de 87°C/10 s, 82°C/10 s e 74°C/17,5 s, foram avaliados sensorialmente por 4 julgadores treinados que fizeram o registro e atribuíram-lhes suas notas de classificação (Tabela 10).

Para o tratamento térmico de 87°C/10 s a maioria dos julgadores (100%) classificou o leite ESL como “bom” até o 13º dia de armazenamento, dando-lhe uma nota 38,0 de pontuação. O leite ESL produzido pelo tratamento térmico de 82°C/10 s, foi classificado por 50% dos julgadores como “bom” e 50% como “satisfatório” até o 13º dia de armazenamento, ocorrendo uma variação de notas de avaliação de 36,0 a 39,0. O leite ESL produzido pelo tratamento térmico de 74°C/17,5 s a maioria dos julgadores (100%) classificou o leite como “pobre” com 13 dias de armazenamento, ocorrendo uma variação

de notas de 31,0 a 34,0. Esse leite apresentou uma classificação “boa” ou “satisfatória” com 11 dias de armazenamento, com notas de 36,0 a 38,0 (Tabela 10).

Tabela 7 - Número mais provável de coliformes totais e fecais ao longo do armazenamento para o tratamento térmico 74°C/17,5 s

| Dia de análise | Coliformes totais e fecais (NMP/mL) | | | | | |
|----------------|-------------------------------------|-------|--------------|-------|--------------|-------|
| | 1º repetição | | 2º repetição | | 3º repetição | |
| zero | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 |
| 2 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 |
| 5 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 |
| 7 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 |
| 9 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 |
| 11 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 |
| 13 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 |
| 15 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 |
| 18 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 |
| 21 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 |
| 25 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 |
| 27 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 |

Tabela 8 - Número mais provável de coliformes totais e fecais ao longo do armazenamento para o tratamento térmico 82°C/10 s

| Dia de análise | Coliformes totais e fecais (NMP/mL) | | | | | |
|----------------|-------------------------------------|-------|--------------|-------|--------------|-------|
| | 1° repetição | | 2° repetição | | 3° repetição | |
| zero | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 |
| 2 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 |
| 5 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 |
| 7 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 |
| 9 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 |
| 11 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 |
| 13 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 |
| 15 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 |
| 18 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 |
| 21 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 |
| 25 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 |
| 27 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 |

Tabela 9 – Número mais provável de coliformes totais e fecais ao longo do armazenamento para o Tratamento térmico 87°C/10 s

| Dia de análise | Coliformes totais e fecais (NMP/mL) | | | | | |
|----------------|-------------------------------------|-------|--------------|-------|--------------|-------|
| | 1° repetição | | 2° repetição | | 3° repetição | |
| zero | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 |
| 2 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 |
| 5 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 |
| 7 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 |
| 9 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 |
| 11 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 |
| 13 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 |
| 15 | NR* | NR* | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 |
| 18 | NR* | NR* | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 |
| 21 | NR* | NR* | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 |
| 25 | NR* | NR* | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 |
| 27 | NR* | NR* | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 |

*NR = não realizada

O binômio 87°C/10 s produziu um leite com apenas 7 dias de vida de prateleira em boas condições de consumo, essa temperatura e tempo não foram suficientes para produzir um leite ESL com uma maior vida de prateleira.

Pode-se concluir que nem sempre tratamentos térmicos mais intensos com temperaturas mais elevadas irão produzir um leite de vida de prateleira estendida de melhor qualidade com uma vida útil maior; esses dados são confirmados por vários trabalhos realizados [11, 24, 46].

Tabela 10 – Nota total e classificação sensorial do leite ESL produzido na terceira repetição pelos 4 provadores

| vida útil (dias) | Leite tratado termicamente a 87°C/10 s | | | |
|--|--|---------------|---------------|---------------|
| | Provador 1 | Provador 2 | Provador 3 | Provador 4 |
| 1 | 39,0/ bom | 38,0/ bom | 36,0/ Satisf. | 39,0/ bom |
| 3 | 39,5/ bom | 37,0/ Satisf. | 37,0/ Satisf. | 38,5/ bom |
| 5 | 39,0/ bom | 39,0/ bom | 38,0/ bom | 38,5/ bom |
| 7 | 39,5/ bom | 39,0/ bom | 39,5/ bom | 38,5/ bom |
| 9 | 38,5/ bom | 38,5/ bom | 38,5/ bom | 38,5/ bom |
| 11 | 38,5/ bom | 39,0/ bom | 38,5/ bom | 39,0/ bom |
| 13 | 38,0/ bom | 38,0/ bom | 38,0/ bom | 38,0/ bom |
| Leite tratado termicamente a 82°C/10 s | | | | |
| | Provador 1 | Provador 2 | Provador 3 | Provador 4 |
| 1 | 39,0/ bom | 38,0/ bom | 36,0/ Satisf. | 39,5/ bom |
| 3 | 39,5/ bom | 34,0/ pobre | 36,0/ Satisf. | 39,5/ bom |
| 5 | 39,5/ bom | 39,5/ bom | 38,0/ bom | 39,5/ bom |
| 7 | 39,5/ bom | 37,0/ Satisf. | 38,0/ bom | 39,0/ bom |
| 9 | 39,0/ bom | 37,0/ Satisf. | 37,5/ Satisf. | 38,5/ bom |
| 11 | 38,5/ bom | 37,5/ bom | 37,0/ Satisf. | 38,0/ bom |
| 13 | 38,0/ bom | 37/ Satisf. | 36,0/ Satisf | 39,0/ bom |
| Leite tratado termicamente a 75°C/17,5 s | | | | |
| | Provador 1 | Provador 2 | Provador 3 | Provador 4 |
| 1 | 38,5/ bom | 37,5/ bom | 35,5/ pobre | 39,0/ bom |
| 3 | 39,0/ bom | 34,0/ pobre | 36,0/ Satisf. | 39,5/ bom |
| 5 | 39,0/ bom | 37,5/ bom | 36,0/ Satisf. | 38,5/ bom |
| 7 | 37/ Satisf. | 34,0/ pobre | 35,0/ pobre | 37,5/ Satisf. |
| 9 | 38,0/ bom | 36,0/ Satisf. | 37,5/ Satisf. | 38,5/ bom |
| 11 | 38,0/ bom | 36,0/ Satisf | 36,0/ Satisf. | 37,5/ Satisf |
| 13 | 34,0/ pobre | 34,0/ pobre | 31,0/ pobre | 32,5/ pobre |

Obs: satisf.: satisfatório

Conclusões

Os melhores binômios temperatura/tempo para a produção de um leite de vida de prateleira estendida (leite ESL) foram $82^{\circ}\text{C}/10$ segundos e $74^{\circ}\text{C}/17,5$ segundos.

Os leites de vida de prateleira estendida produzidos com os binômios $82^{\circ}\text{C}/10$ segundos e $74^{\circ}\text{C}/17,5$ segundos permaneceram em boas condições de consumo com até 15 dias de vida de prateleira respectivamente quando avaliados microbiologicamente e 13 dias quando avaliados sensorialmente.

O binômio $87^{\circ}\text{C}/10$ segundos produziu um leite com apenas sete dias de vida de prateleira média.

Os principais microrganismos deteriorantes considerando o período de vida de prateleira para cada binômio temperatura/tempo em todos os processos realizados foram os microrganismos psicrotróficos.

Referências Bibliográficas

- [1] ABREU, L. F.. **Avaliação de processo de sanificação química de garrafas plásticas para sistemas assépticos**. Campinas, 2001, 117 p. Dissertação (Mestre em Tecnologia de Alimentos), Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP).
- [2] AIRES, G. S. B.. **Treinamento de um Painel de Estudantes para Julgamento de Qualidade Sensorial de Leite Fluido**. Campinas, 2002, 149 p. Dissertação (Mestre em Tecnologia de Alimentos), Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP).
- [3] ALMEIDA, A. A.. **Microrganismos psicrotróficos em leite e derivados**. Revista do Instituto de Laticínios "Cândido Tostes", 304 (54), 184-196, 1998.
- [4] ALMEIDA, A. A.. **Microrganismos psicrotróficos em leite e derivados**. Indústria de Laticínios, Jan–Fev., 51-53, 1999.
- [5] ALMEIDA, A. A., FURTADO FILHO, J.. **Microrganismos psicrotróficos em leite**. Revista do Instituto de Laticínios "Cândido Tostes", 287 (48), 36-40, 1993.
- [6] ANDERSSON, A.; RONNER, U; GRANUM, P. E.. **What problems does the Food Industry have with the Spore-Forming Pathogens *Bacillus cereus* and *Clostridium perfringens*?** International Journal of Food Microbiology, 28 (2),145-155, 1995.
- [7] APV Nordic. **Long Life Dairy, Food and Beverage Products**. APV Nordic–Unit Systems, Dinamarca, 1996.
- [8] BINET, M.. **Processing, Packaging Methods Extended Dairy, Juice Shelf-life**. Packaging Technology & Engineering, February (2),30-33, 1999.
- [9] BISHOP, J. R.; WHITE, C. H.. **Assessment of Dairy Product Quality and Potential Shelf-Life –A review**. Journal of Food Protection 49 (9): 739-753, 1986.
- [10] BLAKE, M. R.; WEIMER, B. C.; MC MAHON, D. J.; SAVELLO, P. A.. **Sensory and Microbial Quality of Milk Processed for Extended Shelf Life by Direct Steam Injection**. Journal of Food Protection, 58 (9), 1007-1013, 1995.

- [11] BLAKE, M. R.. **Microbiological and Sensory Effects of Processing Milk for Extended Shelf Life and The Development of Rapid methods to Quantitative Spores and Lipase Activity**. Logan Utah, 1996, 117 p. Dissertação, (Doctor of Philosophy in Nutrition and Food Sciences), Utah State University.
- [12] BORGES, S. F.. **Qualidade do Leite Pasteurizado no Comércio Varejista na Região de Campinas-SP**. Campinas, 1987, 60p. Dissertação (Mestre em Tecnologia de Alimentos), Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP).
- [13] BORGES, V. R. M.; RODRIGUES, R.; RUBINICH, J.. **Comparation of the Quality of two Types of Milk at Two Sources in Belo Horizonte, Brazil market**. Journal of Food Protection, 41:(9), 739-742, 1978.
- [14] BRASIL, MINISTÉRIO DA AGRICULTURA. Departamento Nacional de Inspeção Federal de Produtos de Origem Animal. **Decreto nº2244**. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 05 junho 1997, Seção1, p.11.555.
- [15] BRASIL, MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Secretaria da Defesa Agropecuária, SDA/MAPA. **Instrução Normativa Nº22**. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 02 maio 2003, Seção1, nº 83, p.3-25.
- [16] BRASIL, MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Secretaria da Defesa Agropecuária,-SDA/MAPA. **Instrução Normativa Nº51**. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 20 set.2002, Seção1, n 183, p. 13-22.
- [17] BURTON, H. Monograph on Pasteurized Milk-Microbiological Aspects. Extended Shelf Life. **Bulletin International Dairy Federation nº200**: 9-14, Brussels, 1986.
- [18] BUSANI, S. F. B.; OLIVEIRA, J. S. de.. Leite Pasteurizado - Sua Qualidade desde a Fonte de Produção. **Coletânea do Instituto de Tecnologia de Alimentos**, Campinas, 19 (2): 113-120, 1989.
- [19] CARDOSO, A. L. de M P. **Ocorrência,multiplicação e produção de Toxina diarréica por cepas de mesófilas e psicrotróficas de *Bacillus cereus*, em leite**

- pasteurizado**. Campinas, 2000, 95 p.. Dissertação (Doutor em Tecnologia de Alimentos), Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP).
- [20] COLLINS, E. B.. **Heat resistant Psychrotrophic microorganisms**. Journal of Dairy Science 64: 157-160, 1981.
- [21] COMISSIN DEL CODEX ALIMENTARIUS. Organizaion de las Naciones Unidas para la Agricultura e la Alimentacion. Organizacion Mundial de la Salud. **Programa Conjunto FAO/OMS sobre Normas Alimentarias. Definiciones de tratamiento térmico segundo se aplica a la Leche y los productos lacteos**. Roma, abril, 1982.
- [22] COUSIN, M. A.. **Presence and Activity of Psychrotrophic Microorganisms in Milk and Dairy Products, a Review**. Journal of Food Protection, 45 (2):172-207, 1982.
- [23] COVARRUBIAS, M. P.; HARVERBECK,J.. **Variações na Qualidade do Leite Cru fase Estábulo-Indústria**. Revista do Instituto de Laticínios "Cândido Tostes", Juiz de Fora, 33 (195):3-12, 1978.
- [24] CROMIE, S. J.. **Microbiological Aspects of Extended Shelf Life Products**. The Australian Journal of Dairy Technology 46 (2), 101-104, 1991.
- [25] CROMIE, S.J.; DOMMET, T. W.; SCHMIDT, D. **Changes in the Microflora of Milk with Different Pasteurization and Storage Conditions and Aseptic Packaging**. The Australian Journal of Dairy Technology 44 (1), 74-77, 1989 a.
- [26] CROMIE,S.J.; SCHMIDT, D.and DOMMET,T.W. **Effect of Pasteurization and Storage Conditions on the Microbiological, Chemical and Physical Quality of Aseptically Packaged Milk**. The Australian Journal of Dairy Technology 44 (1), 25-30, 1989 b.
- [27] FARIA, J. A. F. **Efficiency of sterilization process of plastic bottles by using liquid disinfectants**. 11th.IAPRI World Conference on Packaging, Singapore, 1999.
- [28] FARIA, J.A.F.. Sistema de esterilização de embalagens .BR.Instituto Nacional de propriedade Industrial (INPI). Pedido de Patente, protocolo n°1427, 2001.
- [29] FREDSTED, L. B.; RYSSTAD, G.; EIE, T.. **Pure-Lac: The New Milk with Protected Freshness and Extended Shelf Life**. Heat Treatments & Alternative Methods, International Dairy Federation Symposium–Vienna (Áustria), 104-125, 1995.

- [30] GLAESER, H. **Alternative Methods: Legal and Control Aspects.** Heat Treatments & Alternative Methods, International Dairy Federation Symposium–Vienna (Áustria), 438-447, 1995.
- [31] GOMES, F. M.; LEMOS, M. A. **Implantação, transporte e coleta de leite a granel.** Revista do Instituto de Laticínios "Cândido Tostes", Juiz de Fora, 309 (54), 184-196, 1999.
- [32] GRIFFITS, M. W.; PHILLIPS, J. D.; MUIR, D. D.. **The effect of sub-pasteurization heat treatments on the shelf life of milk.** Dairy Industries International 51 (5), 31-35, 1986.
- [33] HALL, C. W.; TROUT, G. M. **Milk Pasteurization.** Westport, Connecticut: The AVI Publishing Company, 234p, 1968.
- [34] HOFFMANN, W.; KLOBES, H.; KIESNER, CHR.; SUHREN, G.; KRUSCH, U.; CLAWIN-RÄDECKER, I.; LARSEN, P. H.. **Use of Microfiltration for the Production of Pasteurized Milk with Extended Shelf Life.** Bulletin International Dairy Federation n°311: 45-46, 1996.
- [35] HUNN, S.; HAJDENURERCEL, J.R.; MORAES, J. M.; VARGAS, O. L.. **Qualidade Microbiológica do Leite cru Obtido por Meio de Ordenha Manual e Mecânica e a chegar à plataforma.** Revista do Instituto de Laticínios "Cândido Tostes", Juiz de Fora, 32 (209), 3-8, 1980.
- [36] INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION. **Psychrotrophs in milk and milk products,** IDF E Doc 68, International Dairy Federation, Brussels, 1976.
- [37] JOHNS, C. K.. **Tests For Estimating Shel-Life Of Milk And Milk Products.** Journal of Mik Food Technology, 32:301-303, 1969.
- [38] KEEHNER, K.. **Easy Life.** Dairy Field, March, 57-60, 1994.
- [39] KIESNER, Chr., HOFFMANN, W.; CLAWIN-RÄDECKER, I.; KRUSCH, U.; NEVE, H.; BUCHHEIM, W.. **Application of Direct Heating Systems for the Production of High Pasteurized Milk.** Treatments & Alternative Methods, International Dairy Federation Symposium –Vienna (Áustria), 171-178, 1995.

- [40] KNIGHT, A. H.; FRYER S. M.. **The development of heat-resistant phosphatase activity in raw milk.** Journal of the Society of Dairy Technology 42(3), 81-86, 1989.
- [41] LARSEN, P.H.. **Microfiltration for Pasteurized Milk.** Treatments & Alternative Methods, International Dairy Federation Symposium–Vienna (Áustria),232 -239, 1995.
- [42] LEDFORD, R. A., SENYK, G. A.; KOTSIDES, E.. **Growth relationships of psychrotrophs *Pseudomonas* and *Enterobacter* isolates in milk.** Journal of Dairy Science, 66 (63) (abstract), 1983.
- [43] LEITÃO, M. F. F.. **Microbiologia de Alimentos, In Tratado de Microbiologia,** Editora Manole, São Paulo, 3-81, 186p, 1988.
- [44] MARSHALL, R. T.. **Standard Methods for the Examination of Dairy Products.**16 ed.. American Public Health Association, Washington, D.C., 1992, 546p.
- [45] MIKOLAJCIK, E. M.; BRUCKER, R. B.. **Psychrotrophic Bacteria And Dairy Products Quality. 1 Major Organisms Involved And Defects Produced .**Culture Dairy Products Journal, 4, 6-10, 1979.
- [46] MUIR, D. D.. **The Shelf life of Dairy Products:1. Factors influencing raw milk and fresh products.** Journal of the Society of Dairy Technology 49 (1),24-32, 1996.
- [47] NELSON, J. A. & TROUT G.M.. **Judging Dairy Products.**4th ed..The Olsen Publishing CO., Milwaukee, 463 p., 1964
- [48] NIELSEN, W. K.. **New Methods for Food Preservation.** Treatments & Alternative Methods, International Dairy Federation Symposium – Vienna (Áustria), 240-248, 1995.
- [49] OFFICIAL METHODS of ANALYSIS of AOAC INTERNATIONAL, 16th ed.Washington, D.C., USA, 1995.
- [50] OLIVEIRA, J. S.de.. **Qualidade Microbiológica do Leite.** Indústria Alimentar, 1:38-40, 1976.
- [51] OVERCAST, W. W.. **Psychrophilic microorganisms and keeping quality and its products.** Journal of Dairy Science, 51:1336–1338, 1968.
- [52] PATEL, G. B.; BLANKENAGEL, G.. **Bacterial counts of raw milk and flavour of the milk after pasteurization and storage.** Journal Milk Food Technology, 35:203-206, 1972.

