

MONALISA SANTUCHI ROBIM

**AVALIAÇÃO DE DIFERENTES MARCAS DE LEITE UAT  
COMERCIALIZADAS NO ESTADO DO RIO DE JANEIRO E O EFEITO DA  
FRAUDE POR AGUAGEM NA FABRICAÇÃO, COMPOSIÇÃO E ANÁLISE  
SENSORIAL DE IOGURTE.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação como requisito parcial para obtenção do Grau de Mestre. Área de Concentração: Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal.

Orientador: Prof. Dr. MARCO ANTONIO SLOBODA CORTEZ

Co-Orientador: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup> ADRIANA CRISTINA DE OLIVEIRA SILVA

NITERÓI - RJ  
2011

MONALISA SANTUCHI ROBIM

Avaliação de diferentes marcas de leite UAT comercializadas no estado do Rio de Janeiro e o efeito da fraude por aguagem na fabricação, composição e análise sensorial de iogurte.

BANCA EXAMINADORA

---

Prof. Dr. Marco Antonio Sloboda Cortez – Orientador  
Universidade Federal Fluminense

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup> Adriana Cristina de Oliveira Silva – Co-orientadora  
Universidade Federal Fluminense

---

Prof. Dr<sup>a</sup> Maria Carmela Kasnowski Holanda Duarte  
Faculdade Dom André Arco Verde

Niterói

2011

## **AGRADECIMENTOS**

A minha família, meus pais e meu irmão por todo o apoio, atenção, disponibilidade, amor e carinho.

Ao meu orientador Prof. Dr. Marco Antonio Sloboda Cortez, pelos muitos ensinamentos, boa vontade, paciência, incentivo e atenção em todos os momentos que precisei.

A minha co-orientadora Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Adriana Cristina de Oliveira Silva pela ajuda, paciência e correção criteriosa.

Aos colegas de curso, professores, estagiários e funcionários da UFF que me ajudaram durante o período do mestrado.

Aos amigos, pela companhia, ajuda nos momentos precisos, palavras de incentivo, carinho e apoio, em especial Jéssica Carvalho, Márcia Rocha, Marcus Vinícius Marcondes Moraes e Nina Hama Gemal.

Ao CAPES pelo apoio financeiro durante o meu curso de mestrado.

## SUMÁRIO

**LISTA DE ILUSTRAÇÕES**, p. 06

**LISTA DE TABELAS**, p. 08

**LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS**, p. 10

**RESUMO**, p. 12

**ABSTRACT**, p. 13

**1 INTRODUÇÃO**, p. 14

**2 REVISÃO DE LITERATURA**, p. 16

2.1 ASPECTOS GERAIS SOBRE O LEITE, p.16

2.1.1 Leite UAT, p. 20

2.1.2 Fraudes mais comuns em leite e métodos de análise, p. 22

2.1.3 Espectroscopia de ultra-som na determinação de características físico-químicas do leite, p. 26

2.2 ASPECTOS GERAIS SOBRE IOGURTE, p. 27

2.2.1 Características e composição, p. 30

2.2.2 Processo tradicional de fabricação do iogurte, p. 32

2.2.3 Processo de fermentação, p. 34

2.2.4 Cultura tradicional utilizada no processo de fermentação, p. 35

**3 MATERIAL E MÉTODOS**, p. 38

3.1 AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DO LEITE UAT, p. 38

3.1.1 Análises físico-químicas, p. 38

3.1.1.1 Descrição das análises físico-químicas, p. 39

3.1.1.1.1 Acidez titulável, p. 39

3.1.1.1.2 Potencial hidrogeniônico (pH, )p. 40

- 3.1.1.1.3 *Densidade Relativa a 15°C*, p. 40
- 3.1.1.1.4 *Depressão do ponto de congelamento*, p. 40
- 3.1.1.1.5 *Determinação do extrato seco total (EST) e desengordurado (ESD)* p. 40
- 3.1.1.1.6 *Determinação do teor de gordura*, p.41
- 3.1.1.1.7 *Álcool/Alizarol*, p.41
- 3.1.1.1.8 *Pesquisa de reconstituintes da densidade*, p.41
- 3.1.1.1.9 *Pesquisa de conservantes*, p. 42
- 3.1.1.1.10 *Pesquisa de neutralizante de acidez*, p. 42
- 3.1.1.1.11 *Método de Ultra - som – BOECO LAC 70 ®*, p. 43
- 3.1.2 Pesquisa de antimicrobiano**, p. 43
- 3.1.3 Análises Estatísticas**, p. 44
- 3.2 AVALIAÇÃO DO IOGURTE PRODUZIDO COM LEITE FRAUDADO COM 10, 20 E 40% DE ÁGUA, p. 44
- 3.2.1 Matéria prima e ingredientes**, p. 44
- 3.2.2 Elaboração do iogurte**, p. 45
- 3.2.3 Análises físico-químicas**, p. 47
- 3.2.3.1 *Análise da matéria prima*, p. 47
- 3.2.3.2 *Análise durante fermentação*, p. 48
- 3.2.3.2.1 *Determinação da acidez titulável de leite fermentado*, p.48
- 3.2.3.2.2 *Potencial hidrogeniônico (pH)*, p. 49
- 3.2.3.3 *Análise do iogurte*, p.49
- 3.2.3.3.1 *Determinação do teor de gordura*, p. 49
- 3.2.3.3.2 *Determinação de proteína*, p. 50
- 3.2.3.3.3 *Determinação do teor de umidade*, p. 51
- 3.2.4 Análises Bacteriológicas**, p. 51
- 3.2.4.1 *Pesquisa de coliformes a 30/35°C e coliformes a 45°C*, p. 52
- 3.2.4.2 *Contagem de *Lactobacillus* spp.*, p. 53
- 3.2.4.3 *Contagem de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas*, p. 54
- 3.2.5 Análises Sensoriais**, p. 55
- 3.2.6 Análises Estatísticas**, p. 56
- 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO**, p. 57
- 4.1 AVALIAÇÃO DO LEITE UAT, p. 57
- 4.1.1 Método do Ultra- Som**, p. 57
- 4.1.2 Métodos Oficiais de referência**, p. 59

**4.1.3 Comparação entre os métodos de análises físico-químicas oficiais e o método de ultra-som, p. 61**

**4.1.4 Avaliação das médias das análises físico-químicas, p. 64**

**4.2 FABRICAÇÃO DE IOGURTE COM LEITE FRAUDADO, p. 71**

**4.2.1 Avaliação da matéria-prima, p. 71**

4.2.1.1 Análises físico-químicas, p. 71

4.2.1.2 Análises bacteriológicas, p. 75

**4.2.2 Potencial hidrogênico e acidez titulável durante a fabricação, p. 75**

**4.2.3 Composição do iogurte, p. 78**

**4.2.4 Contagem de *Lactobacillus spp.*, p. 81**

**4.2.5 Análise sensorial, p. 83**

**5 CONCLUSÃO, p. 86**

**6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS, p. 87**

**7 ANEXOS, p. 96**

7.1 FICHA DE AVALIAÇÃO SENSORIAL PARA O TESTE DUO TRIO, p. 96

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1 Crescimento da produção de leite nos últimos 25 anos no Brasil.  
Fonte: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (2010), p. 17
- Figura 2 Comportamento das vendas internas de leite longa vida e total de leite fluido no Brasil no período de 1993 a 2007, p. 18
- Figura 3 Diagrama esquemático do processo UAT, p. 21
- Figura 4 Diagrama da elaboração do iogurte, p. 32
- Figura 5 Diagrama da elaboração do iogurte, produzido no Laboratório de Tecnologia e Inspeção de Leite e Derivados da Faculdade de Veterinária da UFF em 2010, p. 46
- Figura 6 Colônias de *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* desenvolvidas em meio de cultura MRS – ágar glicose acidificado, após 120 horas de incubação, p. 54
- Figura 7 Médias dos resultados das análises de Extrato Seco Desengordurado (ESD) (%), lactose (%), gordura (%), proteína (%), minerais (%), densidade (g/mL) e crioscopia (°H), realizadas pela técnica de ultrassom durante os meses de agosto, outubro e dezembro de 2010, em diferentes marcas de leite UAT comercializadas no estado do estado do Rio de Janeiro, p. 58