- [53] PETRUS, R. R.; CORREA NETO, R. S.; FARIA, J F; GANDARA, A L. N.. **Sanificação química de garrafas plásticas.** Higiene Alimentar, 5 n°80/81, 80-90, jan. 2001.
- [54] PETRUS, R. R.; FARIA, J F.. **A Importância da Aplicação da Tecnologia de Salas Limpas na Indústria de Alimentos.** Boletim SBCTA, 37 (1):48-51, jan-jun., 2003.
- [55] PETRUS, R. R.; FARIA, J F; DELBEN, L. A S.. **Avaliação de Conformidade das Condições Operacionais de uma Área Limpa Para Envase Asséptico.** Higiene Alimentar, 17 (112), 22-30, 2003.
- [56] PUNCH, J.D., OLSON, J.C.; THOMAS, E. L.. **Psychrophilic bacteria III. Population levels associated with flavor or physical changes in milk.** Journal of Dairy Science 48:1179-1183, 1966.
- [57] RHODEHAMEL E.J.; HARMON, S. M.. **Bacillus cereus In;** FDA Bacteriological Analytical Manual, 8 ed.. AOAC International Chap.14, p.1401-1408, 1998.
- [58] RUSSEL, P.. **Plant for Extended life Milks.** Milk Industry International 98 (6), 28-34, 1996.
- [59] SALJI, J. S.; SAADI, S. R; MASHHADI, A.. **The shelf life of Pasteurized Fresh Milk Manufactured in Saudi Arabia.** Journal of Food Products, 51(12), 976-978, 1988.
- [60].SCHMIDT, D.; CROMIE, S. J.; DOMMET, T. W.. **Effect of Pasteurization and Storage Conditions on the Shelf Life and Sensory Quality of Aseptically Packaged Milk.** The Australian Journal of Dairy Technology 44 (1), 19-24, 1989.
- [61] SHIPE, W. F.; BASSETTE, R.; DEANE, D. D.; DUNKLEY, W. L.; HAMMOND, E. G.; HARPER, W. J.; KLEYN, D. H.; MORGAN, M. E.; NELSON, J. H.; SCANLAN, R. A.. **Off-flavors in milk: Nomenclature, standards and bibliography.** Journal of Dairy Science, 61:855, 1978.
- [62] SILVEIRA, V. V.; SAKUMA, H.; DUARTE, M.; RODAS, M. A. B.; SARUWTARI, J. H.; CHICOUREL, E. L.. **Avaliação das Condições físico-químicas e Microbiológicas do Leite Pasteurizado na Cidade de São Paulo.** Revista do Instituto Adolfo Lutz, 49 (1), 19-25, 1989.

- [63] SOUZA, M. R. de; CERQUEIRA, M. M. de O. P.; SILVA A, A. N. da; RODRIGUES, R.; SAMPAIO, I. B. M. **Pasteurização Lenta e Rápida: uma Avaliação de Eficiência.** Leite e Derivados, São Paulo, 29 (4):56-65, 1996.
- [64] STAAL, P.F.J. **Monograph on Pasteurized Milk-Microbiological Aspects. Extended Shelf Life.** Bulletin International Dairy Federation n°200: 71-79, 1986.
- [65] STUMBO,C.R.. **Thermobacteriology in Food Processing**, 2 ed..Academic Press, 1973.
- [66] TETRA-PAK. **ESL Tecnology:The Facts.** Tetra Pak Marketing Services AB/ Promotional Material, 1999 a.
- [67] TETRA-PAK. **ESL Technology – the Future for Chilled Products.** Tetra Pak Marketing Services AB/ Promotional Material, 1999 b.
- [68] VANDERZANT, C.; SPLITTSTOESSER, D. F.. **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods.** 3ª ed. .Washington, American Public Health Association, 1992, 1219 p.
- [69] VATNE, K. B.; CASTBERG, H. B.. **Processing and Packaging Aspects of Extended Shelf Life Products.** The Australian Journal of Dairy Technology 46 (2), 98-100, 1991
- [70] VEISSEYRE, R.. **Lactologia tecnica: composicion, recogida, tratamiento y transformación de la leche.** Zaragoza, Acribia, 629 p, 1988.
- [71] WALSTRA, P.; JENNES, R.. **Quimica y Fisica Lactologica.** Zaragoza, Espana: Editorial Acribia, 1987, 423 p.
- [72] WESTHOFF, D. C.. **Heating milk for microbial destruction: A Historical Outline and Update.** Journal of Food Protection, 41 (2): 122-130, 1978.
- [73] ZALL, R. R., CHEN, J. H.; MURPHY, S. C.. **Estimating the Number of Psychrotrofs in Milk Using the Direct Microscopic Method.** Culture Dairy Products Journal, 17:24-38, 1982.
- [74] ZADOW, J. G.. **Extending the Shelf life of dairy products.** Food Australian, 41 (9): 935-937, 1989.

Capítulo 5

Influência da temperatura de armazenamento na vida de prateleira de um leite de vida estendida

Este capítulo será submetido à publicação na Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes

Influência da temperatura de armazenamento na vida de prateleira de um leite de vida estendida

Resumo

O objetivo desse estudo foi verificar o efeito das temperaturas de armazenamento de 3°C, 6°C e 10°C em leites de vida de prateleira estendida (leite ESL), processados a 74°C/17,5 s e 82°C/10s e envasados assépticamente. Foram realizadas duas repetições em datas diferentes.

Os leites foram tratados em uma unidade de pasteurização, com trocador de calor a placas, envasados em embalagens esterilizadas em sala limpa e armazenados. Foi realizado um estudo de acompanhamento da vida de prateleira dos leites processados até 24 dias de armazenamento.

Verificou-se que os leites processados em ambas temperaturas e armazenados a 3°C e 6°C alcançaram contagens médias de mesófilos aeróbios de 8×10^4 UFC/mL após 24 dias de armazenamento. Os leites ESL armazenados a 10°C contagens médias de mesófilos aeróbios de 8×10^4 UFC/mL em 4 dias para o tratamento térmico de 74°C/17,5 s e 7 dias para o tratamento térmico de 82°C/10 s .

Verificou-se em todos os casos que no período que ocorreu o maior crescimento de microrganismos mesófilos aeróbios, também ocorreu um maior crescimento de microrganismos psicrotróficos. Em um mesmo intervalo de tempo as curvas de crescimento para essas duas classes de microrganismos foram semelhantes e pode-se supor que o crescimento dos microrganismos psicrotróficos esteve correlacionado com a presença de linhagens de mesófilos aeróbios.

Foram realizadas análises de fosfatase alcalina reativável e microbiana ao longo da vida de prateleira dos leites produzidos. Os resultados foram todos negativos mesmo ao final de 17 dias quando os leites ESL armazenado a 10°C apresentaram contagens de microrganismos psicrotróficos de 10^8 UFC/mL.

The influence of storage temperature in extended shelf life milk.

Summary

The objective of this study was to verify the effect of storage temperatures in the life of extended shelf milk (ESL milk) (3°C, 6°C and 10°C), treated at 74°C/17,5 s and 82°C/10s, and aseptically packed. Two repetitions were carried out on two different dates.

The milk was treated at a pasteurization unit, with plate heat exchanger, packed in clean roon. A follow up study was on the shelf life of processed milk up to 24 days storage period.

It was verified that the milk that was processed under both temperatures and storage at 3°C and 6°C reached average counts of aerobia mesophile of 8×10^4 UFC/mL, after 24 days of storage. The ESL milk stored at 10°C with average aerobia mesophile counts of 8×10^4 in 4 days for thermal treatment of 74°C/17,5 s and 7 days for thermal treatment of 82°C/ 10 s.

It was verified that in all cases during the period in which the greatest growth of aerobia mesophile microorganisms occurred, also occurred the largest growth of psychotrophic microorganisms. For the same time lag the growth curve for these two microorganisms were similar and it can be affirmed that the growth of psychotrophic microorganisms is correlated with the presence of aerobic microorganism strain.

Reactivated and microbial alkaline phosphatase analysis were conducted during the extended shelf life of the produced milk. The results were all negative, even at the end of seventeen days when the ESL milk stored at 10°C showed psychotrophic microorganism counts of 10^8 UFC/mL.

Introdução

A vida útil de um produto (shelf life) é definida como o tempo entre o processamento e o ponto no qual o produto torna-se inaceitável para o consumo devido a mudanças microbiológicas, bioquímicas, físicas ou sensoriais; medida em dias desde a produção até o ponto de venda / compra / utilização do produto pelo consumidor (Cromie, 1991; Vatne et al. 1991).

O termo vida de prateleira estendida ou ESL (extended shelf life), é muito utilizado atualmente na Europa, Estados Unidos e Austrália. Significa a capacidade de aumentar ou prolongar a vida de prateleira de um produto tradicional, aceito e conhecido como vida de prateleira, sem causar alterações significativas na qualidade do produto final (APV Nordic, 1996).

A população microbiana no leite pasteurizado, seu crescimento e atividades metabólicas limitam o tempo que esse leite pode ser estocado para consumo. Pode-se maximizar a vida de prateleira, minimizando o crescimento microbiológico e suas atividades metabólicas, assim baixas temperaturas de estocagem são meios efetivos para prolongar a vida de prateleira (Cromie, 1991).

Cromie (1991), Fredsted et al. (1995), Binet (1997) e Blake (1998) definem vários fatores que contribuem para e/ou afetam a qualidade do leite e conseqüentemente sua vida de prateleira. Esses fatores são a qualidade da matéria prima, condições de tratamentos térmicos, contaminação durante e/ou pós-tratamentos térmicos, tipos de embalagens utilizadas e condições de estocagem como temperatura, luz e distribuição do produto.

Para Cromie (1991) o fator mais importante que afeta a vida de prateleira do leite ESL é a temperatura de estocagem do produto final. Ele considera como sendo ideal para a estocagem dos leites ESL temperaturas menores que 3°C a 4°C e que existe uma estreita relação entre vida de prateleira e temperatura de armazenamento.

Cromie (1991) fez estudos com leites ESL utilizando embalagens assépticas, variando a temperatura de estocagem e conclui que à medida que aumentou a temperatura de estocagem, menor foi a vida de prateleira do leite ESL. Para uma temperatura de 12°C ocorreu um rápido crescimento microbiano alcançando populações de 10^7 UFC/mL em

apenas 14 dias. Para temperaturas menores a 3°C, a deterioração do produto ocorreu em 40 dias quando atingiu contagens de deterioração (10^7 UFC/mL). Para leites estocados a 1°C e 12°C a diferença entre a vida de prateleira foi de nove semanas.

Fredsted et al. (1995) citam que os microrganismos termodúricos e esporos que são capazes de sobreviver a pasteurização, podem causar sérios problemas ao leite ESL, principalmente se forem estocados e distribuídos em temperaturas maiores que 5°C (8°C-12°C).

Overcast (1968) e Knight et al. (1989) citam que se o leite apresentar contagens de microrganismos psicrotróficos a partir de 10^5 UFC/mL, alterações sensoriais podem ocorrer e a partir de 10^7 UFC/mL ocorre à produção de fosfatase microbiana.

Pesquisas realizadas por Johns (1971) indicaram que, para um leite pasteurizado tratado convencionalmente, o crescimento de microrganismos psicrotróficos aumenta de 1 UFC/mL a 10^8 UFC/mL em 10 dias a temperatura de 7,2°C.

Para vários autores (Punch et al., 1966; Johns, 1971; Patel, 1972; Mikolajcik, 1979; Ledford, 1983), níveis de microrganismos psicrotróficos de 10^6 a 10^7 UFC/mL são responsáveis por modificações organolépticas em leite tratados termicamente.

A deterioração mais comum do leite pasteurizado e/ou tratado termicamente e distribuído em boa cadeia de frio é devido a recontaminação depois do tratamento térmico, com bactérias Gram-negativas e psicrotróficas. Esses microrganismos geralmente estão associados com água de lavagem de equipamentos e crescem rapidamente em leites estocados a baixas temperaturas (Fredsted et al., 1995).

A Federação Internacional de Laticínios, define microrganismos psicrotróficos como sendo aqueles que podem crescer a temperaturas de 7°C ou menos, independente de sua temperatura ótima de crescimento, segundo eles a palavra crescimento inclui não somente multiplicação, mas também processos metabólicos os quais necessariamente precedem a multiplicação (IDF, 1976).

Cromie (1991) cita como microrganismo termorresistentes espécies de *Bacillus*, em especial *Bacillus circulans* e *cereus*. A combinação entre resistência ao tratamento térmico e a capacidade de germinação a baixas temperaturas conferem ao gênero *Bacillus* uma considerável capacidade de deterioração.

Estudos realizados por Meer et al. (1993) indicaram que a microbiota do leite tratado termicamente e estocado sob refrigeração consistia de 83% de *Bacillus*. Muir (1996) e Blake (1995) também citam que, o gênero *Bacillus* tem grande importância devido a sua capacidade de germinar e crescer sob refrigeração.

Hansen, citado por Cromie (1991), realizou um trabalho para avaliar a temperatura de estocagem de leites ESL e encontrou que 55% dos leites avaliados estavam estocados acima de 5°C, com uma faixa de variação de 2°C a 14°C. Para Hansen, a temperatura de estocagem é um fator limitante do crescimento microbiano em leite ESL e difícil de se controlar (Cromie 1991).

Vatne et al. (1991), em estudos feitos com leite ESL, observaram que a cada 2°C de aumento de temperatura de estocagem, a velocidade de deterioração se duplicou. A 2°C de temperatura de estocagem, o leite apresentou uma vida de prateleira de 40 dias; com 8°C apresentou 5 dias e a 12°C apresentou 1,25 dias de vida de prateleira.

A temperatura de estocagem e distribuição é um fator determinante, devido ao alto número de microorganismos sobreviventes. Com temperaturas de estocagem de 5°C a 6°C, a vida de prateleira pode chegar a cinco semanas; com 8°C a 10°C o máximo da vida de prateleira do leite ESL é de duas a três semanas (Tetra-Pak-ESL, 1999 a e b).

Hoffmann et al. (1996) realizaram estudos com leite ESL e verificaram que, quando estocados a 10°C, o tempo para que a contagem global atingisse 10^6 UFC/mL, foi de uma semana. Quando armazenado a 5°C a mesma contagem de 10^6 UFC/mL demorou três semanas e nesse mesmo período as propriedades sensoriais do leite ESL permaneceram aceitáveis. Quando armazenado a 15°C não foi possível analisar o leite devido as alterações sensoriais e microbiológicas. Hoffmann et al. (1996) consideraram que uma contagem de 10^6 UFC/mL é acima do limite para a aceitação sensorial do leite.

Zalazar et al. citado por Almeida (1999), estudando o desenvolvimento de microrganismos psicrotróficos em leite a três temperaturas de armazenamento: 0°C, 4°C e 6°C verificaram o aparecimento de alterações e defeitos organolépticos em contagens superiores a 10^6 UFC/mL, para as temperaturas de 4°C e 6°C.

Material e métodos

Materiais

Matéria prima

Foi utilizado leite integral (3,3% a 3,4% de gordura) fornecido por uma Granja leiteira produtora de leite tipo A da região de Campinas/SP. O leite foi transportado em latões previamente sanitizados e armazenados em câmara frigorífica (5°C), até o momento do processamento.

Tratamentos térmicos

Foram realizados dois processamentos em dias distintos. Em cada dia de processamento, foram utilizados 120 L de leite, dividido em duas porções iguais. Cada porção foi tratada termicamente, uma com o binômio tempo/temperatura de 74°C/17,5 segundos e outra com o binômio de 82°C/10 segundos (segundo informação do fabricante).

Foi utilizada uma planta piloto constituída por um tanque de recepção de matéria prima, com capacidade de 80 litros, uma unidade de pasteurização modelo "MICRO PLAK" da marca SUMÁ Industria e Comércio Ltda, Campinas, constituída por um trocador de calor a placas, válvula de reversão e bomba centrífuga, tubulações de ligação entre equipamentos e tanque asséptico, instalado dentro da sala de envase.

O leite tratado termicamente foi enviado através de tubulações em circuito fechado, a um tanque asséptico de estocagem e a seguir foi envasado em garrafas plásticas previamente sanificadas em sistemas assépticos (Faria, 2001) em sala limpa de envase (Petrus et al., 2003).

Após envase, o leite envasado foi subdividido aleatoriamente em três lotes de 25 a 30 garrafas cada e armazenado sob três temperaturas de refrigeração 3°C, 6°C e 10°C.

Cada lote permaneceu na temperatura de armazenamento a ser estudada por todo o período de avaliação da vida de prateleira que foi de aproximadamente 28 dias.