- Figura 8 Média dos valores obtidos para as análises de pH e acidez titulável em leite UAT realizadas por métodos oficiais nos meses de agosto, outubro e dezembro de 2010, p. 60
- Figura 9 Desenvolvimento da acidez titulável, medida em graus Dornic, para os tratamentos de adição de água, ao longo do tempo de fermentação, p. 75
- Figura 10 Desenvolvimento da acidez, medida em valores de pH, para os tratamentos de adição de água, ao longo do tempo de fermentação, p. 77
- Figura 11 Representação gráfica dos resultados da Contagem de *Lactobacillus* spp. (Log UFC/g), pH e acidez em graus Dornic dos iogurtes nos diferentes tratamentos com adição de água, p. 82



## LISTA DE TABELAS

- TABELA 1 - Quantidade de ingredientes utilizados em cada grupo experimental na produção do iogurte, p. 47
- TABELA 2 - Médias dos resultados das análises de Extrato Seco Desengordurado (ESD)(%), lactose (%), gordura (%), proteína (%), minerais (%) densidade (g/mL) e crioscopia (°H), pelo método de ultra-som e pelos métodos oficiais, durante os meses de Agosto, Outubro e Dezembro de 2010, em diferentes marcas de leite UAT comercializadas na região metropolitana do estado do Rio de Janeiro, p. 57
- TABELA 3 - Valores médios obtidos nas análises de densidade (g/mL), crioscopia (°H), gordura (%) e ESD (%), pelos métodos oficiais, durante os meses de agosto, outubro e dezembro de 2010, para diferentes marcas de leite UAT comercializadas no estado do estado do Rio de Janeiro, p. 61
- TABELA 4 - Médias e desvio padrão das análises físico-químicas realizadas em 58 marcas de leite UAT integral comercializados no estado do estado do Rio de Janeiro, p. 65
- TABELA 5 - Valores médios das análises físico-químicas pelos métodos oficiais (MO) e pelo método de ultra-som (US) do leite utilizado na fabricação do iogurte, p. 71

TABELA 6 - Comparação das médias do pH, acidez e composição (% gordura, % umidade e % proteína) dos quatro tratamentos do iogurte nas quatro repetições, p. 78

TABELA 7 - Valores médios das análises de contagem de *Lactobacillus* spp. (Log UFC/g) na fabricação do iogurte nos quatro tratamentos, 0%, 10%, 20% e 40%, p. 81

TABELA 8 - Resultados da análise sensorial pelo teste discriminativo Duo-trio, do iogurte com 0% de água (amostra Padrão), 10% de água, 20% de água, e 40% de água, p. 83

## LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

ABLV	Associação Brasileira da Indústria de Leite Longa Vida;
ANOVA	“Analysis of variance”;
APC	Ágar Padrão para Contagem;
ESD	Extrato Seco Desengordurado;
EST	Extrato Seco Total;
g	Gramas;
°C	Graus Celsius;
°D	Graus Dornic;
°H	Graus Hortvet;
HI	Hanna Instruments;
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
L	Litros;
Log	Logarítmos;
mL	Miligramas;
Mm	Micrômetro;
MRS	Man Rogosa e Sharpe;
NMP	Número Mais Provável;
p	Probabilidade;
pH	Potencial Hidrogeniônico;
RIISPOA	Regulamento Industrial de Inspeção Sanitária de Produtos de Origem
Animal;	
rpm	Rotações por Minuto;
RTIQ	Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade;
SSP	Solução Salina Peptonada;
UAT	Ultra Alta Temperatura;

UFC	Unidades Formadoras de Colônias;
UFF	Universidade Federal Fluminense;
UHT	“Ultra High Temperature”;
US	Ultra Sônico

## RESUMO

A ocorrência de fraude por aguagem no leite como matéria-prima e pronto para consumo representa uma fraude econômica e diminui o rendimento industrial, além de poder estar associado a problemas de saúde ao consumidor. Os objetivos do presente trabalho foram: realizar um levantamento da qualidade do leite UAT comercializado no estado do Rio de Janeiro, por meio de análises físico-químicas e pesquisa da presença de fraudes; avaliar a eficácia dos métodos físico-químicos, comparando métodos oficiais de referência com o método de ultra-som e avaliar o efeito da fraude por aguagem na fabricação, composição e análise sensorial do iogurte. Para a comparação dos métodos de análise utilizaram-se os métodos oficiais e o método por ultra-som (Boecolac 70<sup>®</sup>). Para avaliar a influência da adição de água na elaboração do iogurte, foram fabricadas amostras de iogurte a partir de leite fraudado com 10, 20 e 40% de água. Não foi detectada presença de substâncias fraudulentas nas 58 amostras de leite UAT analisadas durante os meses de agosto, outubro e dezembro de 2010. O método de ultra-som apresentou baixa correlação com os métodos oficiais para as análises de densidade, gordura, crioscopia e extrato seco desengordurado. Os valores médios obtidos foram: 3,22% de gordura, crioscopia de - 0,5516<sup>°</sup>H, densidade de 1,029g/mL, ph de 6,69, e acidez de 16,45 <sup>°</sup>D. O iogurte fabricado com leite fraudado com 10, 20, e 40% de água apresentou composição físico-química alterada não estando em conformidade com os padrões da legislação. Na análise sensorial, foi constatado que o iogurte com a adição de água nas proporções de 10, 20 e 40% ocasionou diferença sensorial perceptível pelo consumidor. Os resultados apresentados nesta pesquisa fornecem subsídios para a tomada de decisões por parte de estabelecimentos beneficiadores e órgãos regulamentadores e fiscalizadores de leite e derivados no direcionamento da escolha dos métodos de controle de qualidade a serem praticados.

**Palavras-chave:** Fraude; Aguagem; Leite UAT; Iogurte.

## ABSTRACT

The fraud with the addition of water in raw milk as product and in the milk ready for consumption represents an economic fraud and decreased industrial output that can be associated with health problems to consumers. The objectives of this study were to survey the quality of UHT milk sold in the metropolitan region of Rio de Janeiro, through physical – chemical analysis and detection of the presence of fraud, evaluate the effectiveness of physical – chemical methods, comparing official methods reference to the method of ultrasound and to evaluate the effect of fraud by adding water in manufacturing, composition and sensory characteristics of yogurt. For comparison of the analytical methods, the official methods and the ultrasound (70 Boecolac<sup>®</sup>) method by were used. To evaluate the effect of adding water in the preparation of yoghurt, the samples were manufactured from milk adulterated with 10, 20 and 40% water. The presence of fraudulent substances were not detected in 58 samples analyzed during the months of August, October and December 2010. The methods of ultrasound showed low correlation with the official methods for analysis of density, fat, freezing point and solids nonfat. The average values obtained were 3.22% fat, freezing point of  $-0.5516^{\circ}$  H, density of 1.029g/ml, PH of 6.69, and acidity of 16.45<sup>°</sup>d. The yogurt made from milk adulterated with 10, 20 and 40% of water composition from the law standards. In sensory analysis it was found that the yogurt with the addition of water in proportions of 10, 20, and 40% showed perceptible sensory differences to the consumer. The results presented in this study provide information for decisions taken by regulators, processors establishments and inspection of dairy products in directing the choice of methods of quality control to be practiced.

**Key-words:** Fraud; adding water; milk UHT; yogurt.

## 1 INTRODUÇÃO

A qualidade do leite consumido no país é uma constante preocupação dos técnicos e autoridades ligadas à área de saúde e laticínios. Um dos problemas encontrados no leite é a realização de diversas fraudes que causam prejuízos econômicos e riscos à saúde dos consumidores e problemas para as indústrias, como diminuição do rendimento industrial. Além disso, algumas fraudes são empregadas para mascarar a má qualidade do leite, que pode causar diversos problemas alimentares e problemas de saúde coletiva. O combate às fraudes é responsabilidade dos órgãos oficiais de fiscalização, e deve ser assumido com seriedade para evitar danos causados a toda cadeia produtiva do leite e aos consumidores.