Ao longo do tempo de armazenamento foram realizadas todas as análises para avaliação da vida útil do leite de vida estendida.

Material de embalagem

Garrafas de polietileno de alta densidade (PEAD) na cor branca, pigmentada com dióxido de titânio, sem barreira de luz ou barreira de oxigênio, frascos quadrados de 500 mL, fornecedor Plastirrico Indústria e Comércio Ltda, São Paulo, SP.

Tampas de rosca de polietileno de alta densidade (PEAD) com lacre de vedação contendo alumínio/polietileno de baixa densidade (AL / PEBD) para selagem por indução na cor azul, fabricante Wolfer Indústria e Comércio de Ferramentas Ltda, São Paulo, SP.

Esterilização das garrafas e tampas

As garrafas e lacres de vedação foram sanificados quimicamente com uma mistura de peróxido de hidrogênio e ácido peracético 0,05 %, aspergida no interior das garrafas por 4 segundos e enxaguadas por aspersão de água filtrada em filtro biológico durante 7 segundos (Abreu, 2001), tempo suficiente para assegurar a remoção de resíduos da solução nas embalagens, evitando possíveis alterações de sabor no produto final.

Foi utilizado o esterilizador de garrafas com duas seções: esterilização e enxágüe das embalagens por aspersão; desenvolvido por Faria (2001), no departamento de Tecnologia de Alimentos na Faculdade de Engenharia de Alimentos da Unicamp.

Após a sanificação as garrafas foram acondicionadas em sacos plásticos, fechados e armazenados na ante-sala do sistema de acondicionamento asséptico (Petrus et al, 2003).

Envase Asséptico

O envase do leite foi realizado em um sistema de acondicionamento asséptico de alimentos líquidos em garrafas plásticas na Faculdade de Engenharia de Alimentos da Unicamp (Petrus et al, 2003) composto por sala de envase (sala limpa ISO classe 7) e ante-sala e vestiário (ISO classe 8).

O envase asséptico do produto foi realizado por dois operadores paramentados na sala limpa. Após o envase as embalagens foram termo seladas por indução, dentro da sala limpa e rotuladas para identificação do lote, data de fabricação e processo utilizado.

Critério utilizado para definir a vida útil do leite ESL

Os critérios utilizados para avaliação do final da vida de prateleira do leite pasteurizado ESL foram os padrões especificados por legislação para o leite tipo B recém pasteurizado como contagem de microrganismos aeróbios mesófilos de $8,00 \times 10^4$ UFC/mL (Brasil, 2002) e /ou contagens de microrganismos psicrotóxicos acima de 10^6 UFC/mL (Johns, 1969; Mikolajcik et al., 1979; Patel et al., 1972; Punch et al., 1966).

Parâmetros físico-químicos ou bioquímicos (acidez, pH, fosfatase, etc) e resultados de análises sensoriais (bom, regular, insatisfatório, etc) também foram considerados como fatores de finalização da vida de prateleira. A partir do momento em que algum desses fatores se encontrou fora dos padrões especificados na legislação brasileira (Brasil, 2002) e/ou literatura internacional para análise sensorial (Nelson et al., 1964) foi considerado a finalização da vida útil do leite pasteurizado.

Métodos de Análises

Análises físicas e químicas –

- Análise de pH, determinação em pHmetro digital, com correção automática de temperatura marca Acumet.
- Acidez titulável segundo metodologia 33.2.06, AOAC, 1995.
- Densidade segundo metodologia 33.2.03, AOAC, 1995.
- Gordura e Crioscopia - segundo Métodos Analíticos Oficiais Físico-Químicos, para Controle de Leite e Produtos Lácteos (Brasil, 2003).
- Presença de Antibióticos em leite cru, metodologia 12.4 do “Standard Methods for Examination of Dairy Products” (Marshall, 1992).
- Extrato seco total e desengordurado leitura direta por disco de Ackermann e diferença de gordura segundo Métodos Analíticos Oficiais Físico-Químicos, para Controle de Leite e Produtos Lácteos (Brasil, 2003).
- Fosfatase residual pelo método rápido de Scharer do "Standard Methods for the Examination of Dairy Products” (Marshall, 1992).

- Peroxidase segundo Métodos Analíticos Oficiais Físico-Químicos, para Controle de Leite e Produtos Lácteos (Brasil, 2003).

Análises microbiológicas

- Contagem total de microrganismos aeróbios mesófilos, determinação do MNP de coliformes totais e fecais, contagem total de microrganismos psicrotróficos, contagem total de esporos mesófilos e psicrotróficos, contagem total de microrganismos termodúricos mesófilos e psicrotróficos, segundo metodologias do “Standard Methods for the Examination of Dairy Products” (Marshall, 1992).

- Detecção de *Salmonella*, segundo metodologia do "Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods" (Vanderzant et al., 1992).

- Contagem presuntiva de *Bacillus cereus*, segundo metodologia FDA. Bacteriological Analytical Manual (Rhodehamel et al., 1988).

Análise sensorial

A avaliação sensorial foi realizada com provador treinado, com a metodologia de “Score Card for Milk”, da American Dairy Science Association (ADSA) do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (Shipe et al. 1978; Nelson & Trout, 1964; Aires, 2002).

A análise sensorial do leite foi realizada com um painel treinado com 1 provador para avaliar tributos de sabor, odor através de uma ficha de pontuação. Após degustação, os provadores marcaram na ficha qual o sabor e/ou odor identificado e qual sua intensidade. Conforme a intensidade foram descontados pontos no total da ficha que é de 45 pontos. Para leite normal a pontuação é de 31 a 45 pontos e segue a classificação indicada na Tabela 1. Leite com pontuação inferior a 31 é considerado leite anormal ou impróprio para consumo.

Tabela 1 – Classificação do leite de acordo com a avaliação sensorial
com Score Card for Milk

| Classe do leite quanto ao sabor | Faixa de pontuação | Descrição específica do sabor |
|---|--------------------|---|
| excelente | 45 a 40 | inalterado |
| bom | 39,5 a 38,0 | Adstringente, falta de frescor e salgado: Suave Cozido, alimento e aguado: de Suave a definido |
| satisfatório ou regular | 37,5 a 36,0 | Vaca e oxidado: Suave Adstringente e salgado: definidos Falta de frescor: Definido a pronunciado Cozido e aguado: pronunciado |
| pobre | 35,5 a 31,0 | Muito ácido, Ranço e Sujo: de Suave a definido. Curral, amargo, estranho, Cebola/Alho, maltado e metálico: Suave, definido ou pronunciado. |
| leite anormal ou impróprio para consumo | menor que 31,0 | Ácido, ranço, sujo: Pronunciado. |

Leite normal: 31 a 40 pontos

Fonte: Nelson & Trout, p.96 (1964).

Resultados e discussão

Para uma maior compreensão do texto definiu-se os leites armazenados a diferentes temperaturas como: **leite 10°C** - leite armazenado a temperatura de 10°C, **leite 6°C** – leite armazenado a temperatura de 6°C e **leite 3°C** – leite armazenado a temperatura de 3°C.

A Tabela 2 apresenta os resultado das análises das matérias-primas utilizadas para a realização dos processamentos em duas repetições. Pelas análises microbiológicas os leites se apresentaram dentro dos padrões normais de contagem total de mesófilos, com 10^4 UFC/mL ($2,7 \times 10^4$ UFC/mL e $1,95 \times 10^4$ UFC/mL), caracterizando uma matéria prima de qualidade boa, com padrões microbiológicos inferiores ao preconizados pelo SIF (Brasil, 2002) para um leite tipo B cru, que é de 5×10^5 UFC/mL.

As contagens de microrganismos psicrotróficos apresentaram-se com valores elevados na ordem de 10^4 ($1,75 \times 10^4$ UFC/mL e $2,2 \times 10^4$ UFC/mL). Esses valores mostraram-se elevados, pois geralmente é desejado uma carga psicrotrófica de 10% da carga mesófila (Cousin, 1982), porém esses microrganismos não afetaram a produção do leite ESL, pois foram sensíveis aos tratamentos térmicos empregados.

Análises de *Bacillus cereus*, esporos mesófilos e psicrotróficos, contagem de termodúricos mesófilos e psicrotróficos foram realizadas para se verificar a qualidade da matéria-prima, pois alguns desses microrganismos são resistentes ao calor podendo sobreviver aos tratamentos térmicos e tornarem-se uma fonte de crescimento e contaminação para os leites ESL, diminuindo a vida útil do produto final. Os resultados obtidos foram satisfatórios ficando na ordem de 10^1 UFC/mL para *Bacillus cereus*, para contagem de termodúricos mesófilos e esporos e valores menores que 10 UFC/mL para os esporos e contagem termodúricos psicrotróficos (Tabela 2).

Os resultados das análises de acidez, pH, índice crioscópico, gordura, fosfatase, peroxidase e resíduos de antibióticos estão apresentados na Tabela 2. Todos os parâmetros estudados apresentaram-se dentro de padrões especificados por legislação (Brasil, 2002), em condições normais de utilização, onde destaca-se os resultados negativos para as análises de resíduos de antibióticos.

Tabela 2 – Características das matérias primas utilizadas nas duas repetições

| Determinações | 1º repetição | 2º repetição |
|--|--------------------|--------------------|
| pH | 6,72 | 6,70 |
| Acidez (°Dornic) | 0,15 | 0,15 |
| Densidade | 1,0318 | 1,0319 |
| Gordura (%) | 3,30 | 3,40 |
| Extrato seco total (%) | 12,30 | 12,32 |
| Ext. seco deseng. (%) | 8,80 | 8,92 |
| Crioscopia (°Hortvet) | -0,545 | -0,546 |
| Antibióticos | Negativo | Negativo |
| Fosfatase | Positivo | Positivo |
| Peroxidase | Positivo | Positivo |
| Contagem de mesofilos totais (UFC/mL) | $2,70 \times 10^4$ | $1,95 \times 10^4$ |
| Contagem de psicrotróficos (UFC/mL) | $1,75 \times 10^4$ | $2,20 \times 10^4$ |
| <i>Bacillus cereus</i> (UFC/mL) | $5,00 \times 10^1$ | $6,00 \times 10^1$ |
| Esporos mesófilos (UFC/mL) | $6,00 \times 10^1$ | $8,00 \times 10^1$ |
| Esporos psicot. (UFC/mL) | < 10 | < 10 |
| Contagem de Termodúricos mesofilos (UFC/mL) | $9,00 \times 10^1$ | $8,00 \times 10^1$ |
| Contagem de Termodúricos psicrotróficos (UFC/mL) | < 10 | < 10 |

Pode-se concluir por todas as análises realizadas que a matéria-prima foi de boa qualidade. A presença de baixas contagens de microrganismos termodúricos e esporos indicam que os leites foram produzidos sob condições de higiene e sanificação dos equipamentos de ordenha e tanque de leite cru.

A Tabela 3 apresenta os resultados das análises físico-químicas e bioquímicas dos leites tratados termicamente a 74°C/17,5 segundos, realizadas no mesmo dia dos processamentos nas duas repetições. Concluiu-se que todos os parâmetros analisados apresentaram-se dentro dos padrões de legislação (Brasil, 2002), destacando os resultados das análises de peroxidase positiva e fosfatase residual negativa indicando que o leite não foi processado a temperaturas muito elevadas (peroxidase positiva), bem como foi adequadamente tratado termicamente (fosfatase negativa).

Os resultados das análises microbiológicas para os leites produzidos ficaram com contagens de microrganismos mesófilos aeróbios de 1,60 X 10² UFC/mL para a 1ª repetição e 1,10 X 10² UFC/mL para a 2ª repetição (Tabela 3).

Tabela 3 – Determinações físico-químicas, bioquímicas e microbiológicas do leite de vida de prateleira estendida para o tratamento térmico 74°/17,5 s nas duas repetições (*).

| Determinações | 1ª repetição | 2ª repetição |
|---------------------------------------|------------------------|------------------------|
| pH | 6,78 | 6,78 |
| Acidez (% ácido láctico) | 0,15 | 0,15 |
| Fosfatase | Negativo | Negativo |
| Peroxidase | Positivo | Positivo |
| Contagem de mesófilos totais (UFC/mL) | 1,60 X 10 ² | 1,10 X 10 ² |
| Coliformes totais (NMP/mL) | < 0,03 | < 0,03 |
| Coliformes fecais (NMP/mL) | < 0,03 | < 0,03 |
| Contagem de psicrotróficos (UFC/mL) | < 10 | < 10 |
| Salmonella (em 25 mL) | ausente | ausente |
| <i>Bacillus cereus</i> (UFC/mL) | < 10 | < 10 |

(*) – Determinações realizadas nos dias dos processamentos

Os resultados das médias das contagens de microrganismos mesófilos aeróbios para o tratamento térmico de 74°C/17,5 s com 2 repetições podem ser observados na Figura 1.

Para o leite armazenado a 10°C a lag-fase foi de apenas dois dias, apresentando um grande crescimento populacional entre os dias 2 e 6, enquanto que para os leites armazenados a 3°C e 6°C as lag-fases foram de oito dias. Ao final de 17 dias o leite armazenado a 10°C apresentou contagens de $4,2 \times 10^7$ UFC/mL enquanto os leites armazenados a 3°C e 6°C apresentaram contagens de microrganismos mesófilos aeróbios de $2,3 \times 10^3$ UFC/mL e $8,4 \times 10^3$ UFC/mL respectivamente, com uma diferença de 4 ciclos log.

Sob o ponto de vista microbiológico o leite armazenado a 10°C não apresentou condições de consumo após 4 dias de armazenamento, se tomarmos como padrão de qualidade um leite com padrões de leite B especificados pela legislação brasileira, com contagem total de $8,0 \times 10^4$ UFC/mL.

Os leites armazenados a 3°C e 6°C apresentaram uma vida de prateleira de 24 dias dentro de padrões de leite tipo B, com contagens de $7,4 \times 10^3$ UFC/mL para o leite 3°C e $9,3 \times 10^4$ UFC/mL para o leite 6°C. O leite que permaneceu a uma temperatura mais baixa de armazenamento ficou com uma contagem total de microrganismos mesófilos final menor.

Observa-se pela Figura 2 que o crescimento de microrganismos psicrotróficos em leite tratado a 74°C/17,5 s e armazenado a 3°C e 6°C ocorreu a partir do 13º dia de armazenamento alcançando valores de $1,8 \times 10^4$ UFC/ mL e $4,2 \times 10^5$ UFC/ mL, respectivamente ao final de 24 dias. O leite 10°C com apenas dois dias de vida de prateleira apresentou a contagem de psicrotróficos de $3,90 \times 10^3$ UFC/mL e ao final de 17 dias o leite 10°C apresentou com uma contagem de $1,20 \times 10^8$ UFC/mL.

Ao comparar-se as Figuras 1 e 2 verifica-se que as curvas de crescimento seguem traçados semelhantes, isto é, quando ocorreu um maior crescimento de microrganismos mesófilos aeróbios para todas as temperaturas de armazenamento o mesmo ocorreu com o crescimento de microrganismos psicrotróficos. Portanto, pode-se afirmar que o crescimento dos microrganismos psicrotróficos está correlacionado com a presença de linhagens mesófilas aeróbias.