A legislação brasileira considera fraudado, adulterado ou falsificado o leite com adição de água; subtração de um dos componentes; adição de substâncias conservadoras ou de substâncias não permitidas; rotulado como categoria superior; estiver cru e for vendido como pasteurizado; e, for exposto ao consumo sem as devidas garantias de inviolabilidade (BRASIL, 2008).

O leite é um o produto obtido da secreção láctea de uma ou mais vacas sadias e bem alimentadas. Sua apresentação é sob a forma de um líquido branco e opaco, mais viscoso e denso que a água, obtendo sabor pouco acentuado (BRASIL, 2008).

É considerado um alimento de grande valor nutritivo, pois é fonte de proteína, gordura, energia e outros constituintes essenciais que fornecem ao homem, nutrientes ao seu desenvolvimento e manutenção da saúde, fato este que o torna um dos principais alimentos do homem. Também é uma das fontes mais adequadas de cálcio, sendo importante para o corpo humano principalmente durante

a fase de crescimento, quando a absorção média do cálcio varia de 21 % a 27 % (TRONCO, 2008).

O objetivo mais comum das fraudes é aumentar o volume de leite produzido, visando maior lucratividade. Neste caso, são usados principalmente a água e o soro de leite (DIAS et al., 2010). A adição de água, além de ilegal, altera as características físico-químicas e nutritivas do leite e dos produtos lácteos.

Um dos principais produtos lácteos existentes no mercado brasileiro é o iogurte, com grande aceitação pela população. O iogurte é um leite fermentado obtido por diminuição do pH do leite e coagulação deste através da fermentação láctica mediante ação de cultivos de microrganismos específicos (BRASIL, 2007). O consumo de produtos lácteos fermentados vem desde a mais remota antiguidade, sendo consumido principalmente pelos povos orientais (TAMIME; DEETH, 1980).

A detecção da ocorrência das fraudes é de suma importância para assegurar a qualidade do leite que chega ao consumidor, como alimento saudável e nutritivo, e para garantir o correto rendimento e as boas condições dos produtos derivados.

Os objetivos dessa pesquisa foram a realização de um levantamento da qualidade de diferentes marcas de leite UAT comercializadas no estado do Rio de Janeiro, realizado por meio de pesquisa de fraudes e realização da comparação dos métodos de análise oficiais e de ultra-som; e a avaliação dos efeitos da fraude por adição de água em diferentes concentrações nas características físico-químicas, bacteriológicas e sensoriais da fabricação do iogurte com leite UAT.



## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 ASPECTOS GERAIS SOBRE O LEITE

Do ponto de vista biológico, o leite pode ser considerado um dos alimentos mais completos por apresentar, entre outras características, alto teor de proteínas e sais minerais (BORGES *et al.*, 1989). Segundo o Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal - RIISPOA, artigo 475, “entende-se por leite, sem outra especificação, o produto oriundo da ordenha completa, ininterrupta, em condições de higiene, de vacas sadias, bem alimentadas e descansadas” (BRASIL, 2008).

Na avaliação da qualidade do leite, destaca-se as seguintes características: sensoriais, nutricionais, físico-químicas e microbiológicas; sabor agradável, alto valor nutritivo, ausência de agentes patogênicos e contaminantes, reduzida contagem de células somáticas e baixa carga microbiana. As análises físico-químicas sinalizam também a qualidade do leite. A importância destas análises consiste na detecção de fraudes como, por exemplo, a adição de água, e de soro de queijo (ZOCCHÉ *et al.*, 2002).

Dados elaborados pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) no ano de 2009 constata que a produção de leite no Brasil vem crescendo nos últimos 25 anos (Figura 1).

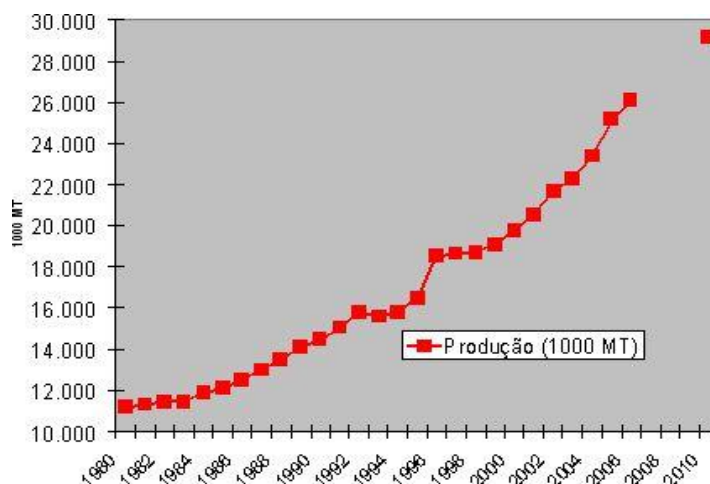


Figura 1 - Crescimento da produção de leite nos últimos 25 anos no Brasil.  
Fonte: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (2010).

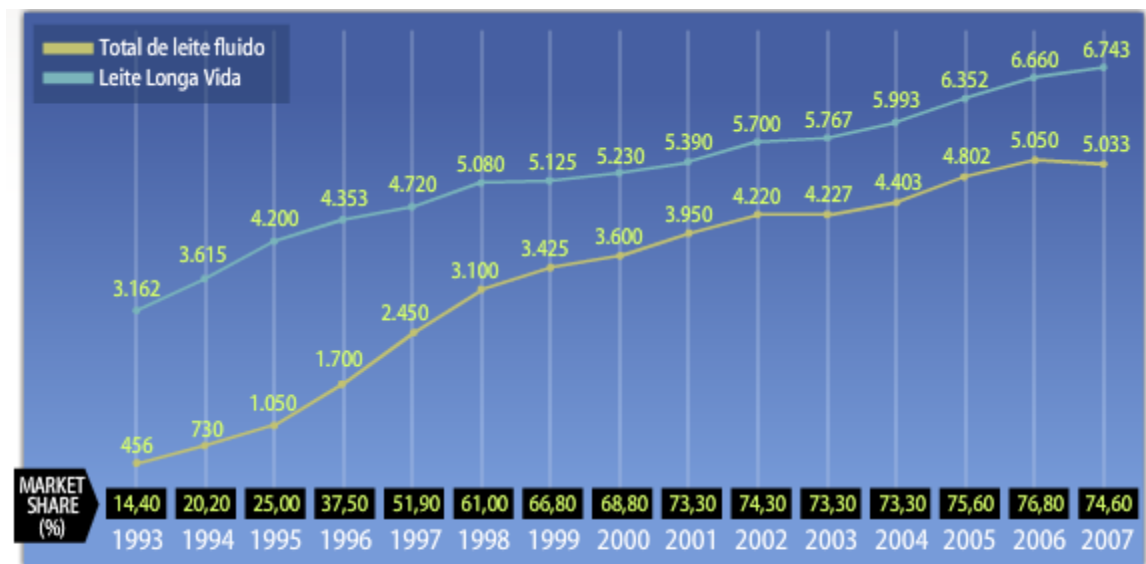
A estrutura de produção e comercialização do leite pode ser complexa e sofisticada como quando o rebanho é monitorado por chips de computador, ou pode ser ainda simples, como aquelas em micro propriedades, onde o gado é tratado de forma rudimentar, com o acompanhamento veterinário precário. Assim, o controle de qualidade físico-química do leite ao chegar à plataforma de recepção da usina de beneficiamento ou da indústria é essencial para garantir a saúde da população e deve constituir-se num procedimento rotineiro (TRONCO, 2008).

Segundo os dados da Tetra Pack (2010), os países desenvolvidos continuam divididos quanto à preferência por produtos refrigerados ou longa vida (UAT), sendo definidos dois grupos: os com cadeias de distribuição refrigerada (EUA, Reino Unido, Japão, Canadá, Austrália) e os com cadeias de distribuição longa vida (Alemanha, Espanha, França e Itália). Em 2007, as exportações brasileiras de produtos lácteos totalizaram US\$ 273,3 milhões, enquanto as importações totalizaram US\$ 150,8 milhões, gerando uma receita de US\$ 122,4 milhões, considerada um recorde histórico para o setor.

Os mercados de refrigerados tendem a ter uma característica em comum, a criação do gado leiteiro e a produção são descentralizadas para que a cadeia de distribuição possa rapidamente transportar o leite das fazendas para os produtores, varejistas e aos consumidores antes que deteriore. Nos mercados onde era mais difícil transportar o leite por meio de uma cadeia de distribuição refrigerada, o leite UAT foi visto como uma alternativa prática e viável. Este aumento também foi

impulsionado pela ascensão de hipermercados e pelo aumento de mulheres no mercado de trabalho (REZER, 2010).

De acordo com as estatísticas da Associação Brasileira da Indústria de Leite Longa Vida (ABLV) as vendas internas do leite longa vida (UAT) no Brasil aumentaram muito de 1992 a 2007 como pode ser observado na Figura 2, tendo uma participação do mercado de 74,60% no ano de 2007 do total de leite fluido. Estes dados confirmam o citado por vários autores, que relataram o crescimento do consumo do leite UAT nos últimos anos, devido à praticidade de conservação e uso (MARTINS, 2008; JOÃO, 2008).



Fonte: ABLV

Leite Longa Vida: Inclui desnatados, enriquecidos, especiais, bebidas lácteas, composto alimentar e esterilizados (não inclui aromatizados)

Total Leite Fluido: Leite Longa Vida e Leite Pasteurizado (inclui tipos A, B, C, desnatados, especiais, reidratado e bebidas lácteas - não inclui aromatizados)

Figura 2 - Comportamento das vendas internas de leite longa vida e total de leite fluido no Br período de 1993 a 2007.

Por ser de origem biológica, o leite pode apresentar variação nos seus componentes. Os principais fatores que influenciam na qualidade e na quantidade do leite de um animal, são: raça, alimentação, idade e número de parições, tempo de lactação e variações climáticas. Portanto, são estabelecidos limites para essa variação, tanto para detectar problemas na produção, como para acusar adulterações no produto. Sendo considerado leite fraudado ou falsificado, aquele que não corresponder a esse limite de diferença, ou acusar presença de elementos estranhos (BEHMER, 1999).

Segundo Tronco (2008), o leite é composto de 87,3% de água e 12,7% de sólidos totais. Os sólidos totais são divididos em 3,6% de gordura e 9,1% de extrato seco desengordurado. Este compreende as proteínas (3,3%), a lactose (4,9%) e os minerais (0,9%).

A água constitui, em volume, o principal componente do leite, influenciando sensivelmente na densidade do leite. Como causa da variação da percentagem de água na composição do leite salientam-se os seguintes fatores: a raça do gado, tempo de lactação e a alimentação (BEHMER, 1999).

A gordura do leite é formada na maior parte de triglicerídeos (97 a 98%), alguns esteróis, ácidos graxos livres e fosfolipídios, que contribuem para melhorar a palatabilidade do leite, são responsáveis por um grande número de ácidos graxos essenciais e pelo valor calórico do leite (1g de gordura fornece 9 calorias). Além disso, as vitaminas lipossolúveis (A, D, E e K) presentes na gordura tem grande valor nutricional (TRONCO, 2008).

A lactose é um dissacarídeo característico do leite, sendo considerado quase que exclusivo deste produto. Este carboidrato é obtido pela reação (ligação covalente) de alfa ou da beta-glucose com a beta-galactose. A sua concentração é relativamente constante variando de 4,4 a 5,2% (REZER, 2010). De acordo com Tronco (2008), a utilização da lactose pela microbiota intestinal resulta em uma diminuição do pH e uma prevalência de uma microbiota lactofílica, inibindo o crescimento das bactérias putrefativas e patogênicas no intestino. A diminuição do pH intestinal pela lactose também ajuda a aumentar a absorção do cálcio no organismo.

O leite contém todos os minerais biologicamente importantes, necessários à nutrição, em níveis elevados: cloro, fósforo, potássio, sódio, cálcio e magnésio e, em pequenas concentrações: o alumínio, bromo, zinco, manganês e ferro. É considerado uma fonte de cálcio e fósforo que são indispensáveis na formação e manutenção dos ossos e dentes (ANTUNES e PACHECO, 2009). Nas últimas décadas foram realizadas pesquisas que têm demonstrado que o leite e os produtos lácteos podem ajudar a reduzir o risco de desordens crônicas, como a osteoporose, hipertensão, excesso de peso, gordura corporal e câncer de cólon (HUTH; DIRIENZO; MILLER, 2006).

Foi relatado que a presença de cálcio e potássio no leite ajuda a regular a pressão arterial, assim como peptídeos específicos associados à caseína e a

proteínas do soro (TAUZIN; MICLO; GAILLARD; 2002). Estudos clínicos demonstraram que o cálcio proveniente de leite e de produtos lácteos contribui para a perda de peso e de gordura corporal. Em indivíduos com risco de câncer de cólon, o aumento do cálcio da dieta reduz a hiperproliferação do epitélio do cólon. Por estas razões o relatório do *Dietary Guidelines Advisory Committee*, de 2005, recomenda que os americanos aumentem o consumo de leite e seus derivados para três porções ao dia (HUTH, DIRIENZO; MILLER, 2006).

O cálcio é muito importante para o corpo humano principalmente durante a fase de crescimento, quando a absorção média do cálcio varia de 21 % a 27 %. Recentemente, estudos para reduzir o risco de osteoporose em idosos demonstraram que o consumo de cálcio deve ser maior, já que entre as causas dessa doença existem evidências crescentes de que o consumo inadequado de cálcio ao longo da vida é o mais importante. Isto justifica a necessidade de se consumir leite em todas as faixas etárias (TRONCO, 2008).

### **2.1.1 Leite UAT**

O consumo de leite obtido pelo processamento de ultra alta temperatura (UAT) teve um alto crescimento nos últimos anos devido à praticidade de conservação e uso. É um produto de fácil estocagem, podendo ser conservado por um longo prazo e por este motivo é também chamado de leite longa vida (JOÃO, 2008; MARTINS et al., 2008).

Entende-se por leite UAT (ou UHT), o leite homogeneizado que foi submetido, durante 2 a 4 segundos, a uma temperatura de 130° C, mediante um processo térmico de fluxo contínuo, imediatamente resfriado a uma temperatura inferior a 32° C e envasado sob condições assépticas e em embalagens estéreis e hermeticamente fechadas (BRASIL, 1997).

O leite UAT de acordo com o conteúdo da matéria gorda padroniza-se em: Leite UAT integral (mínimo de 3%); Leite UAT semi-desnatado ou parcialmente desnatado (2,9% - 0,6% de gordura); e Leite UAT desnatado (máximo de 0,5% de gordura). Sendo denominado "leite UAT integral, semi desnatado ou parcialmente

desnatado", de acordo com a classificação, e acrescentadas às expressões "longa vida" ou "homogeneizado (BRASIL, 1997).

Segundo os critérios microbiológicos e tolerância, o leite UAT não deve ter microrganismo capazes de proliferar em condições normais de armazenamento e distribuição (25° - 37°C) (BRASIL, 1997).

De acordo com o método de aquecimento, os sistemas de processamento UAT podem ser classificados em dois tipos: método de aquecimento direto e indireto (TRONCO, 2008). Na Figura 3, estão dispostas as etapas, no fluxograma básico do processo UAT.