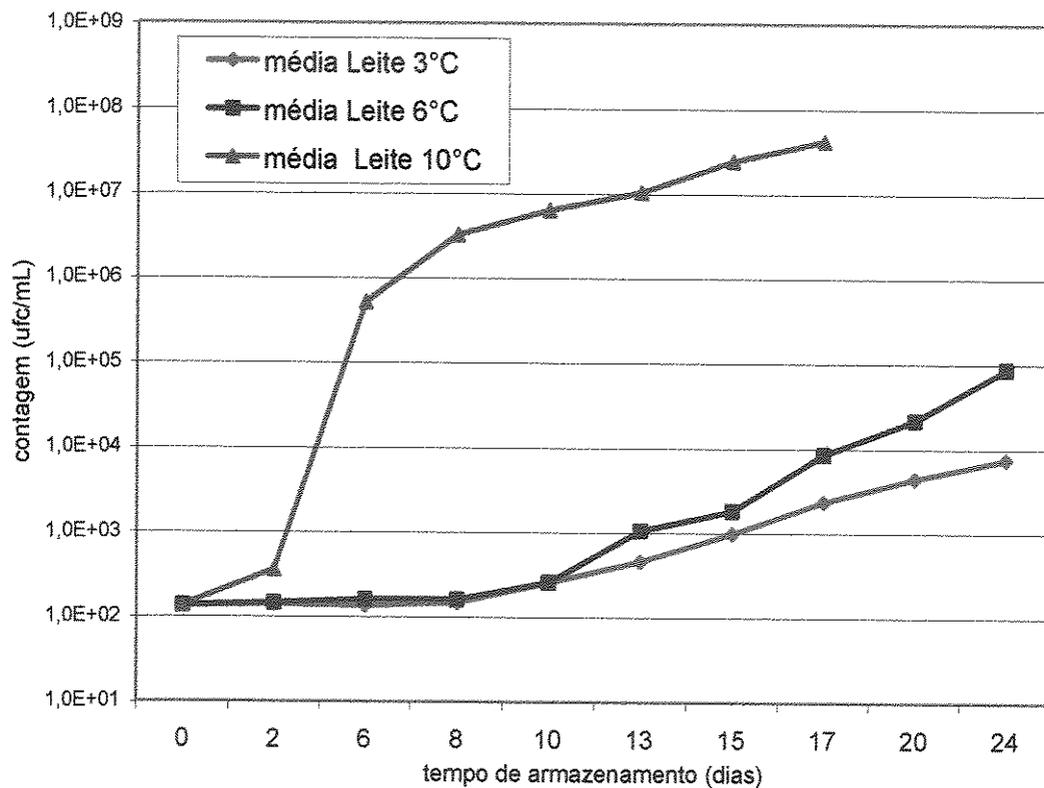


Figura 1 - Contagem média de mesófilos aeróbios p/ tratamento térmico de 74°C/17,5 s à diferentes temperaturas de armazenamento

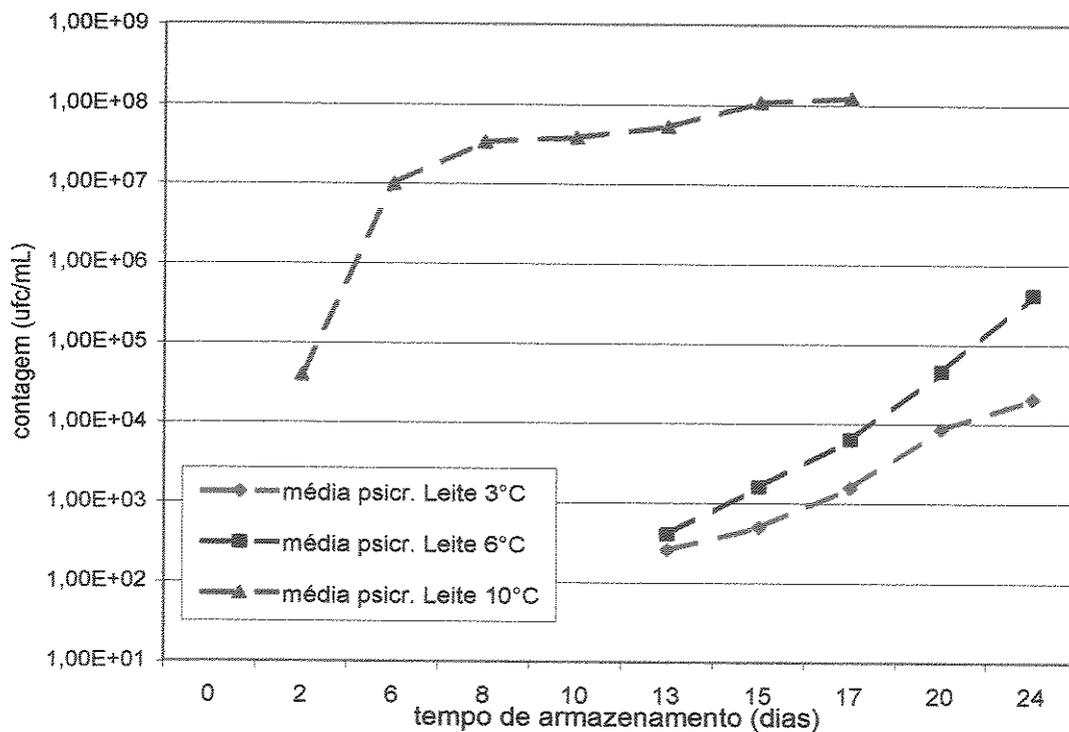


Figura 2 - Contagem média de microrganismos psicotróficos para o tratamento térmico de 74 °C/17,5 s à diferentes temperaturas de armazenamento

Ao levarmos em consideração a definição de que microrganismos psicrotróficos são aqueles que se desenvolvem a temperaturas baixas, não sendo necessariamente a temperatura ótima de crescimento (IDF, 1976; Leitão, 1988) pode-se supor que dentro da carga de microrganismos psicrotróficos pode haver uma parcela de microrganismos mesófilos aeróbios que se adaptaram as condições de armazenamento e cresceram a temperaturas baixas. Essa teoria já foi confirmada em trabalhos de pesquisa realizada por autores como Zall et al. (1982) e Bishop et al. (1986).

Tabela 4 - Contagens de *Bacillus cereus* ao longo do tempo de armazenamento a 3°C, 6°C e 10°C e tratamento térmico 74°C/17,5 s.

| Dia de análise | Leite 3°C | | Leite 6°C | | Leite 10°C | | Média |
|----------------|--------------|--------------|--------------|--------------|-----------------------|-----------------------|------------------------|
| | 1ª repetição | 2ª repetição | 1ª repetição | 2ª repetição | 1ª repetição | 2ª repetição | |
| zero | < 10 | < 10 | < 10 | < 10 | < 10 | < 10 | < 10 |
| 8 | < 10 | < 10 | < 10 | < 10 | 4,3 X 10 ⁴ | 9,8 X 10 ⁴ | 7,05 X 10 ⁴ |
| 17 | NR* | NR* | NR* | NR* | 7,6 X 10 ⁶ | 1,9 X 10 ⁶ | 4,75 X 10 ⁶ |
| 24 | < 10 | < 10 | < 10 | < 10 | NR* | NR* | NR* |

*NR = não realizada

A Tabela 4 apresenta as contagens de *Bacillus cereus*. Verificou-se que para o leite armazenado a temperatura de 10°C ocorreu o desenvolvimento desses microrganismos a partir do 8º dia com 7,05 X 10⁴ UFC/mL e ao final de 17 dias a contagem alcançou valores de 1,90 X 10⁶ UFC/mL. Os leites armazenados nas temperaturas de 3°C e 6°C não apresentaram crescimento de microrganismos *Bacillus cereus* ao longo de 24 dias do armazenamento.

As Tabelas 5 e 6 apresentam as contagens de NMP (número mais provável) de coliformes e fecais, verifica-se que em nenhuma das temperaturas de armazenamento estudadas ocorreu o aparecimento desses microrganismos ao longo do tempo de armazenamento, indicando assim boas condições de processo e higiene e sanitização dos equipamentos e materiais de embalagem, bem com não ocorrendo nenhuma contaminação

pós-tratamento térmico, fatores esses de grande importância quando se trata da produção de leites de vida estendida e de envase em condições assépticas.

Tabela 5 - Contagens de coliformes totais e fecais ao longo do tempo de armazenamento a 3°C, 6°C e 10°C e tratamento térmico 74°C/17,5 s para a 1ª repetição.

| Dia de análise | Leite 3°C | | Leite 6°C | | Leite 10°C | |
|----------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|
| | Coliformes totais (NMP/mL) | Coliformes fecais (NMP/mL) | Coliformes totais (NMP/mL) | Coliformes fecais (NMP/mL) | Coliformes totais (NMP/mL) | Coliformes fecais (NMP/mL) |
| zero | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 |
| 2 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 |
| 6 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 |
| 8 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 |
| 10 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 |
| 13 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 |
| 15 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 |
| 17 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 |
| 20 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 |
| 24 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 |

Tabela 6 - Contagens de coliformes totais e fecais ao longo do tempo de armazenamento a 3°C, 6°C e 10°C e tratamento térmico 74°C/17,5 s para a 2ª repetição.

| Dia de análise | Leite 3°C | | Leite 6°C | | Leite 10°C | |
|----------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|
| | Coliformes totais (NMP/mL) | Coliformes fecais (NMP/mL) | Coliformes totais (NMP/mL) | Coliformes fecais (NMP/mL) | Coliformes totais (NMP/mL) | Coliformes fecais (NMP/mL) |
| zero | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 |
| 2 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 |
| 6 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 |
| 8 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 |
| 10 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 |
| 13 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 |
| 15 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 |
| 17 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 |
| 20 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 |
| 24 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 |

Pelos resultados de contagem de microrganismos aeróbios mesófilos, microrganismos psicrotóxicos e *Bacillus cereus* observados pode-se concluir que o leite armazenado na temperatura de 10°C mostrou-se insatisfatório do ponto de vista qualidade e sem garantia de um produto seguro para o consumidor. Esses dados confirmam os resultados de vários trabalhos (Schmidt et al. 1989; Cromie, 1991; Vatne et al. 1991 e Hoffmann et al. 1996) onde destacam que a temperatura de armazenamento é um ponto importante a ser considerado para a obtenção de um leite de vida estendida.

Para as temperaturas de armazenamento 3°C e 6°C, pode-se observar que os leites se mantiveram em condições de consumo como um alimento seguro sob o ponto de vista microbiológico com até 24 dias de vida de prateleira.

Os resultados dos processamentos com o tratamento térmico de 82°C/10 s podem ser observados na Tabela 7 e Figuras 3 e 4.

Tabela 7 - Determinações físico-químicas, bioquímicas e microbiológicas do leite de vida de prateleira estendida para o tratamento térmico 82°C/10 s nas duas repetições (*).

| Determinações | 1ª repetição | 2ª repetição |
|---------------------------------------|-----------------------|------------------------|
| pH | 6,78 | 6,78 |
| Acidez (% ácido láctico) | 0,15 | 0,15 |
| Fosfatase | Negativo | Negativo |
| Peroxidase | Negativo | Negativo |
| Contagem de mesófilos totais (UFC/mL) | 9,8 X 10 ¹ | 5,00 X 10 ¹ |
| Coliformes totais (NMP/mL) | < 0,03 | < 0,03 |
| Coliformes fecais (NMP/mL) | < 0,03 | < 0,03 |
| Contagem de psicrotóxicos (UFC/mL) | < 10 | < 10 |
| Salmonella (em 25 mL) | ausente | ausente |
| <i>Bacillus cereus</i> (UFC/mL) | < 10 | < 10 |

(*)- Determinações realizadas nos dias dos processamentos

A Tabela 7 apresenta os resultados das análises realizadas para os leites recém pasteurizados nos dias de processo nas duas repetições, onde pode-se destacar que os leites apresentaram contagens totais de mesófilos de 9,8 X 10¹ UFC/mL e 5,0 X 10¹ UFC/mL para as duas repetições e para os demais parâmetros analisados os leites apresentaram-se dentro de padrões esperados e preconizados pela legislação brasileira.

A Figura 3 apresenta os valores médios para as contagens de microrganismos aeróbios mesófilos ao longo do tempo de armazenamento para os dois processos realizados, onde verifica-se que para a temperatura de armazenamento de 10°C, a fase-lag foi de apenas dois dias de vida de prateleira, enquanto que para as temperaturas de armazenamento de 3°C e 6°C foi de 8 dias de vida de prateleira.

Para o leite armazenado a 10°C após dois dias de armazenamento ocorreu um grande crescimento de microrganismos aeróbios e ao final de 7 dias o leite alcançou contagens acima de $8,0 \times 10^4$ UFC/mL, enquanto que para os leites armazenados a 3°C e 6°C as contagens totais não alcançaram contagens de $8,0 \times 10^4$ UFC/mL nem com 24 dias de armazenamento.

A Figura 4 apresenta as curvas de crescimento dos microrganismos psicrotróficos. Para a temperatura de armazenamento de 10°C após 2 dias de armazenamento apresentou contagens de $6,3 \times 10^3$ UFC/mL, enquanto que para as demais temperaturas o crescimento e aparecimento dos microrganismos psicrotróficos somente ocorreu a partir de 13 dias de armazenamento. Ao final de 24 dias esses valores estavam com contagens de $2,8 \times 10^4$ UFC/mL e $2,6 \times 10^4$ UFC/mL para os leites 3°C e 6°C, respectivamente.

Ao comparar-se as figuras 3 e 4 verifica-se que somente após o crescimento dos microrganismos psicrotróficos é que ocorreu um maior crescimento da flora mesófila para os leites 3°C e 6°C.

O leite armazenado a 10°C apresentou contagens de psicrotróficos de $1,05 \times 10^8$ UFC/mL após 17 dias de vida de prateleira. Essa contagem é considerada muito alta, pois a esse nível de contaminantes psicrotróficos o leite já apresenta modificações organolépticas devido à produção de enzimas lípases e proteases que degradam o leite (Ledford, 1983; Johns, 1971; Mikolajcik, 1979; Patel, 1972; Punch et al., 1966).

Os leites armazenados a 3°C e 6°C, após 24 dias, atingiram contagens de $2,3 \times 10^4$ UFC/mL e $1,6 \times 10^4$ UFC/mL respectivamente.

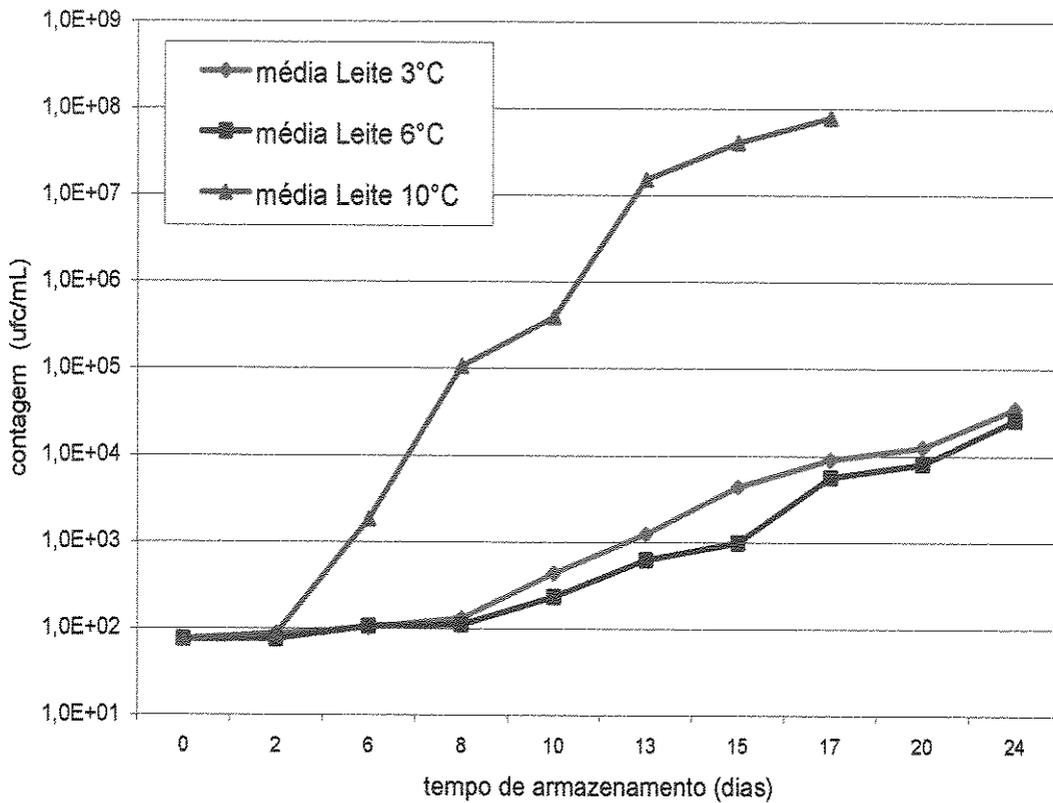


Figura 3 - Contagem média de mesófilos aeróbios para o tratamento térmico de 82°C/10 s à diferentes temperaturas de armazenamento

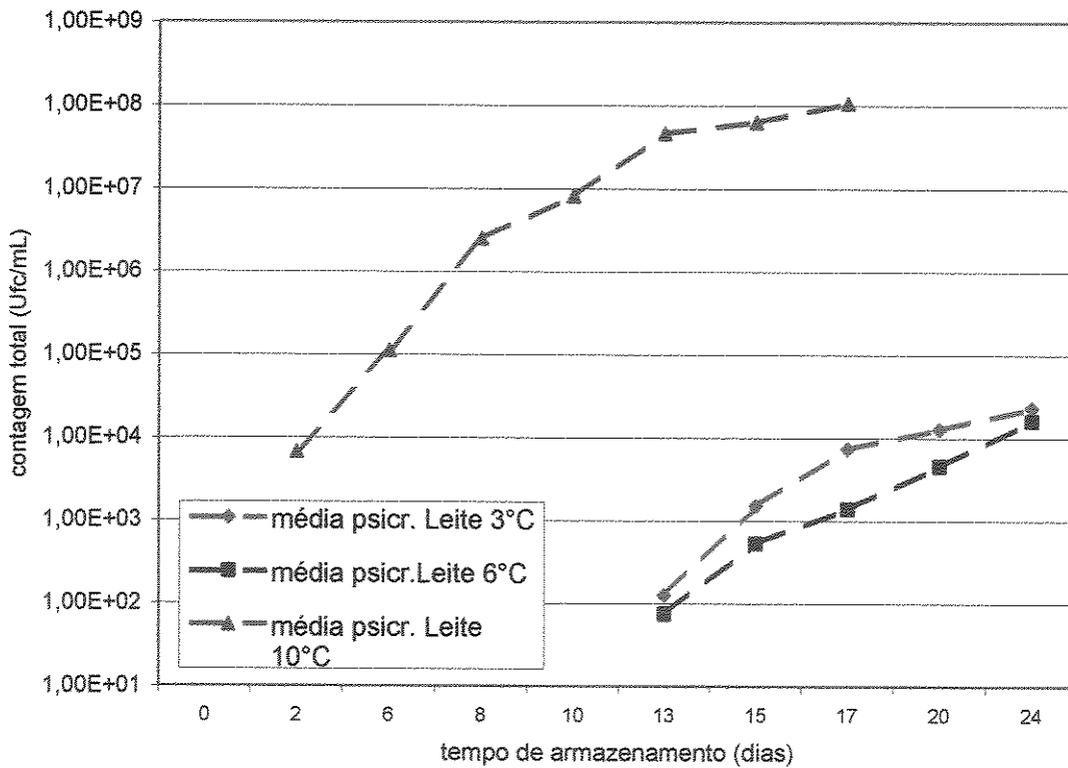


Figura 4 - Contagem média de microrganismos psicrotróficos para o tratamento térmico de 82°C/10 s à diferentes temperaturas de armazenamento

Tabela 8 - Contagens de *Bacillus cereus* ao longo do tempo de armazenamento a 3°C, 6°C e 10°C e tratamento térmico 82°C/10 s.

| Dia de análise | Leite 3°C | | Leite 6°C | | Leite 10°C | | Média |
|----------------|--------------|--------------|--------------|--------------|-----------------------|-----------------------|------------------------|
| | 1ª repetição | 2ª repetição | 1ª repetição | 2ª repetição | 1ª repetição | 2ª repetição | |
| zero | < 10 | < 10 | < 10 | < 10 | < 10 | < 10 | < 10 |
| 8 | < 10 | < 10 | < 10 | < 10 | 6,1 X 10 ³ | 5,8 X 10 ³ | 5,95 X 10 ³ |
| 17 | NR* | NR* | NR* | NR* | 8,4 X 10 ⁴ | 1,8 X 10 ⁴ | 5,10 X 10 ⁴ |
| 24 | < 10 | < 10 | < 10 | < 10 | NR* | NR* | NR* |

*NR = não realizada

A Tabela 8 apresenta o crescimento de *Bacillus cereus*. O mesmo somente se desenvolveu em leites armazenados a 10°C, com contagens médias de 5,95 X 10³ UFC/mL em apenas oito dias de armazenamento e alcançando 5,2 X 10⁴ UFC/mL ao final de 17 dias. Para os demais leites não foi observado o desenvolvimento de *Bacillus cereus* ao longo da vida de prateleira.