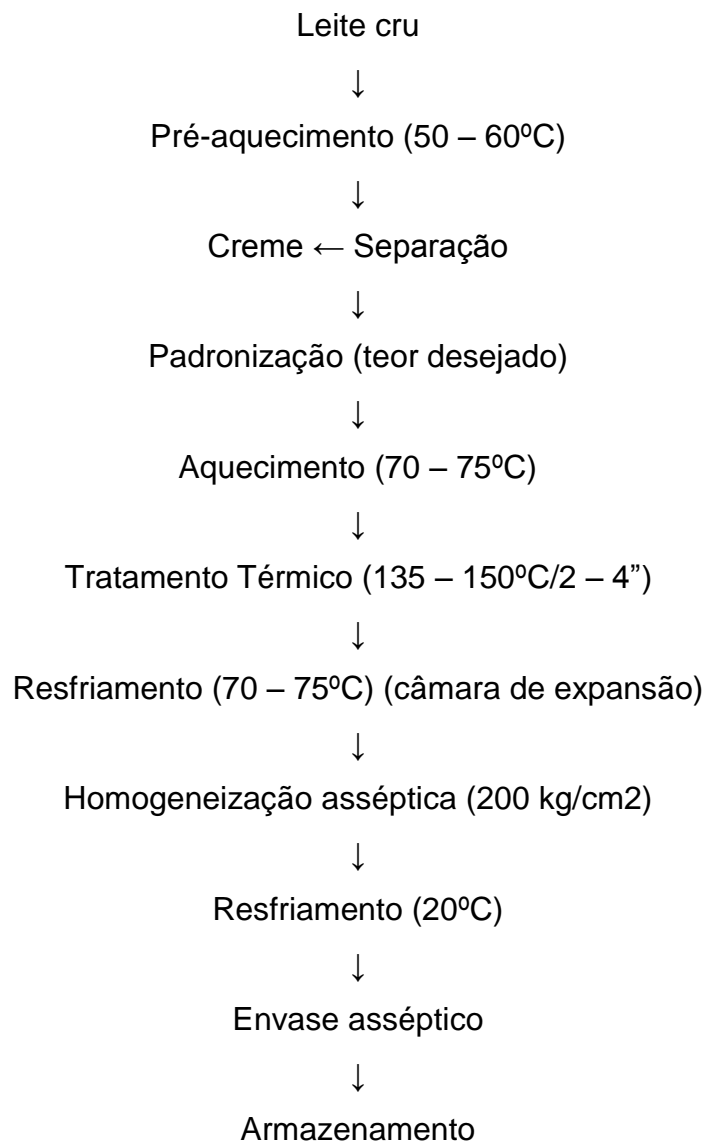


Figura 3: Diagrama esquemático do processo UAT (Fonte: TRONCO, 2008).

No processo de aquecimento direto, ocorre injeção ou infusão de vapor diretamente no leite, com o uso combinado de pressão elevada e vapor potável. Já no método de aquecimento indireto, o calor é transferido por condução para o leite em contato com partes metálicas, seja em equipamentos por placas ou tubulares (FELLOWS, 2006).

Diversos pesquisadores observaram diferenças acentuadas na composição e nas características físico-químicas do leite UAT integral, evidenciando que pode ocorrer diferenças entre regiões de produção, demonstrando que existem falhas na padronização dos leites UAT integral comercializados (ANDRIOLI, 2001; SOUZA et al., 2004; BERNARDI, et al., 2006; MARTINS et al., 2006; VIEGAS et al., 2006; FERNANDEZ, 2007; MARTINS et al., 2008).

### **2.1.2 Fraudes mais comuns em leite e métodos de análise**

Tendo a qualidade dos alimentos se tornado um problema mundial, é cada vez mais importante a detecção de produtos rotulados de forma fraudulenta, e de qualidade inferior no mercado, tanto por razões econômicas como por razões de saúde pública. Assim, se faz necessário utilizar todos os meios disponíveis para detectar a possível presença de substâncias indesejáveis nos alimentos. E com o leite não é diferente, pois o mesmo apresenta vários componentes que podem ser alterados no caso de fraude (EGITO et al., 2006).

O RIISPOA (BRASIL, 2008) estabelece que o leite não pode ser adicionado de substâncias não permitidas, caracterizando a sua adulteração intencional como fraude. A fraude prejudica os consumidores, os produtores rurais e os concorrentes da empresa fraudadora.

Entende-se por falsificação a adição ou subtração parcial ou total de qualquer substância na composição de um produto, em condições tais que o mesmo não corresponda ao produto original (BEHMER, 1999).

Sendo o leite produto de origem fisiológica, há grandes variações em seus componentes. Entretanto, estabelecido um valor médio dessas variações e organizada uma relação entre os diferentes componentes, considera-se o leite

fraudado aquele que não corresponde a tais valores determinados pelas legislações vigentes: Instrução Normativa número 51 (BRASIL, 2002) e o RIISPOA (2008).

Dentre as diversas atividades de controle da qualidade do leite há a prevenção de fraudes ou adulterações do produto “in natura”, mediante a adoção de parâmetros físico-químicos, como acidez, densidade a 15°C, índice crioscópico, percentual de gordura e de extrato seco desengordurado (OLIVEIRA et al., 1999).

A adição de água ao leite é um método muito antigo utilizado em pequenas propriedades rurais, para aumentar o rendimento, como foi verificado por Pina et al., (2007), que ao estudarem técnicas para identificar substâncias estranhas no leite comercializado em Garanhuns – PE, observaram que essa forma de adulteração do leite, era mais utilizada nestes pequenos estabelecimentos. Esse tipo de alteração além de lesar o consumidor põe em risco a saúde do mesmo, pois a água que é adicionada muitas vezes não passa por nenhum tratamento e pode contaminar o produto com microrganismos patogênicos. Quando ao leite é adicionada água, a caseína que se encontra na forma de partículas esféricas combinadas com o cálcio, vai se desfazendo (SOROA, 1980), o que além da própria água adicionada ainda contribui para diminuir o rendimento na produção dos derivados do leite.

A legislação considera que o leite é um produto que deve ter no mínimo 2,9% de teor de proteína. Dessa forma, a observação de teores protéicos inferiores ao limite de 2,9% indicam inadequação do produto às exigências legais (BRASIL, 2002). Embora essa análise do teor de proteínas não indique exatamente qual a origem da não conformidade (adição de soro, água, leite sem qualidade, entre outras), esse tipo de análise pode ser utilizado como uma triagem do leite fraudado.

Para determinação de água no leite, o método é simples e utilizado na rotina das indústrias e dos laticínios, que é o índice crioscópico ou ponto de congelamento.

O ponto de congelamento do leite é uma propriedade física que pode variar de acordo com o período de lactação, a estação do ano, o clima, a latitude, a alimentação, a raça, e com os diferentes tipos de tratamentos térmicos (FONSECA et al., 1993).

Uma das vantagens da utilização da crioscopia é que este método é considerado de referência e de precisão, estando relacionada com o conteúdo de substâncias em solução no leite, principalmente lactose e minerais, que em condições normais não sofrem variações (CORTEZ; CORTEZ, 2008).



A observação de outros parâmetros como acidez, densidade a 15°C, percentual de gordura e de extrato seco desengordurado, além da crioscopia é indicada para controlar a qualidade do leite e a detecção de fraudes (OLIVEIRA et al., 1999).

A determinação da densidade serve como método de detecção de fraudes no leite no que se refere à desnatação ou a adição de água, apesar de não ser um teste conclusivo, pois leites com alto teor de gordura apresentam-se com valores de densidade menor em virtude da baixa densidade das gorduras (TRONCO, 2008). O desnate do leite e a adição de amido são alterações que fazem a densidade aumentar (AGNESE et al., 2002).

A presença de água pode ser percebida pela interpretação dos valores obtidos na crioscopia e densidade. A densidade fica reduzida e a crioscopia mais alta, de modo que o valor se aproxima do ponto de congelamento da água (Santos e Fonseca, 2007).

A análise do leite, seja qual for o fim a que se destine, abrangerá os caracteres sensoriais e as provas de rotina, assim consideradas: caracteres sensoriais (cor, cheiro, sabor e aspecto) temperatura e lacto-filtração; densidade pelo termo-lacto-densímetro a 15°C (quinze graus centígrados); acidez pelo acidímetro Dornic, considerando-se prova complementar a da cocção, do álcool ou do alizarol; gordura pelo método de Gerber; e extrato seco total e desengordurado, por discos, tabelas ou aparelhos apropriados (BRASIL, 2008).

Dada a imprecisão das provas de rotina só poderá ser considerado anormal, e desse modo condenado por fraude, o leite que se apresente fora do padrão no mínimo em 3 (três) provas de rotina ou em 1 (uma) de rotina e 1 (uma) de precisão. Consideram-se provas de precisão: determinação do índice de refração no soro cúprico e a determinação do índice crioscópico (ibid).

Existem ainda métodos encontrados na literatura que, combinados, acusam a adulteração do leite. Segundo Martins et al. (2010), o teor de proteínas, a crioscopia (análise do ponto de congelamento do produto) e a análise da presença de carboidratos estranhos ao leite, quando combinados, indicam a adulteração do mesmo.

Frequentemente são adicionadas em conjunto com a adição de soro e água ao leite, substâncias reconstituintes com o objetivo de recompor a aparência e algumas características do leite fraudado, tais como o cloreto de sódio e a sacarose.

Atualmente os fraudadores também têm adicionado açúcar e maltodextrina, dosada de forma a se restaurar valores analíticos "normais" para certos índices de qualidade física ou química do leite normal (MILKPOINT, 2011).

As substâncias neutralizantes são adicionadas no intuito de retirar a acidez desenvolvida por microrganismos mesofílicos, que desdobram a lactose em ácido láctico, e ocasionam a coagulação do leite. A neutralização ilegal da acidez pode mascarar a acidez real tornando um leite de péssima qualidade em um leite aceitável segundo a legislação brasileira (SILVA et al., 2010).

No caso da adição de conservantes, normalmente se utilizam substâncias químicas ou outros agentes, os quais exercem ação sobre o desenvolvimento de microrganismos, pois retardam a multiplicação. Os mais utilizados são ácido bórico e seus sais, ácido salicílico e seus sais, água oxigenada, bicromato de potássio, formol, cloro e hipocloritos (TRONCO, 2008).

De acordo com o regulamento técnico de identidade e qualidade do leite UAT (BRASIL, 1997) as únicas substâncias que podem ser adicionadas durante o preparo são o citrato de sódio, mono, di ou trifosfato de sódio, separados ou em combinação em uma quantidade não superior a 0,1g/100mL, expressamente como adjuvantes de tecnologia.

Para coibir irregularidades no leite comercializado é necessária a avaliação constante da qualidade deste produto que visa assegurar a saúde coletiva dos consumidores. Considerando a importância do leite na alimentação humana, é primordial a averiguação das metodologias empregadas para detecção de fraudes no leite e o aperfeiçoamento das técnicas de detecção (SILVA et al, 2010).

Já foram publicados diversos trabalhos relatando a existência de fraudes em leites fluidos em muitos estados no Brasil (CARDOSO e ARAÚJO, 2003; PINTO et al, 2003; RABELO, 2003; SILVA et al, 2001; DAHMER, 2006; MARTINS et al., 2008; REZER, 2010; SILVA, 2010; MARTINS et al, 2011), indicando que uma grande quantidade do leite produzido em todo país possui algum tipo de adulteração.

As análises realizadas no leite fluido para avaliação da qualidade se baseiam nas seguintes legislações específicas:

- Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal – RIISPOA, artigo 476 (BRASIL, 2008);
- Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade (RTIQ) do Leite (Normativa nº 51/2002) (BRASIL, 2002);

- Instrução Normativa nº 68/2006 (Métodos Analíticos Físico-Químicos Oficiais para Leite e Produtos Lácteos) (BRASIL, 2006);
- Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Leite UAT (UAT) (Portaria nº 146/1997) (BRASIL, 1997).

### **2.1.3 Espectroscopia de ultra-som na determinação de características físico-químicas do leite**

O número de amostras a serem analisadas nos estabelecimentos beneficiadores bem como a frequência da realização das análises tendem a aumentar, tornando necessária a utilização de métodos analíticos que expressem resultados seguros em curto espaço de tempo. Desse modo, houve a necessidade de aperfeiçoar os métodos de análise, o que produziu uma investigação dirigida à criação de procedimentos analíticos automatizados, mais rápidos e adequados para o trabalho em série (PONSANO et al., 2007).

A tecnologia ultra-sônica foi desenvolvida a partir do princípio fundamental de que a matéria é capaz de absorver o som, atenuando-o ou alterando sua velocidade. A partir daí, a espectroscopia ultra-sônica expandiu sua faixa de aplicação, até chegar à caracterização de misturas físicas e químicas (VENTUROSOSO et al., 2007).

De acordo com GUNASEKARAN e AY (1994), as primeiras referências a respeito do uso de ultra-som na indústria de alimentos datam de 1961, com a aplicação do método para a medida de sólidos não gordurosos e gordura do leite.

O uso de técnicas espectroscópicas para a análise dos componentes do leite é uma ferramenta importante por fornecer, em tempo reduzido, informações úteis para os produtores de leite, que podem utilizá-las para detectar problemas de manejo nutricional e, assim, aumentar a eficiência produtiva dos rebanhos (TSENKOVA et al., 2000).

A espectroscopia de ultra-som baseia-se no princípio físico de que o movimento de qualquer onda é afetado pelo meio por onde ela está se propagando. Dessa forma, a propagação das ondas sonoras em um determinado meio fornece informações sobre ele pela análise da transmissão ou da reflexão dos sinais gerados. Essa técnica emprega ondas sonoras de alta frequência que imprimem

forças intermoleculares aos materiais em teste. As oscilações de compressão ou descompressão das ondas ultra-sônicas causam oscilações no arranjo molecular da amostra, que responde com forças de atração ou repulsão intermoleculares (PONSANO et al., 2007).

As amplitudes de deformação nas ondas ultrasônicas empregadas na determinação são extremamente pequenas, tornando a técnica não destrutiva, o que representa uma oportunidade única na caracterização de produtos alimentícios de base líquida, incluindo amostras opacas como o leite (ibid).

A Instrução Normativa número 51 (BRASIL, 2002) que estabelece as características físico-químicas a serem avaliadas no leite cru destinado ao processamento, bem como os métodos de referência para a análise de cada um deles, estabelece também, que tais métodos poderão ser substituídos por outros métodos de controle operacional, desde que sejam conhecidos os desvios e as correlações em relação aos respectivos métodos de referência.

Além de ser automática, a tecnologia apresenta vantagens tais como: as medidas são efetuadas diretamente nas amostras de leite refrigerado (5 °C), a precisão da medida não depende da acidez do leite, não utiliza reagentes e pode ser utilizado para qualquer tipo de leite fluido (LACTOSCAN, 2011).

Em equipamentos modernos, as medidas das propriedades ultra-sônicas da amostra, tais como velocidade ultra-sônica, coeficiente de atenuação, impedância ultra-sônica, podem ser usadas para determinar a composição química dos produtos lácteos e calcular o índice crioscópico (VENTUROSOSO et al, 2007).

## 2.2 ASPECTOS GERAIS SOBRE IOGURTE

O consumo de produtos lácteos fermentados vem desde a mais remota antiguidade. A acidificação é um dos métodos mais antigos de preservação do leite. O leite fermentado surgiu na Mesopotâmia a cerca de 5000 a. C. O iogurte é um alimento e bebida tradicional nos Bálcãs e na Ásia Mediterrânea e a palavra “iogurte” é derivada da palavra turca “jugurt”, sendo conhecida por uma variedade de nomes em diferentes países (TAMIME; DEETH, 1980).

O leite fermentado mais importante economicamente é o iogurte, obtido da coagulação do leite pela ação de dois microrganismos, *Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, e que fornece uma melhor assimilação, pelo organismo, de certos componentes, principalmente a lactose e proteínas (BRANDÃO, 1995).

O iogurte é um derivado do leite que apresenta uma das melhores margens de rentabilidade para o fabricante de produtos lácteos, devido ao fato de não necessitar de processo de concentração, ou seja, começa com um volume de matéria-prima e terminar com o mesmo volume ou até um pouco mais, já que alguns ingredientes como polpas de frutas são acrescentados. Seu mercado, em suas diversas categorias, vem demonstrando grande potencial de crescimento nos últimos anos (SANTOS, 1998).

No Brasil, o aumento do consumo de iogurte começou em 1970 e continuou com uma taxa excepcional de crescimento devido aos mais variados produtos disponíveis comercialmente, tais como iogurte congelado (*frozen*), o líquido e em forma de bebidas (BRANDÃO, 1987).