O leite tratado a 82°C/10 s nas duas repetições também não apresentou presença de coliformes totais e fecais, confirmando que os processos se realizaram dentro dos padrões de higiene e sanitização esperados para a produção de um leite de vida estendida (Tabelas 9 e 10).

Pode-se observar que os leites tratados termicamente nas temperaturas de 74°C/17,5 s e 82°C/10 s para as três temperaturas de armazenamento apresentaram comportamentos semelhantes, embora as contagens totais de mesófilos e psicrotóxicos ficaram em geral um ciclo logarítmico abaixo para os leites processados a 82°C/10 segundos.

Tabela 9 - Contagens de coliformes totais e fecais ao longo do tempo de armazenamento a 3°C, 6°C e 10°C e tratamento térmico 82°C/10 s para a 1ª repetição.

| Dia de análise | Leite 3°C | | Leite 6°C | | Leite 10°C | |
|----------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|
| | Coliformes totais (NMP/mL) | Coliformes fecais (NMP/mL) | Coliformes totais (NMP/mL) | Coliformes fecais (NMP/mL) | Coliformes totais (NMP/mL) | Coliformes fecais (NMP/mL) |
| zero | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 |
| 2 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 |
| 6 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 |
| 8 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 |
| 10 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 |
| 13 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 |
| 15 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 |
| 17 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 |
| 20 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 |
| 24 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 |

Tabela 10 - Contagens de coliformes totais e fecais ao longo do tempo de armazenamento a 3°C, 6°C e 10°C e tratamento térmico 82°C/10 s para a 2ª repetição.

| Dia de análise | Leite 3°C | | Leite 6°C | | Leite 10°C | |
|----------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|
| | Coliformes totais (NMP/mL) | Coliformes fecais (NMP/mL) | Coliformes totais (NMP/mL) | Coliformes fecais (NMP/mL) | Coliformes totais (NMP/mL) | Coliformes fecais (NMP/mL) |
| zero | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 |
| 2 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 |
| 6 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 |
| 8 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 |
| 10 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 |
| 13 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 |
| 15 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 |
| 17 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 |
| 20 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 |
| 24 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 | <0,03 |

Pode-se concluir que ambos tratamentos térmicos (72°C/17,5 s e 82°C/10 s) apresentaram resultados satisfatórios obtendo-se um leite ESL com aproximadamente 15 dias de vida útil, para os leites armazenados as temperaturas de 3°C e 6°C e resultados não satisfatórios para os leites armazenados a temperatura de 10°C.

Esses resultados confirmam que a temperatura de armazenamento é um ponto muito importante a se considerar quando falamos da produção de um leite ESL (Schmidt et al. 1989; Cromie, 1991; Vatne et al. 1991 e Hoffmann et al. 1996).

Observa-se ainda que a temperatura de armazenamento de 10°C foi fator determinante para o crescimento dos *Bacillus cereus* nos dois tratamentos térmicos utilizados.

Foram realizados ainda nesse trabalho análises de fosfatase residual, fosfatase reativável e fosfatase microbiana ao longo do tempo de armazenamento para os dois tratamentos térmicos nas três temperaturas de estocagem Tabelas 11 e 12.

Tabela 11 – Determinação de fosfatase reativável e microbiana ao longo do tempo de armazenamento para o leite ESL produzido pelo tratamento térmico de 74°C/17,5 s

| Dia de análise | Tipo de Fosfatase | 1ª repetição | | | 2ª repetição | | |
|----------------|-------------------|--------------|-----------|------------|--------------|-----------|------------|
| | | Leite 3°C | Leite 6°C | Leite 10°C | Leite 3°C | Leite 6°C | Leite 10°C |
| zero | reativável | neg. | neg. | neg. | neg. | neg. | neg. |
| | microbiana | neg. | neg. | neg. | neg. | neg. | neg. |
| 6 | reativável | neg. | neg. | neg. | neg. | neg. | neg. |
| | microbiana | neg. | neg. | neg. | neg. | neg. | neg. |
| 12 | reativável | neg. | neg. | neg. | neg. | neg. | neg. |
| | microbiana | neg. | neg. | neg. | neg. | neg. | neg. |
| 18 | reativável | neg. | neg. | neg. | neg. | neg. | neg. |
| | microbiana | neg. | neg. | neg. | neg. | neg. | neg. |
| 24 | reativável | neg. | neg. | NR* | neg. | neg. | NR* |
| | microbiana | neg. | neg. | NR* | neg. | neg. | NR* |

neg. = negativo; *NR = não realizada

Tabela 12 - Determinação de fosfatase reativável e microbiana ao longo do tempo de armazenamento para o leite ESL produzido pelo tratamento térmico de 82°C/10 s

| Dia de análise | Tipo de Fosfatase | 1ª repetição | | | 2ª repetição | | |
|----------------|-------------------|--------------|-----------|------------|--------------|-----------|------------|
| | | Leite 3°C | Leite 6°C | Leite 10°C | Leite 3°C | Leite 6°C | Leite 10°C |
| zero | reativável | neg. | neg. | neg. | neg. | neg. | neg. |
| | microbiana | neg. | neg. | neg. | neg. | neg. | neg. |
| 6 | reativável | neg. | neg. | neg. | neg. | neg. | neg. |
| | microbiana | neg. | neg. | neg. | neg. | neg. | neg. |
| 12 | reativável | neg. | neg. | neg. | neg. | neg. | neg. |
| | microbiana | neg. | neg. | neg. | neg. | neg. | neg. |
| 18 | reativável | neg. | neg. | neg. | neg. | neg. | neg. |
| | microbiana | neg. | neg. | neg. | neg. | neg. | neg. |
| 24 | reativável | neg. | neg. | NR* | neg. | neg. | NR* |
| | microbiana | neg. | neg. | NR* | neg. | neg. | NR* |

neg. = negativo; *NR = não realizada

Todos os resultados de fosfatase reativável e microbiana foram negativos e pode-se concluir que mesmo com altas contagens de microrganismos psicotróficos, como para os leites armazenados a temperatura de 10°C, não ocorreu a presença de fosfatase microbiana. Segundo autores como Knight et al. (1989) e Cousin (1982) a produção de enzima fosfatase microbiana só ocorre a partir de contagens de microrganismos psicotróficos maiores que 10^7 UFC/mL.

No presente estudo quando os leites ESL produzidos atingiram valores de 10^7 UFC/mL, foram considerados impróprios para consumo, não somente pelas altas contagens microbianas, mas também pela acidez elevada e sabor alterado (observações pessoais) e, portanto não foram realizadas as análises de fosfatase reativável e microbiana. Os leites armazenados a 3°C e 6°C, nos dois tratamentos térmicos não atingiram contagens de microrganismos psicotróficos maiores que 10^5 UFC/mL, valor menor que o considerado

pela literatura internacional para a produção da enzima fosfatase microbiana (Knight et al., 1989; Cousin, 1982).

As Tabelas 13 e 14 apresentam os resultados das análises sensoriais realizadas por um provador treinado, segundo metodologia de Nelson et al. (1964), para avaliação de sabor e aroma de leites, para os dois processamentos realizados. As análises sensoriais foram realizadas somente para as temperaturas de armazenamento de 3°C e 6°C.

Tabela13 - Classificação sensorial do leite de vida de prateleira estendida produzido na primeira repetição

| Nota e classificação | | | | |
|----------------------|----------------------------|------------------------------|----------------------------|------------------------------|
| Dia de análise | Leite 3°C | | Leite 6°C | |
| | Trat. Térmico 82°C/10 s | Trat. térmico 74°C/17,5 s | Trat. térmico 82°C/10 s | Trat. térmico 74°C/17,5 s |
| Zero | 40,0 / bom | 40,0 / bom | 39,5 / bom | 40,0 / bom |
| 2 | 39,5 / bom | 40,0 / bom | 39,5 / bom | 40,0 / bom |
| 4 | 39,5 / bom | 39,5 / bom | 39,5 / bom | 40,0 / bom |
| 7 | 39,0 / bom | 39,5 / bom | 38,5 / bom | 39,5 / bom |
| 10 | 39,0 / bom | 39,0 / bom | 39,5 / bom | 39,0 / bom |
| 12 | 39,0 / bom | 39,0 / bom | 39,0 / bom | 39,0 / bom |
| 15 | 39,0 / bom | 39,0 / bom | 39,0 / bom | 39,0 / bom |
| % bom | 100% | 100% | 100% | 100% |
| % reg. | - | - | - | - |
| % pobre | - | - | - | - |

Obs.: Reg. :regular

Os leites produzidos na 1 repetição apresentaram-se com boas condições de consumo, com a classificação "bom" segundo a escala sugerida por Nelson et al. (1964), para as duas temperaturas de armazenamento, com 15 dias de vida útil, período no qual o leite foi avaliado sensorialmente (Tabela 13).

Os leites produzidos na segunda repetição apresentaram a classificação "bom" com até 15 dias de vida útil para as amostras armazenadas a 3°C e classificação "regular" para

aqueles armazenados a 6°C, apresentando-se sensorialmente em condições de consumo sem alterações de sabor marcantes (Tabela 14).

Tabela 14 - Classificação sensorial do leite de vida de prateleira estendida produzido na segunda repetição

| Nota e classificação | | | | |
|----------------------|----------------------------|------------------------------|----------------------------|------------------------------|
| Dia de análise | Leite 3°C | | Leite 6°C | |
| | Trat. Térmico 82°C/10 s | Trat. térmico 74°C/17,5 s | Trat. térmico 82°C/10 s | Trat. térmico 74°C/17,5 s |
| 1 | 40,0 / bom | 38,0 / bom | 38,5 / bom | 38,0 / bom |
| 3 | 36,5 / regular | 36,5 / regular | 39,5 / bom | 38,0 / bom |
| 6 | 38,0 / bom | 38,5 / bom | 38,5 / bom | 37,0 / regular |
| 9 | 40,0 / bom | 38,0 / bom | 38,0 / bom | 36,0 / regular |
| 13 | 39,0 / bom | 38,0 / bom | 39,5 / bom | 38,0 / bom |
| 15 | 39,5 / bom | 38,0 / bom | 36,5 / regular | 37,5 / regular |
| 17 | 39,5 / bom | 34,0 / pobre | 37,5 / regular | 35,0 / pobre |
| 20 | 39,0 / bom | 38,0 / bom | 38,5 / bom | 35,0 / pobre |
| 27 | 39,0 / bom | 35,0 / pobre | 35,5 / pobre | 35,0 / pobre |
| % bom | 88,89 | 66,67 | 66,67 | 33,33 |
| % reg. | 11,11 | 11,11 | 22,22 | 33,33 |
| % pobre | - | 22,22 | 11,11 | 33,34 |

Obs.: Reg. : regular

Conclusões

Leites de vida de prateleira estendida armazenados a temperaturas de 3 e 6°C processados tanto a 74°C/17,5 s e 82°C/10s apresentam uma vida útil de 24 dias.

Leite de vida de prateleira estendida armazenados a 10°C apresentaram uma vida útil de 5 a 6 dias.

Os leites tratados termicamente a 74°C/17,5 s e 82°C/10 s armazenados a temperatura de 10°C apresentam desenvolvimento de microrganismo *Bacillus cereus*, a partir do oitavo dia de vida útil.

A temperatura de armazenamento de 10°C foi fator determinante para o crescimento de *Bacillus cereus* nos tratamentos térmicos a 74°C/17,5 s e 82°C/10 s.

Um estudo mais detalhado de identificação e da ação dos microrganismos psicrotróficos em leites pasteurizados faz-se necessário para se verificar qual a real interferência desse tipo de microrganismo na vida útil de leites armazenados sob refrigeração.

Referências Bibliográficas

- ABREU, L. F.. **Avaliação de processo de sanificação química de garrafas plásticas para sistemas assépticos**. Campinas, 2001, 117p. Dissertação (Mestre em Tecnologia de Alimentos), Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP).
- AIRES, G. S. B.. **Treinamento de um Painel de Estudantes para Julgamento de Qualidade Sensorial de Leite Fluido**. Campinas, 2002, 149 p.. Dissertação (Mestre em Tecnologia de Alimentos), Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP).
- ALMEIDA, A.A. **Microrganismos psicrotróficos em leite e derivados**. Indústria de Laticínios, Jan/Fev., 51 a 53, 1999.
- ALMEIDA, A. A. P.. **Microrganismos psicrotróficos em leite e derivados**. Revista do Instituto de Laticínios "Cândido Tostes", Juiz de Fora, 304 (54), 184-196, 1998.
- ALMEIDA, A. A. P. & FURTADO FILHO, J.. **Microrganismos psicrotróficos em leite**. Revista do Instituto de Laticínios "Cândido Tostes", Juiz de Fora, 287 (48), 36-40, 1993.
- ANDERSSON, A.; RONNER, U.; GRANUM, P. E.. **What problems does the Food Industry have with the Spore-Forming Pathogens *Bacillus cereus* and *Clostridium perfringens*?** International Journal of Food Microbiology, 28 (2), 145-155, 1995.
- BISHOP, J. R.; WHITE, C. H.. **Assessment of Dairy Product Quality and Potential Shelf-Life – A review**. Journal of Food Protection 49 (9): 739-753, 1986.
- BLAKE, M. R.. **Microbiological and Sensory Effects of Processing Milk for Extended Shelf Life and The Development of Rapid methods to Quantitative Spores and Lipase Activity**. Logam Utah, 1996, 117 p. Dissertação (Doctor of Philosophy in Nutrition and Food Sciences), Utah State University.
- BLAKE, M. R.; WEIMER, B. C.; MCMAHON, D. J.; SAVELLO, P. A.. **Sensory and Microbial Quality of Milk Processed for Extended Shelf Life by Direct Steam Injection**. Journal of Food Protection, 58 (9): 1007-1013, 1995.
- BORGES, S. F.. **Qualidade do Leite Pasteurizado no Comércio Varejista na Região de Campinas - SP**. Tese mestrado da Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas, 60p. 1987.