Um estudo recente divulgado pela Tetra Pak, empresa líder no segmento de envase de alimentos, atesta a tendência de crescimento do consumo de lácteos. Segundo a pesquisa, entre 2009 e 2012, o consumo global do produto deve aumentar 2,4%. Em 2009, foram produzidos 264 bilhões de litros, uma alta de 1,8% em comparação com o ano anterior. Um dos fatores responsáveis pelo aumento é a ascensão da classe C, especialmente a dos países emergentes (TETRAPAK, 2010).

O iogurte constitui uma rica fonte de proteínas, cálcio, fósforo, vitaminas e carboidratos. O consumo deste produto está relacionado à imagem positiva de alimento saudável e nutritivo, associado às suas propriedades sensoriais (TEIXEIRA et al, 2000). Esse consumo também pode ser atribuído à preocupação crescente das pessoas em consumirem produtos naturais, e aos benefícios que o iogurte traz ao organismo, tais como: facilitar a ação das proteínas e enzimas digestivas, melhorar a absorção de cálcio, fósforo e ferro; ser fonte de galactose – importante na síntese de tecidos nervosos e cerebrosídeos em crianças, bem como ser uma forma indireta do consumo de leite (FERREIRA et al, 2001).

Durante a fermentação, a proteína, a gordura e a lactose do leite sofrem hidrólise parcial, tornando o produto facilmente digerível, sendo considerado agente regulador das funções digestivas. A acidez própria estimula as enzimas digestivas

pelas glândulas salivares. Certas características são benéficas para indivíduos com intolerância à lactose e tendências à hiperglicemia pós-prandial. Outras propriedades também se relacionam aos iogurtes, como os efeitos anticolesterolêmicos, anticarcinogênicos, inibitórios de agentes patógenos, entre outros (FERREIRA, 2005).

A lactose presente no iogurte é mais facilmente digerível, pois cerca de 50% de sua concentração original já foi hidrolisada durante a fermentação, e as células bacterianas, durante o processo de metabolismo do organismo humano, sob condições gástricas, sofrem “lise”, liberando a lactase, facilitando seu consumo por pessoas que, devido à deficiência da enzima lactase em seu organismo, não toleram a lactose presente no leite (BRANDÃO, 1995).

Segundo Tamime e Deeth (1980) e Brandão (1987) existem hoje no mercado vários tipos de iogurte classificados de acordo com o processo de elaboração, adição de ingredientes, composição, consistência e textura, destacando-se:

- **iogurte tradicional** (“set yogurt”): no qual o processo de fermentação ocorre dentro da própria embalagem, não sofre homogeneização e o resultado é um produto firme, mais ou menos consistente;
- **iogurte batido** (“stirred yogurt”): o processo de fermentação ocorre em fermentadeiras ou incubadoras com posterior quebra do coágulo;
- **iogurte líquido** (“fluid yogurt”): o processo de fermentação é realizado em tanques; é comercializado em embalagens plásticas tipo garrafa ou do tipo cartonadas.

As propriedades físicas do iogurte, como consistência/viscosidade do coágulo, são de grande importância, pois quanto maior o conteúdo em sólidos da mistura destinada à elaboração do iogurte, maior a consistência e viscosidade do produto final. A prática utilizada nas indústrias é a adição de leite em pó (integral, semi-desnatado ou desnatado), com o objetivo de alcançar a concentração de sólidos necessária para a melhor consistência do iogurte (TAMIME; ROBINSON, 1991).

A indústria de iogurte em geral está mais centrada no iogurte batido, pois este permite aos produtores adicionar estabilizantes para prevenir a sinérese durante o prazo de validade (LUCHEY; SINGH, 1998).

### 2.2.1 Características e composição

De acordo com a Instrução Normativa nº 46 (BRASIL, 2007) entende-se por leites fermentados os produtos adicionados ou não de outras substâncias alimentícias, obtidas por coagulação e diminuição do pH do leite, ou reconstituído, adicionado ou não de outros produtos lácteos, por fermentação láctica mediante ação de cultivos de microorganismos específicos. Estes microorganismos específicos devem ser viáveis, ativos e abundantes no produto final durante seu prazo de validade. Sendo assim entende-se por iogurte o produto incluído na definição cuja fermentação se realiza com cultivos protosimbóticos de *Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, aos quais se podem acompanhar, de forma complementar, outras bactérias ácido-lácticas que, por sua atividade, contribuem para a determinação das características do produto final.

São requisitos físico-químicos e de características sensoriais para o iogurte (BRASIL, 2007):

- Aspecto: consistência firme, pastosa, semi-sólida ou líquida;
- Cor: branca ou de acordo com a(s) substância(s) alimentícia(s) e/ou corante(s) adicionado(s);
- Odor e Sabor: característico ou de acordo com a(s) substância(s) alimentícia(s) e/ou substância(s) aromatizante(s)/saborizante(s) adicionada(s);
- Acidez (g de ácido láctico/ 100g): 0,6 a 1,5;
- Proteínas lácteas (g/100g): MÍN. 2,9;
- Matéria gorda (g/100g) integral: 3,0 a 5,9.

A gordura é o componente responsável pela cremosidade e maciez dos alimentos, contribuindo também para a aparência, palatabilidade e lubrificação, além de aumentar a sensação de saciedade durante as refeições (CASTRO et al., 2002).

O iogurte também é constituído de uma fonte rica de proteínas, fósforo, vitaminas e carboidratos. O valor nutritivo do iogurte depende da sua composição, ou seja, da matéria-prima utilizada, dos ingredientes adicionados e o processo de fabricação (EARLY, 2000). A composição do produto é basicamente a mesma do leite utilizado (OLIVEIRA, 1993), a não ser quando ocorre a adição de outras substâncias como polpas e sucos de frutas.

A porcentagem de sólidos totais tem efeito marcante na firmeza do gel do iogurte. Em geral, quanto maior a porcentagem de sólidos, mais firme é o produto. Um aumento dos sólidos totais, além de resultar num aumento da titulação (devido ao maior teor de proteínas, citratos e fosfatos), reduz o tempo de coagulação. A composição dos SNG são principalmente a lactose, as proteínas e os sais minerais (TAMINE; ROBINSON, 1991).

A consistência é melhorada quando o percentual do extrato seco total do leite é elevado de 12 para 20 %. Porém, as diferenças de consistência são muito pequenas para os teores entre 16 % e 20 % de sólidos. Logo não há interesse em utilizar concentrações acima de 16 % (FERREIRA, 2005).

No entanto, se o teor de extrato seco total do leite for superior a 25 % haverá uma redução na água disponível para o crescimento da cultura láctica tendo como consequência uma inibição da sua atividade. Devido ao efeito tamponante das proteínas, fosfatos, citratos, lactatos e outros componentes do leite, o extrato seco desengordurado do leite é acompanhado de um aumento na acidez, o qual pode produzir uma diminuição no tempo de coagulação (TAMINE; ROBINSON, 1991). Quanto à qualidade, o iogurte pode ser avaliado por meio de análises como: acidez titulável, pH, determinação da composição, validade comercial e, ainda, as avaliações sensoriais como sabor, aparência, consistência e textura (FERREIRA, 2005).

Para a obtenção de um produto final de qualidade é necessário controlar rigorosamente fatores como: características física e química da matéria-prima; os ingredientes adicionais; o tratamento térmico utilizado; a emulsificação ou homogeneização e a preparação da cultura e do substrato que está sendo usado para fermentação. Assim como, o ajuste da escala de produção pelo controle da quantidade de “starters”, menor ou maior concentração, de modo à controlar o tempo gasto na elaboração de um produto; produção de compostos responsáveis pelo aroma, atividade proteolítica e lipolítica e produção de substâncias, tais como álcool, agentes texturizantes e CO<sub>2</sub> (ibid).



### 2.2.2 Processo tradicional de fabricação do iogurte

Na figura 4 está representado um diagrama de produção do iogurte seguido de uma breve descrição do processamento, ressaltando aspectos que vão desde a seleção e preparo da matéria-prima até a obtenção do produto final. Tal descrição está baseada nos trabalhos de Lobato (2000), Tamime e Robinson (1991) e Brandão (1987).