- BORGES, V. R. M.; RODRIGUES, R.; RUBINICH, J.. **Comparasion of the Quality of two Types of Milk at Two Sources in Belo Horizonte, Brazil market.** Journal of Food Protection, 41 (9): 739-742, 1978.
- BRASIL, MINISTÉRIO DA AGRICULTURA. Departamento Nacional de Inspeção Federal de Produtos de Origem Animal. **Decreto nº2244.** Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 05 junho 1997, Seção1, p.11.555.
- BRASIL, MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Divisão de Inspeção de Leite e Derivados. **Normas Higiénico Sanitárias e Tecnológicas para Leite e Produtos Lácteos.** Serviço de Inspeção Federal. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 02 maio 2003, Seção1, nº83, p.3-25.
- BRASIL, MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO Secretaria da Defesa Agropecuária, -SDA/MAPA. **Instrução Normativa Nº51.** Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 20 set., Seção1, n 183, p.13-22.
- BRASIL, MINISTÉRIO DA JUSTIÇA. Secretaria do Direito Econômico e do Departamento de Proteção e Defesa do Consumidor. **Código de Defesa do Consumidor - Lei 8078/90.** Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF 11 set. 1990.
- BURTON, H.. **Monograph on Pasteurized Milk-Microbiological Aspects. Extended Shelf Life.** Bulletin International Dairy Federation nº200: 9-14, 1986.
- BUSANI, S. F. B.; OLIVEIRA, J. S. de. **Leite Pasteurizado - Sua qualidade desde a Fonte de Produção.** Coletânea do ITAL, Campinas, 19 (2): 113-120, 1989.
- CARDOSO, A. L. de M P.. **Ocorrência, multiplicação e produção de Toxina diarréica por cepas de mesófilas e psicrotróficas de Bacillus cereus, em leite pasteurizado.** Campinas, 2000, 95 p.. Dissertação (Doutor em Tecnologia de Alimentos), Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP).
- CARUSO, J. G.B.; OLIVEIRA, A. J. de. **Leite: Obtenção, Controle de Qualidade e Processamento.** Piracicaba: Depto de Tecnologia Rural, ESALQ/USP, 1-45. 1983.
- COLLINS, E. B.. **Heat resistant Psychrotrophic microorganisms.** Journal of Dairy Science 64: 157-160, 1981.
- COMISSION DEL CODEX ALIMENTARIUS.Organizaion de las Naciones Unidas para la Agricultura e la Alimentacion. Organizacion Mundial de la Salud. **Programa Conjunto**

- FAO/OMS sobre Normas Alimentarias. Definiciones de tratamiento térmico segundo se aplica a la Leche y los productos lacteos.** Roma, abril, 1982.
- COUSIN, M. A.. **Presence and Activity of Psychrotrophic microorganisms in milk and Dairy products, a review.** Journal of Food Protection, 45 (2): 172-207, 1982.
- COUSINS, C.M.; BRAMLEY, A. J.. **The microbiology of milk, In: Dairy Microbiology- The Microbiology of Milk.** London: Elsevier Applied, 1981, p119.
- COVARRUBIAS, M. P.; HARVERBECK, J.. **Variações na Qualidade do Leite Cru fase Estábulo-Indústria.** Revista do Instituto de Laticínios "Cândido Tostes", Juiz de Fora, 33 (195): 3-12, 1978.
- CROMIE, S. J.. **Microbiological Aspects of Extended Shelf Life Products.** The Australian Journal of Dairy Technology 46 (2), 101-104, 1991.
- CROMIE, S. J.; DOMMET, T. W.; SCHMIDT, D. **Changes in the Microflora of Milk with Different Pasteurization and Storage Conditions and Aseptic Packaging.** The Australian Journal of Dairy Technology 44 (1), 74-77, 1989 a.
- CROMIE, S.J.; SCHMIDT, D.; DOMMET, T. W. **Effect of Pasteurization and Storage Conditions on the Microbiological, Chemical and Physical Quality of Aseptically Packaged Milk.** The Australian Journal of Dairy Technology 44 (1), 25-30, 1989 b.
- EDDY, B. P.. **The use of the term Psychrotrophic.** Journal of Applied Bacteriology, 23 (2), 189-190, 1986.
- FARIA, J. A. F. **Efficiency of sterilization process of plastic bottles by using liquid disinfectants.** 11th. IAPRI World Conference on Packaging, Singapore, 1999.
- FARIA, J.A.F.. **Sistema de esterilização de embalagens .** BR.Instituto Nacional de propriedade Industrial (INPI). Pedido de Patente, protocolo n°1427, 2001. 2nd ed.. AVI publishing Co., Westport, Conn., 725p, 1974.
- GOMES, F. M.; LEMOS, M. A.. **Implantação , transporte e coleta de leite a granel.** Revista do Instituto de Laticínios "Cândido Tostes", Juiz de Fora, 309 (54), 184-196, 1999.
- GRIFFITS, M. W.. **Bacillus cereus in liquid milk and other milk products.** Bulletin of the Internation Dairy Federation, n°275, 36-39, 1992.

- GRIFFITS, M. W.; PHILLIPS, J. D. and MUIR, D. D.. **The effect of sub-pasteurization heat treatments on the shelf life of milk.** Dairy Industries International 51 (5), 31-35, 1986.
- GRIFFITS, M. W.; PHILLIPS, J. D.; MUIR, D. D.. **Development of flavour defects in pasteurized double cream during storage at 6°C and 10°C.** Journal of the Society of Dairy Technology 34: 142–146, 1981.
- HALL, C. W.& TROUT, G. M.. **Milk Pasteurization.** Westport, Connecticut:The AVI Publishing Company, 234p, 1968.
- HAMMER, B. W.; HAUSER, A. J.. **Studies on uniformity of heating in the final Package of pasteurization.** The Journal of Dairy Science, 1 (6): 462-474, 1918.
- HUNN, S.; HAJDENURERCEL, J. R.; MORAES, J. M.; VARGAS, O. L.. **Qualidade Microbiológica do Leite cru Obtido por Meio de Ordenha Manual e Mecânica e a chegar à plataforma.** Revista do Instituto de Laticínios "Cândido Tostes", Juiz de Fora, 32 (209): 3-8, 1980.
- INGRAHAN, J. L.; STOKES, J. L.. **Psychrophilic bacteria.** Bacteriological Review, 23: 97, 1959.
- INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION. **Psychrotrophs in milk and milk products.** IDF E Doc 68, International Dairy Federation, Brussels, 1976.
- INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION. **Alkaline Phosphatase Test as a Measure of Correct Pasteurization,** Bulletin 262/1991, Brussels, 1991.
- JOHNS, C .K.. **Tests For Estimating Shel-Life Of Milk And Milk Products.** Journal of Milk Food Technology, 32: 301-303, 1969.
- KEEHNER, K.. **Easy Life.** Dairy Field, March, 57-60, 1994
- KIESNER, Chr., HOFFMANN,W.; CLAWIN-RÄDECKER, I.; KRUSCH, U.; NEVE, H. and BUCHHEIM, W.. **Application of Direct Heating Systems for the Production of High Pasteurized Milk.** Treatments & Alternative Methods, International Dairy Federation Symposium–Vienna (Áustria), 171-178, 1995.
- KNIGHT, A. H. & FRYER S.M.. **The development of reat-resistant phosphatase activity in raw milk.** Journal of the Society of Dairy Technology 42 (3): 81-86, 1989.
- LAMPERT, L. M.. **Modern Dairy Products.** Chemical Publishing Company, Inc.N.Y., 1975, 437p.

- LEDFOORD, R. A., SENYK, G. A. ; KOTSIDES, E.. **Growth relationships of psychrotrophs Pseudomonas and Enterobacter isolates in milk.** Journal of Dairy Science, 66 (63) (abstract), 1983.
- LEITÃO, M. F. F.. **Microbiologia de Alimentos.** In: Tratado de Microbiologia, Editora Manole, São Paulo, 3-81, 186p, 1988.
- LEITÃO, M. F. F.; TEIXEIRA, L.T.; MORI, E. E. M.. **Bactérias Termodúricas não Esporogênicas e seu Significado na Qualidade do Leite Comercial Pasteurizado.** Coletânea do Instituto de Tecnologia de Alimentos, 17 (1): 54-64, 1987.
- MARSHALL, R. T.. **Standard Methods for the Examination of Dairy Products.**16 ed. American Public Health Association, Washington, D.C., 1992, 546p.
- MEIRELES, A. J.. **Leite Paulista: História da formação de um Sistema Cooperativista no Brasil.** 1ªed. São Paulo: Cultura HMR Editores Associados Ltda, 1983.
- MIKOLAJCIK, E. M.; BRUCKER, R. B.. **Psychrotrophic Bacteria and Dairy Products Quality. 1 Major Organisms Involved And Defects Produced.** Culture Dairy Products Journal, 4: ,6-10, 1979.
- MUIR, D. D.. **The Shelf life of Dairy Products: 1. Factors influencing raw milk and fresh products.** Journal of the Society of Dairy Technology 49 (1): 24-32, 1996 a.
- MUIR, D. D.. **The Shelf life of Dairy Products: 3 . Factors influencing intermediate and long lifiedairy products.** Journal of the Society of Dairy Technology 49 (3): 67-72, 1996 b.
- MUIR, D.D.. **The microbiology of heat-trated fluid milk products.** In: Dairy Microbiology-The Microbiology of Milk. London:Elsevier Applied, 1990. V 1, cap.6, p 212.
- MUIR, D. D; KELLY, M. E.; PHILLIPS, J. D.. **The effect of storage temperature on bacterial growth and lipolysis in raw milk.** Journal of the Society of Dairy Technology 31: 203, 1978.
- MURTHY, G. K.; KLEYN, D. H.;RICHARDSON, T. & ROCCO, R.M.. **Alkaline Phosphatase Methods, In:** Standard Methods for the Examination of Dairy Products, 16 ed. American Public Health Association, Washington, D.C., 413-431, 1992.
- NAKAE, T.. **Characterization of psychrotrophic bacteria im milk by means of temperature-gradient incubation.** Milchwissenschaft, 25: 161, 1970.

- NELSON, J. A.; TROUT G.M.. **Judging Dairy Products**. 4th ed.. The Olsen Publishing CO., Milwaukee, 1964, 463 p.
- NIELSEN, W. K.. **New Methods for Food Preservation**. Treatments & Alternative Methods, International Dairy Federation Symposium–Vienna (Áustria), 240-248, 1995.
- OFFICIAL METHODS of ANALYSIS of AOAC INTERNATIONAL, 16th ed. Washington, DC, USA, 1995.
- OLIVEIRA, J. S. de.. **Qualidade Microbiológica do Leite**.. Industria Alimentar, 1: 38-40, 1976.
- OVERCAST, W. W.. **Psychrophilic microorganisms and keeping quality and its products**. Journal of Dairy Science, 51: 1336–1338, 1968.
- PATEL, G. B.; BLANKENAGEL, G.. **Bacterial counts of raw milk an flavour of the milk after pasteurization and storage**. Journal Milk Food Technology, 35: 203-206, 1972.
- PETRUS, R. R.; CORREA NETO, R. S.; FARIA, J F; GANDARA, A L. N.. **Sanificação química de garrafas plásticas**. Higiene Alimentar, 5 (80/81): 80-90, jan. 2001.
- PETRUS, R. R.; FARIA, J F.. **A Importância da Aplicação da Tecnologia de Salas Limpas na Industria de Alimentos**. Boletim SBCTA, 37 (1): 48-51, jan-jun., 2003.
- PETRUS, R. R.; FARIA, J F; DELBEN, L. A S.. **Avaliação de Conformidade das Condições Operacionais de uma Área Limpa Para Envase Asséptico**. Higiene Alimentar, 17 (112): 22-30, 2003.
- PUNCH, J. D., OLSON, J. C., THOMAS, E. L.. **Psychrophilic bacterial II Population levels associated with flavor or physcal changes im milk**. Journal of Dairy Science 48: 1179-1183, 1966.
- RHODEHAMEL. E.J.; HARMON, S. M... **Bacillus cereus In: FDA Bacteriological Analitical Manual**, 8 ed.. AOAC International Chap.14, 1401-1408, 1998.
- ROITMAN, I.; TRAVASSOS, L. R.; AZEVEDO, J. L.. **Tratado de microbiologia**. Ed.Manole, São Paulo, 1988, vol.I, 186 p.
- SALJI, J. S.; SAADI, S. R.; MASHHADI, A.. **The shelf life of Pasteurized Fresh Milk Manufactured in Saudi Arabia**. Journal of Food Products, 51 (12): 976-978, 1988.
- SANTOS, E. C.. **Controle da Eficiência da Pasteurização da leite beneficiado em Belo Horizonte**. Arq. Esc. Vet., 18: 99–104, 1966.

- SCHMIDT, D.; CROMIE, S. J.; DOMMET, T. W.. **Effect of Pasteurization and Storage Conditions on the Shelf Life and Sensory Quality of Aseptically Packaged Milk.** The Australian Journal of Dairy Technology 44 (1): 19-24, 1989.
- SHIPE, W. F.; BASSETTE, R.; DEANE, D. D.; DUNKLEY, W. L.; HAMMOND, E. G.; HARPER, W. J.; KLEYN, D. H.; MORGAN, M. E.; NELSON, J. H.; SCANLAN, R. A.. **Off-flavors in milk: Nomenclature, standards and bibliography.** Journal of Dairy Science, 61: 855, 1978.
- SILVEIRA, V. V.; SAKUMA, H.; DUARTE, M.; RODAS, M. A. B.; SARUWTARI, J. H.; CHICOUREL, E. L.. **Avaliação das Condições físico-químicas e Microbiológicas do Leite Pasteurizado na Cidade de São Paulo.** Revista do Instituto Adolfo Lutz, 49 (1): 19-25, 1989.
- SILVEIRA, I. A.; CARVALHO, E. P.; TEIXEIRA, D.. **Influência de Microrganismos Psicotróficos sobre a Qualidade do Leite Refrigerado. Uma Revisão.** Revista Higiene Alimentar, 12 (55): 21-27, 1998.
- SOUZA, M. R. de; CERQUEIRA, M. M. de O.P; SILVA A, A. N. da; RODRIGUES, R.; SAMPAIO, I. B. M.. **Pasteurização Lenta e Rápida: uma avaliação de eficiência.** Leite e Derivados, São Paulo, 29 (4): 56-65, 1996.
- STAAL, P. F. J.. **Monograph on Pasteurized Milk-Microbiological Aspects. Extended Shelf Life.** Bulletin International Dairy Federation n°200: 71-79, 1986.
- STUMBO, C. R.. **Thermobacteriology in Food Processing**, 2 ed.. Academic Press, 1973.
- SUHREN, G.. **Milk and milk products, In: Enzymes of Psychrotrophs in Raw Food**, CRC Press Inc, 4, 1989.
- THE INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS (ICMSF). MICROBIAL ECOLOGY OF FOODS - V1 Factors Affecting Life and Death of Microorganisms**, New York: Academic Press. 1980.
- VALLE do J. L. E.; TAKAHASHI, S.; KEATING, P. F.; MARTINS, J.F.P.; FIGUEIREDO, I. B.. **Comportamento do Leite Tipo "C", Esterilizado pelo Processo UHT, Acondicionado em Embalagem não Estéril e Conservado a 4°C.** Boletim Ital, 16 (1): 81-89, 1979.

- VANDERZANT, C.; SPLITTSTOESSER, D. F.. **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods**. 3ª ed.. Washington, American Public Health Association, 1992, 1219p.
- VATNE, K. B.; CASTBERG, H. B.. **Processing and Packaging Aspects of Extended Shelf Life Products**. The Australian Journal of Dairy Technology 46 (2): 98-100, 1991.
- VEISSEYRE, R.. **Lactologia tecnica: composicion, recogida, tratamiento y transformación de la leche**. Zaragoza, Acribia, 629p, 1988.
- VILLARES, J. B.. **Qualidade do leite tipo C em São Paulo**. Boletim Indústria Animal, Nova Odessa, 17: 59-81, 1959.
- WALSTRA, P.; JENNES, R.. **Química y Física Lactológica**. Zaragoza, Espana: Editorial Acribia, 1987, 423p.
- WESTHOFF, D. C.. **Heating milk for microbial destruction: A Historical Outline and Update**. Journal of Food Protection, 41 (2): 122-130, 1978.
- WITTER, L. D.. **Psychrophilic bacteria. A review**. Journal of Dairy Science, 44, 983-1015, 1961.
- ZALL, R. R., CHEN, J. H.; MURPHY, S. C.. **Estimating the number of psychrotrofs in milk using the direct microscopic method**. Culture Dairy Products Journal, 17: 24-38, 1982.
- ZADOW, J. G.. **Extending the Shelf life of dairy products**. Food Australian, 41 (9): 935-937, 1989.

Conclusão Geral

Em relação ao “Estudo comparativo entre sistemas de pasteurização rápida de leite HTST e pasteurização lenta na embalagem” pode-se concluir que:

Os leites pasteurizados no sistema de pasteurização rápida (leite HTST) e pasteurização lenta na embalagem (leite LE), em todos os processamentos apresentaram-se em condições de consumo, considerando um período de vida útil de 4 a 5 dias, quando comparado microbiologicamente ao leite tipo B utilizado como padrão.

O sistema de pasteurização na embalagem apresentou viável, com um produto com boas condições de consumo, equivalente aos processos tradicionais para pequenas capacidades de produção. A viabilidade técnica de se efetuar este tipo de pasteurização com simplicidade e segurança foi demonstrada e confirmam os resultados da literatura.

O equipamento utilizado para a pasteurização lenta na embalagem se mostrou simples em sua utilização permitindo ser operado com facilidade para pequenas produções de leite. Assim poderia se evitar que leite cru seja distribuído comercialmente, provocando sérios riscos a saúde dos consumidores.

Os microrganismos deteriorantes no primeiro processamento foram os microrganismos mesófilos aeróbicos para as duas pasteurizações.

No segundo e terceiro processamentos os microrganismos deteriorantes foram os microrganismos mesófilos aeróbicos para a pasteurização LE. Para a pasteurização HTST o desenvolvimento dos microrganismos foram iguais, quando comparados no final do tempo de armazenamento.

Em relação ao “Estudo comparativo entre matérias-primas de qualidades microbiológicas diferentes submetidas aos sistemas de pasteurização rápida "HTST" e pasteurização lenta na embalagem ” pode-se concluir que:

A pasteurização rápida (leite HTST) e pasteurização lenta na embalagem (leite LE) apresentaram-se viáveis como sistemas de pasteurização com eficiências entre 98,68 a 99,61%. A diferença de vida útil nos leites processados deveu-se a diferença de qualidade microbiológica dos leites crus.

Leite pasteurizado obtido com a matéria-prima B (leite cru B) com uma microbiota inicial mais elevada (10^6 ufc/mL) apresentou uma vida útil de três dias sob refrigeração.

Leite pasteurizado obtido com a matéria-prima A (leite cru A) com uma microbiota inicial mais baixa (10^5 ufc/mL) apresentou uma vida útil de 10 dias sob refrigeração.

Quando avaliados sensorialmente o leite pasteurizado obtido a partir de matéria-prima com microbiota inicial menor (10^5 ufc/mL), apresentou uma vida útil de três a cinco dias sob refrigeração, com uma classificação sensorial pobre.

O leite pasteurizado obtido a partir de matéria-prima com microbiota inicial mais elevada (10^6 ufc/mL), quando avaliado sensorialmente apresentou uma vida útil de 1 a 3 dias, com uma classificação sensorial pobre.

Em relação ao estudo da “Produção de Leite de Vida de Prateleira Estendida por modificação do binômio temperatura / tempo do processamento térmico e envase asséptico” pode-se concluir que:

Os melhores binômios temperatura/tempo para a produção de um leite de vida de prateleira estendida (leite ESL) foram $82^{\circ}\text{C}/10$ segundos e $74^{\circ}\text{C}/15$ segundos.

Os leites de vida de prateleira estendida produzidos com os binômios $82^{\circ}\text{C}/10$ segundos e $74^{\circ}\text{C}/15$ segundos permaneceram em boas condições de consumo com até 15 dias de vida de prateleira respectivamente quando avaliados microbiologicamente e 13 dias quando avaliados sensorialmente.

O binômio $87^{\circ}\text{C}/10$ segundos produziu um leite com apenas sete dias de vida de prateleira média.

Os principais microrganismos deteriorantes considerando o período de vida de prateleira para cada binômio temperatura / tempo em todos os processos realizados foram os microrganismos psicrotróficos.

Para a produção de um leite de vida de prateleira estendida além de modificações no binômio tempo/temperatura foi muito importante o envase asséptico para evitar contaminações pós tratamento térmico.

Em relação ao estudo da “Influência da temperatura de armazenamento na vida de prateleira de um leite de vida estendida” pode-se concluir que:

Leites de vida de prateleira estendida armazenados a temperaturas de 3 e 6°C processados tanto a $74^{\circ}\text{C}/15$ s e $82^{\circ}\text{C}/10$ s apresentaram uma vida útil de 24 dias.

Leite de vida de prateleira estendida armazenados a 10°C apresentaram uma vida útil de 5 a 6 dias.

Os leites tratados termicamente a 74°C/17,5 s e 82°C/10 s armazenados a temperatura de 10°C apresentam desenvolvimento de microrganismo *Bacillus cereus*, a partir do oitavo dia de armazenamento.

A temperatura de armazenamento de 10°C foi fator determinante para o crescimento de *Bacillus cereus* nos tratamentos térmicos a 74°C/15 s e 82°C/10 s.

Um estudo mais detalhado de identificação e da ação dos microrganismos psicrotóxicos em leites pasteurizados faz-se necessário para se verificar qual a real interferência desse tipo de microrganismo na vida útil de leites armazenados sob refrigeração.

Anexos

Gráficos – Capítulo 5

Influência da temperatura de armazenamento na vida de prateleira de um leite de vida estendida

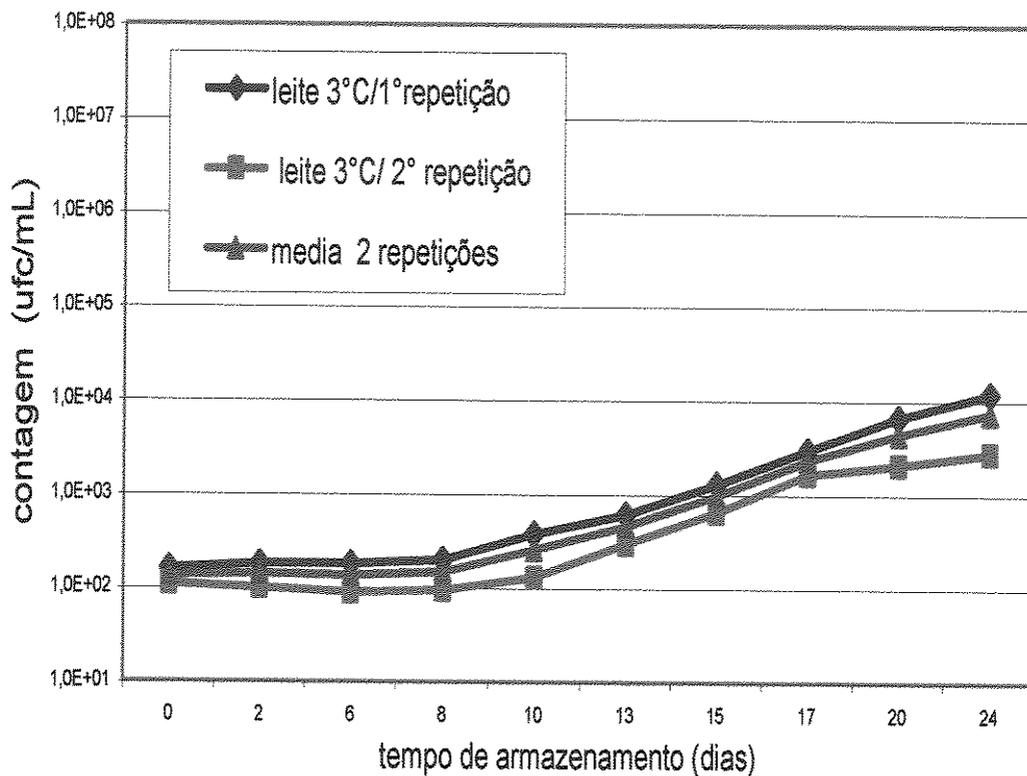


Figura 1- Contagem de mesófilos aeróbios e média para as 2 repetições do Trat. térmico de 74 °C/15 segs e Temp. de armazenamento 3°C

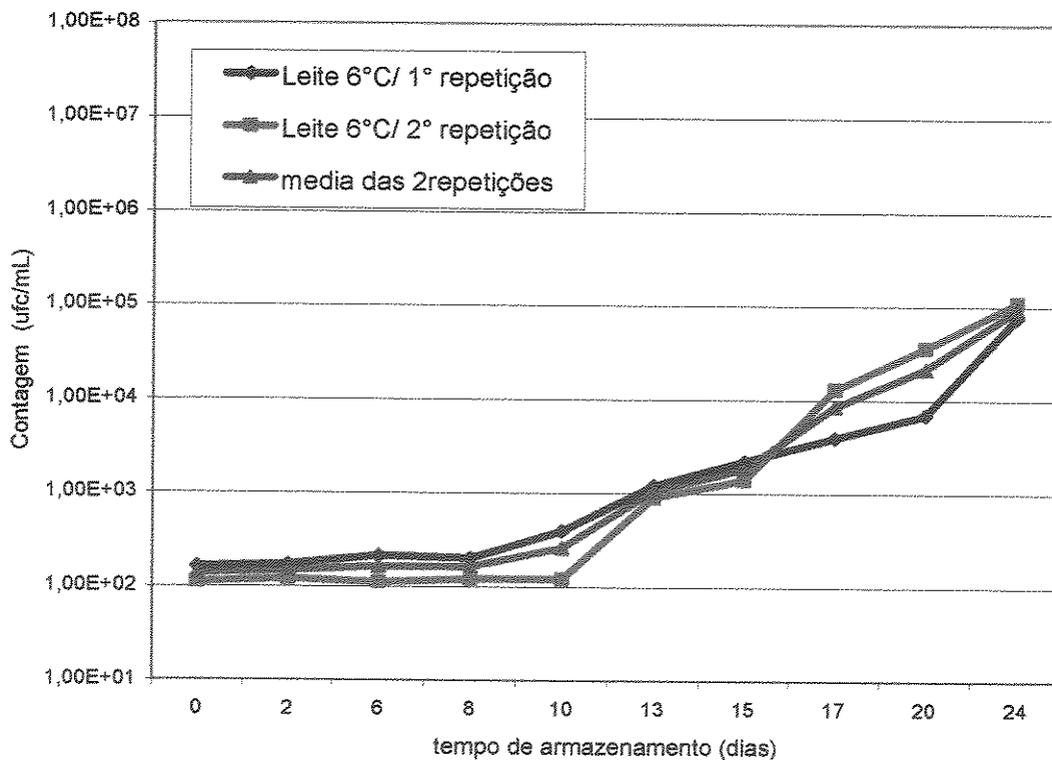


Figura 2 - Contagem de mesófilos aeróbios e média para o tratamento térmico de 74°C/17,5 s e temperatura de armazenamento 6°C, nas duas repetições

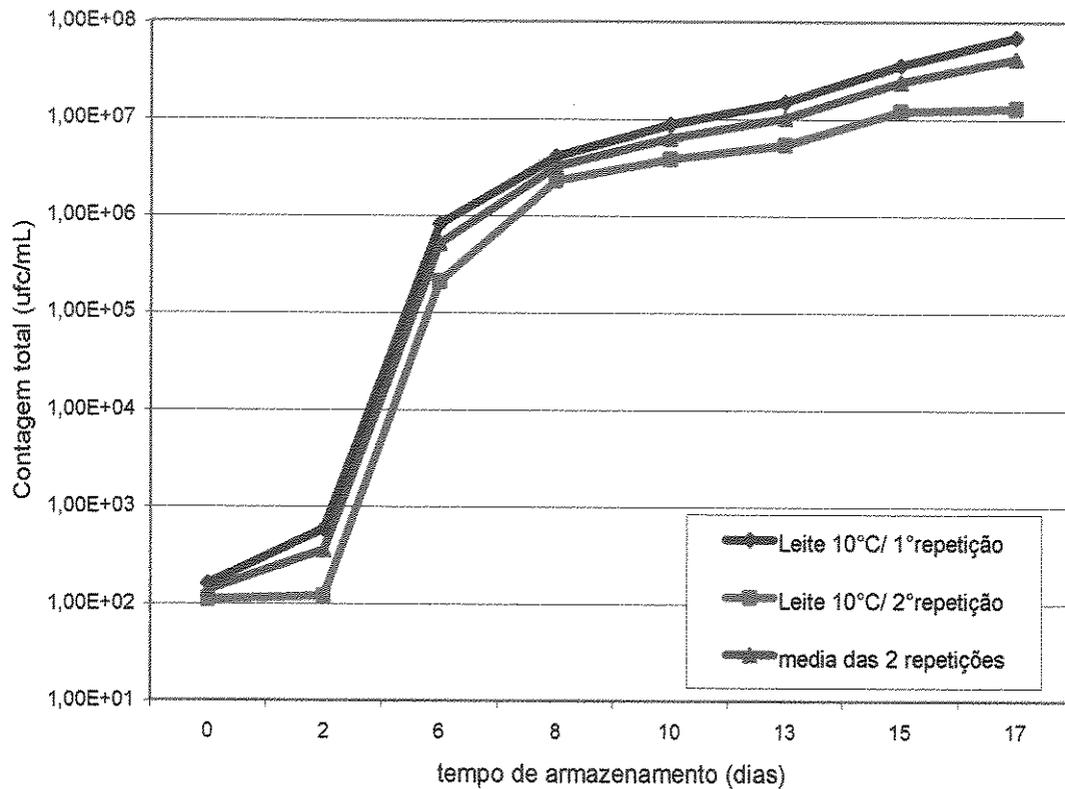


Figura 3- Contagem de mesófilos aeróbios e média para o tratamento térmico de 74°C/17,5 s e temperatura de armazenamento 10°C, nas duas repetições

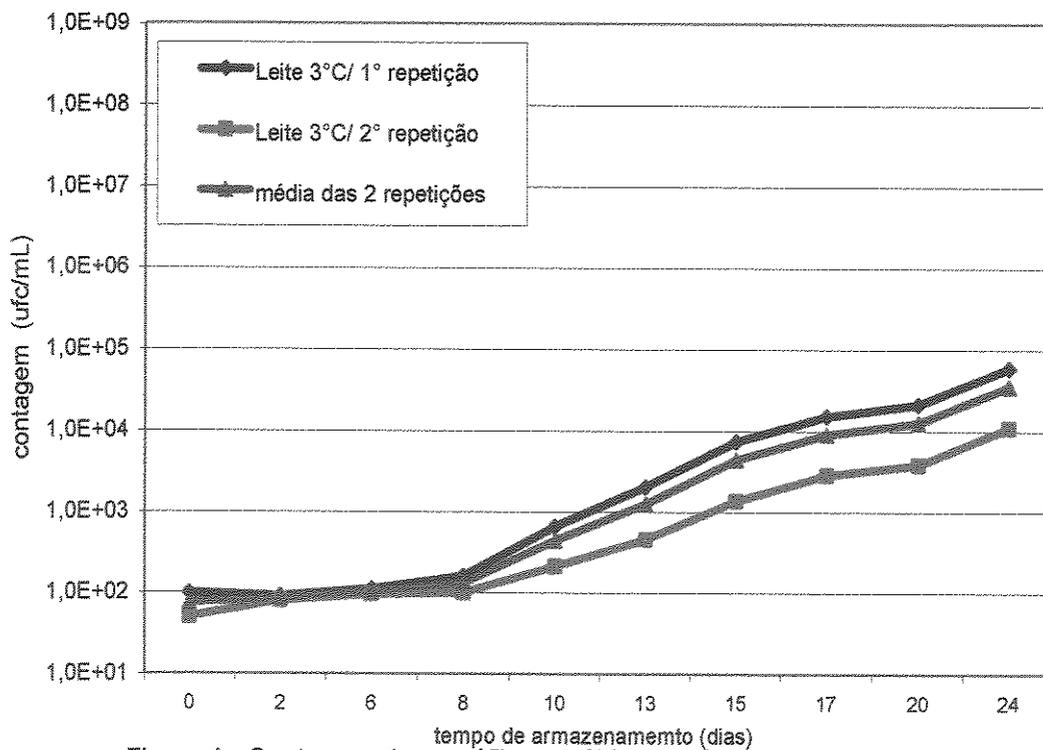


Figura 4 - Contagem de mesófilos aeróbios e média para o tratamento térmico de 82°C/10 s e temperatura de armazenamento 3°C, nas duas repetições

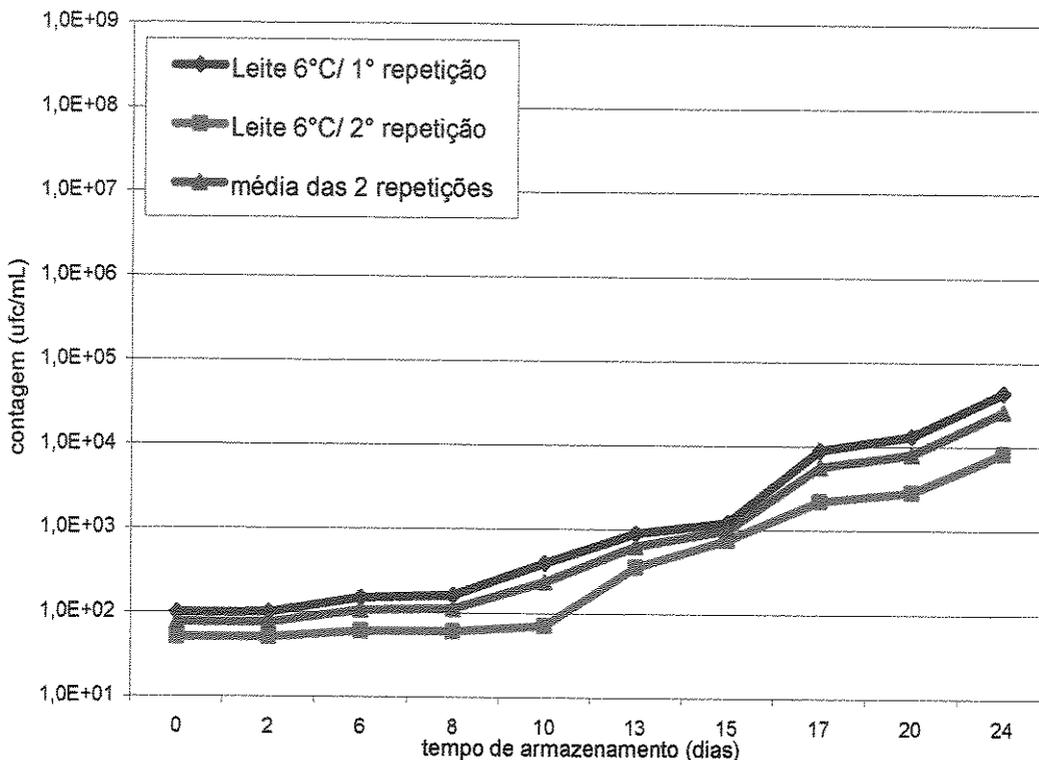


Figura 5 - Contagem de mesófilos aeróbios e média para o tratamento térmico de 82°C/10 segs e temperatura de armazenamento 6°C, nas duas repetições

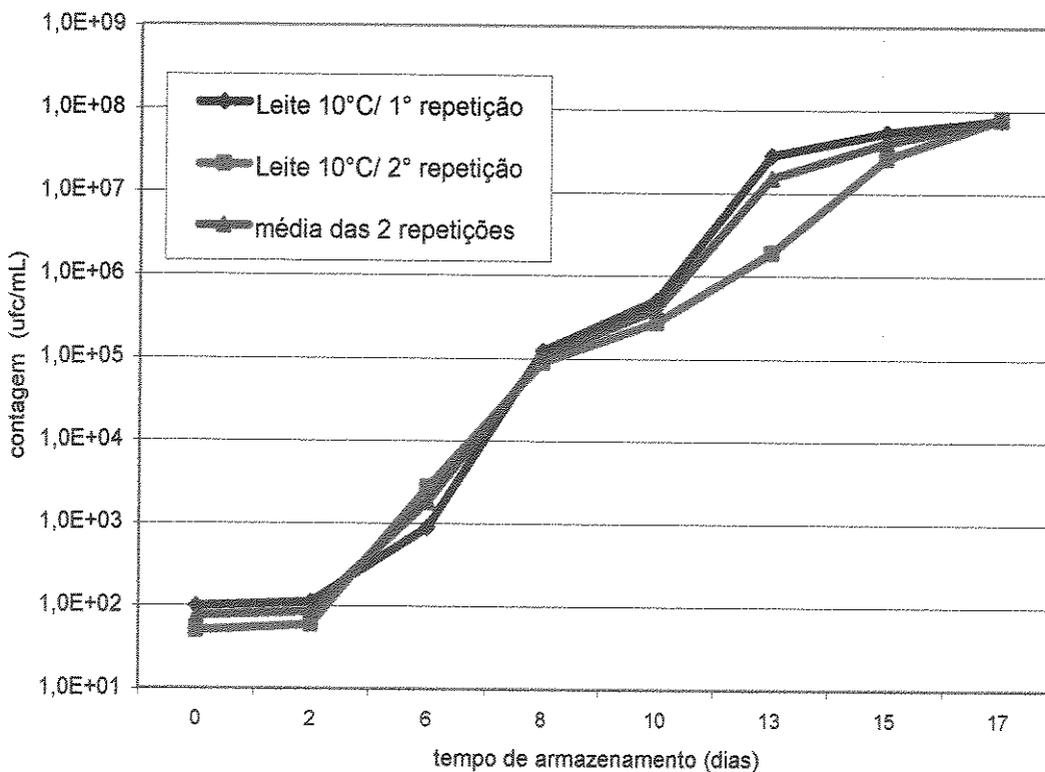


Figura 6 - Contagem total de mesófilos aeróbios e média para o tratamento térmico de 82°C/10 s e temperatura de armazenamento 10°C, nas duas repetições

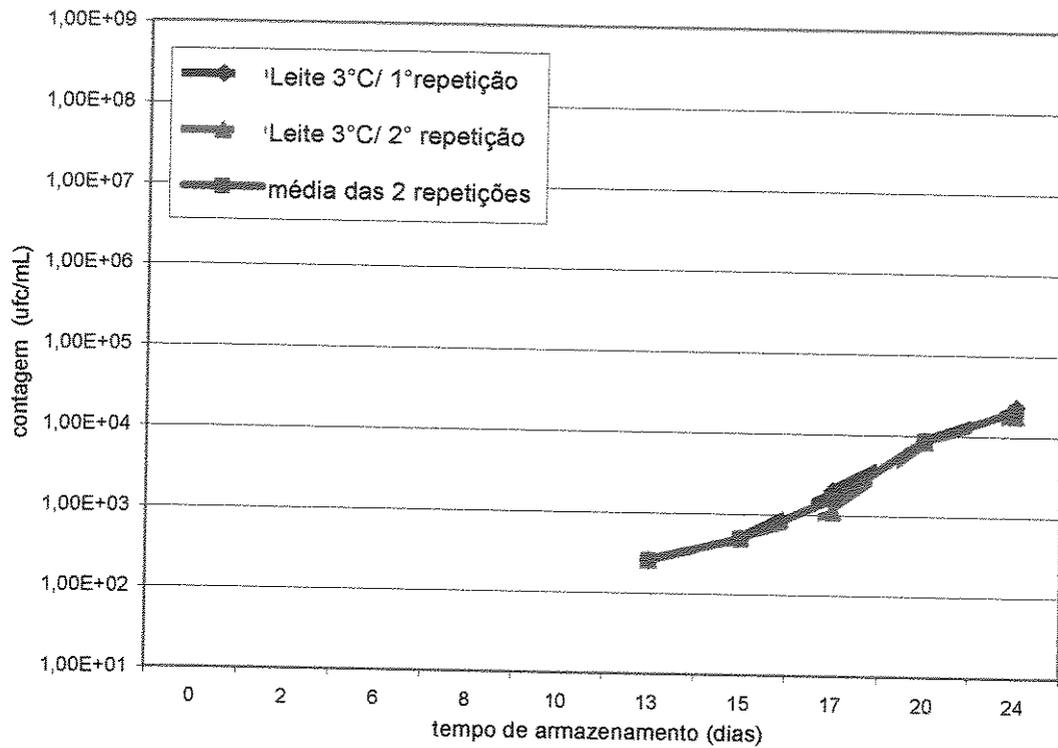


Figura 7 - Contagem de microrganismos psicrotróficos e média para o tratamento térmico de 74°C/17,5 s a temperatura de armazenamento de 3°C, nas duas repetições

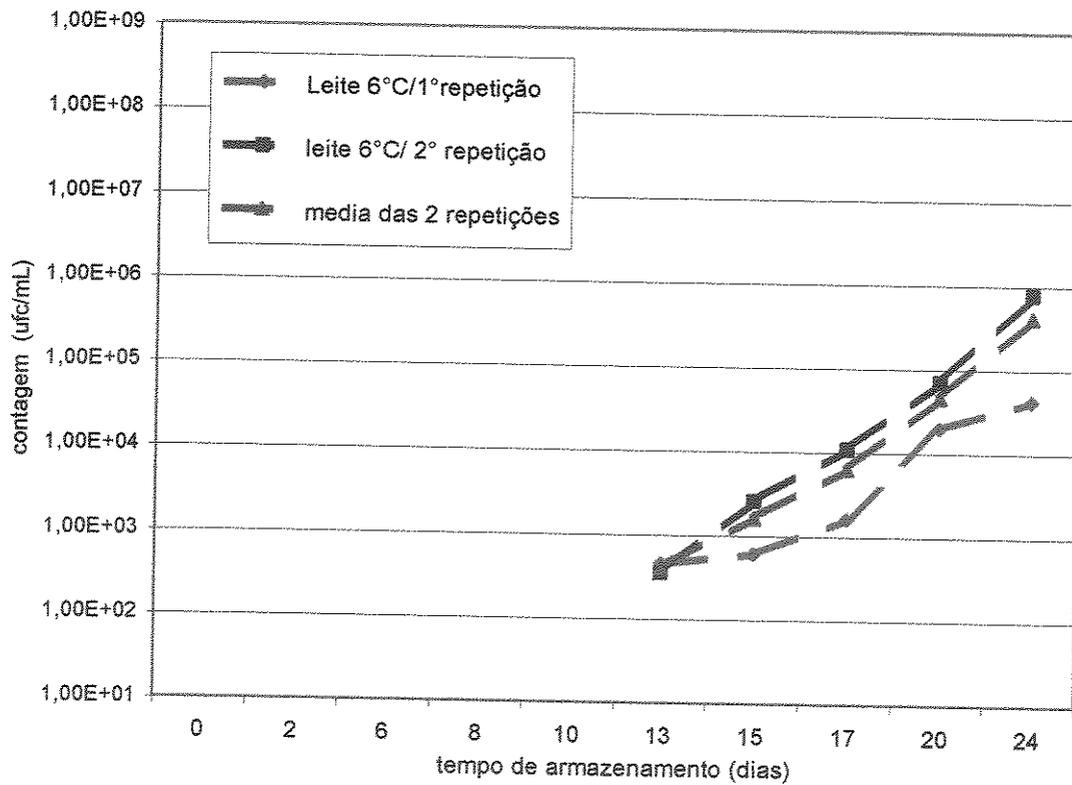


Figura 8- Contagem de microrganismos psicrotróficos e média para o tratamento térmico de 74°C/17,5 s a temperatura de armazenamento de 6°C, nas duas repetições

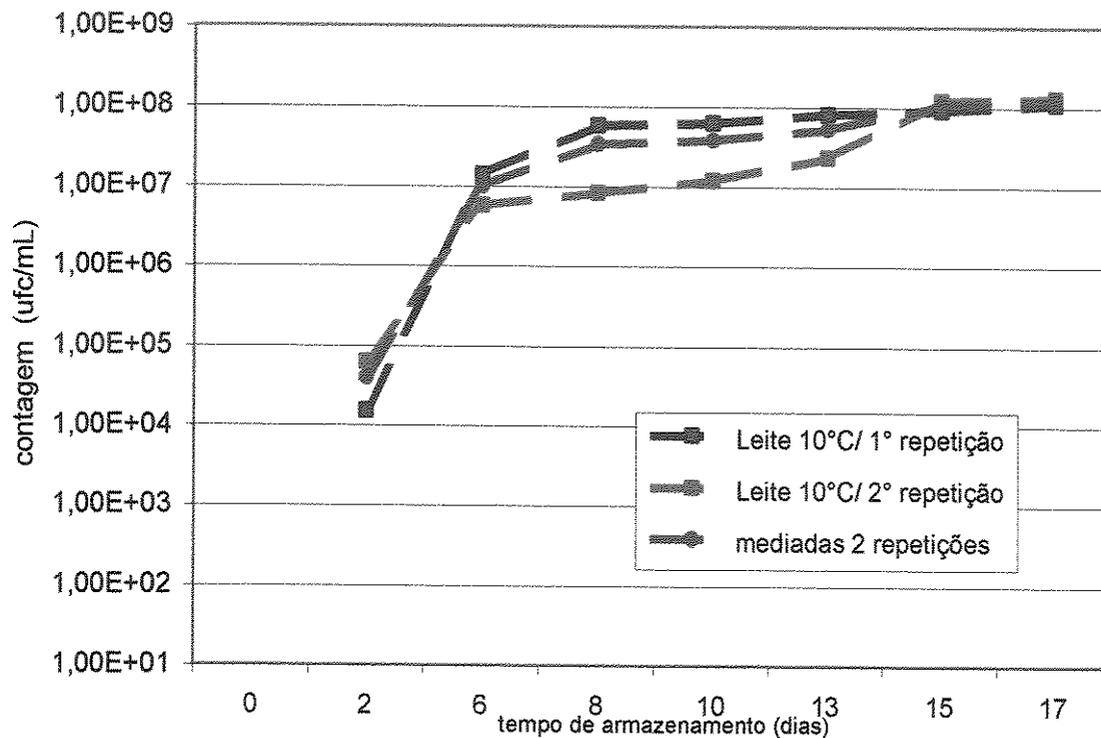


Figura 9 - Contagem de microrganismos psicrotróficos e média para o tratamento térmico de 74 °C/17,5 s a temperatura de armazenamento de 10°C, nas 2 repetições

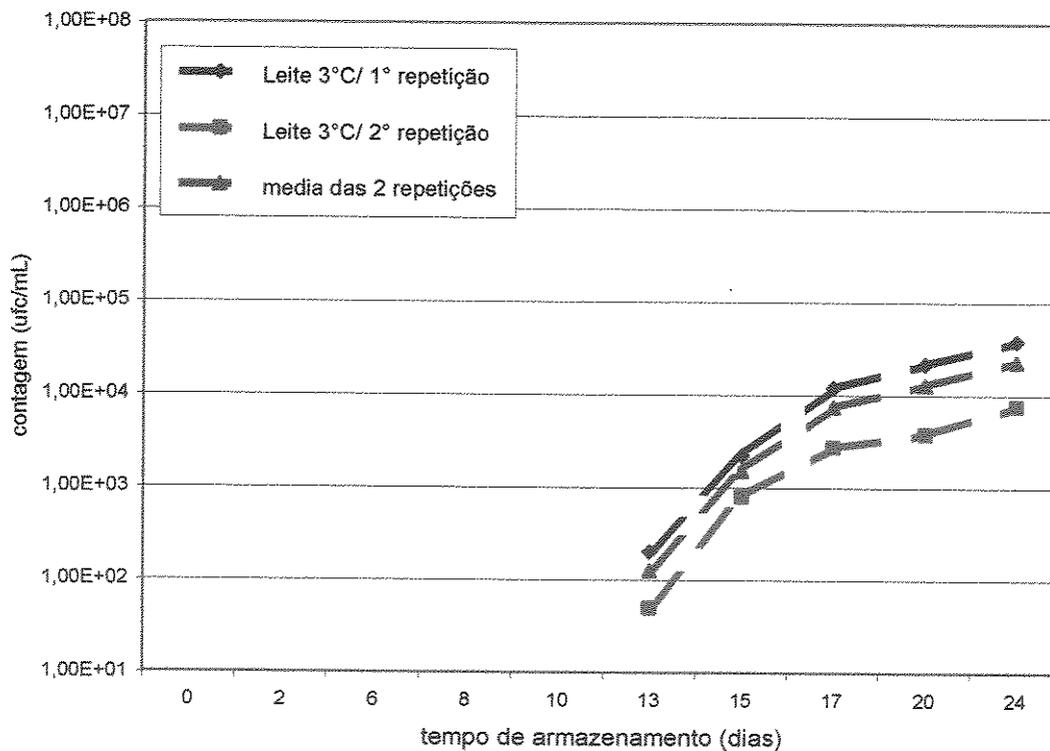


Figura 10 - Contagem de microrganismos psicrotróficos e média para o tratamento térmico de 82°C/10 s a temperatura de armazenamento de 3°C, nas duas repetições

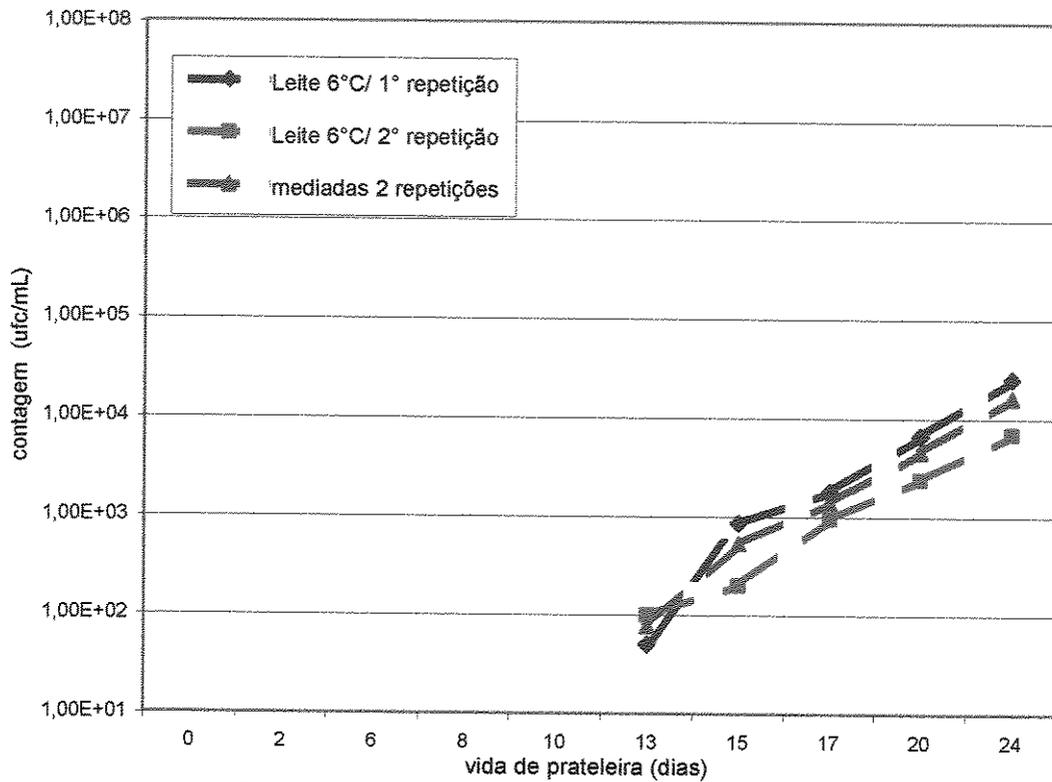


Figura 11 - Contagem de microrganismos psicrotróficos e média para o tratamento térmico de 82°C/10 s a temperatura de armazenamento de 6°C, nas 2 repetições

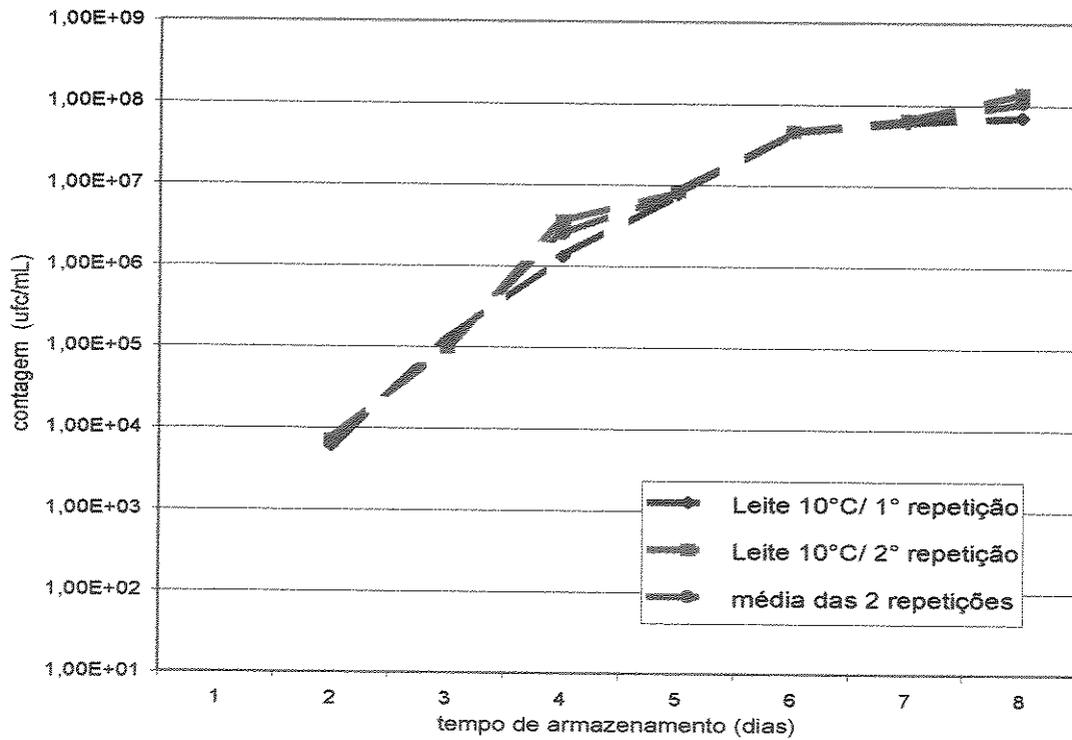


Figura 12 - Contagem de microrganismos psicrotróficos e média para o tratamento térmico de 82°C/10 s a temperatura de armazenamento de 10°C, nas 2 repetições