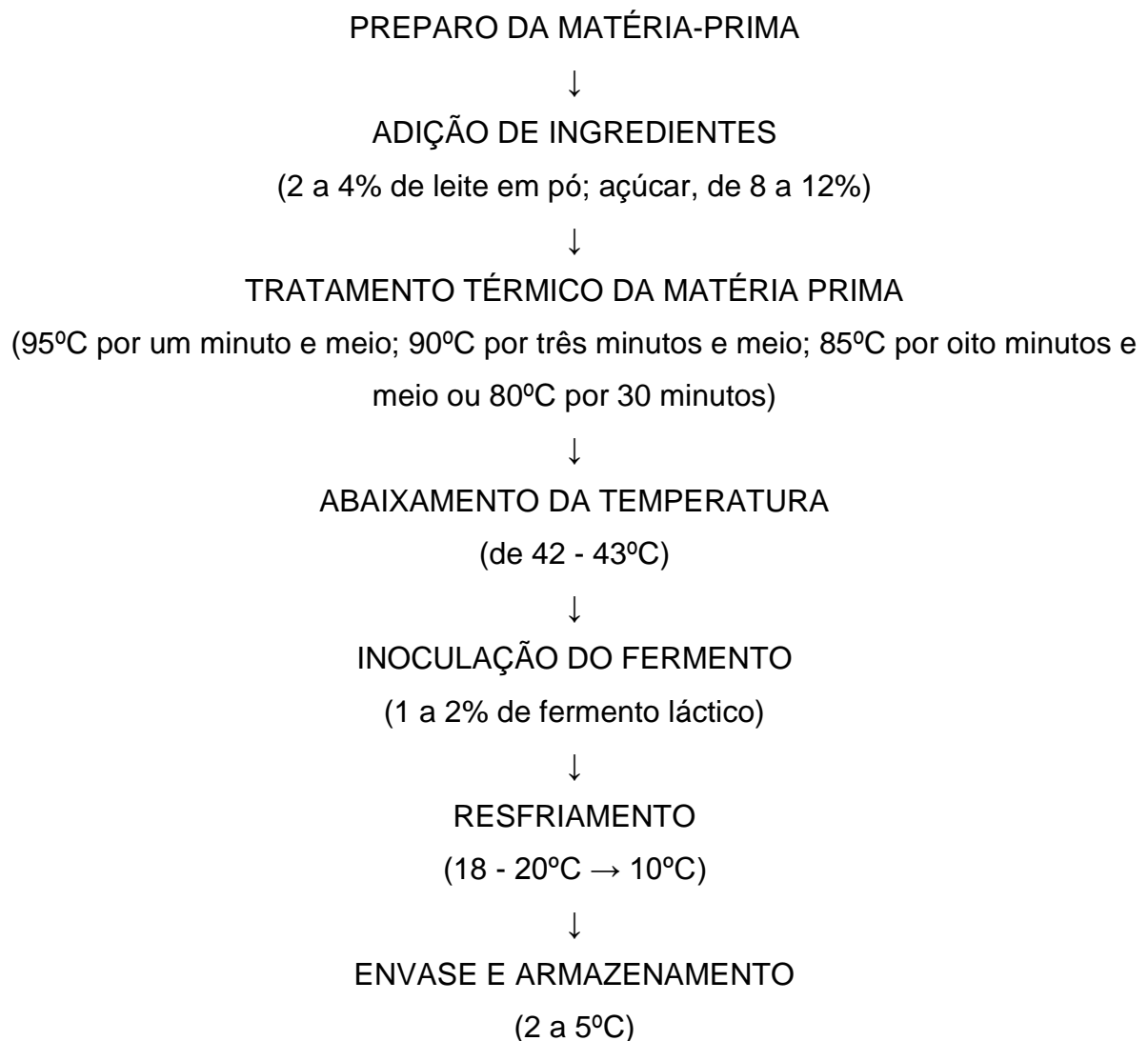


Figura 4. Diagrama da elaboração do iogurte.

O leite utilizado para fabricação de iogurte deve apresentar boa qualidade ser higienicamente produzido e manipulado, de composição físico-química normal, isento de antibióticos e preservativos e não deve ser utilizado congelado, a fim de evitar defeitos na textura do produto. Para a fabricação de um produto mais consistente, deve-se aumentar a matéria seca do leite pela adição de 2 a 4% de leite em pó. No caso de utilizar açúcar, este deve ser adicionado ao leite antes do aquecimento, normalmente de 8 a 12% (Tamime e Robinson, 1991).

O tratamento térmico tem como objetivo destruir os microrganismos patogênicos que possam competir com as culturas do iogurte, além de promover a desnaturação das proteínas do soro que reduz a contração do coágulo da caseína do iogurte, diminuindo, conseqüentemente, a sinérese. O tratamento térmico estimula o início do crescimento da cultura láctica por redução do conteúdo de oxigênio do leite, além disso, influi sobre o aumento da viscosidade do iogurte e na obtenção de uma boa textura (Varnan e Sutherland, 1994).

No aquecimento devem ser rigorosamente observados a temperatura e o tempo em que o leite deve permanecer. O aquecimento mais indicado é por meio de banho-maria ou tanques de parede dupla (encamisados) (Tamime e Robinson, 1991).

Após o leite ser resfriado (42 - 43°C) adiciona-se de 1 a 2% de fermento láctico preparado previamente, para ativação das culturas. Após a adição de culturas no leite, o conjunto deve ser novamente homogeneizado por cerca de 2 minutos e o leite deve permanecer em completo repouso por aproximadamente quatro horas, a uma temperatura de 41 a 45°C. Ao final da fermentação, o coágulo deve apresentar pH entre 4,5 e 4,7 e uma concentração de ácido láctico de 0,9% (LOBATO, 2000).

A cultura láctica deve ser adicionada, somente em leite previamente tratado termicamente. Como a elaboração do iogurte é um processo biológico, torna-se necessário o uso da refrigeração para reduzir a atividade metabólica da cultura, controlando deste modo a acidez do iogurte. É recomendado que se faça em duas etapas de resfriamento, para evitar o choque térmico, que provoca um encolhimento da massa e danos ao coágulo, pois o resfriamento muito rápido pode provocar a separação de soro no iogurte (Tamime e Robinson, 1991).

No caso do iogurte batido, pode-se fazer na temperatura de 18 - 20°C, a adição de ingredientes tais como: frutas, corantes, cereais, mel, etc., que devem ser homogeneizados na massa. Na segunda etapa, a redução da temperatura da massa

deve atingir a temperatura de 10°C. O aparecimento do sabor característico do iogurte ocorre durante as 12 horas posteriores ao resfriamento, proporcionando as características finais de um bom iogurte (BRANDÃO, 1985).

A quebra da coalhada com agitação visa obter uma massa de textura homogênea. A agitação deve ocorrer preferivelmente a temperaturas menores que 40°C para se obter um coágulo consistente durante o armazenamento. A agitação feita a altas temperaturas (exemplo: logo após o término da fermentação) resulta no aparecimento de partículas do coágulo e separação do soro devido à destruição irreversível da estrutura gel (Tamime e Robinson, 1991).

### **2.2.3 Processo de fermentação**

Durante o processo de fermentação ocorre a produção de ácido láctico como produto principal e a produção de pequenas quantidades de outros subprodutos que influenciam profundamente nas características sensoriais do iogurte. O acetaldeído é produzido em maiores quantidades seguido por acetona, 2 - butanona, diacetil e acetoína. O ácido láctico resultante da fermentação contribui para a desestabilização da micela de caseína, provocando sua coagulação no ponto isoelétrico (pH 4,6 - 4,7) e conduzindo à formação de um gel, o iogurte. Além disso, a fermentação láctica beneficia o valor nutricional do produto final (TAMIME; ROBINSON, 1991).

A etapa de fermentação pode ser realizada na própria embalagem de comercialização para a produção do iogurte firme ou em tanques para a produção do iogurte batido. No entanto, independente do tipo de iogurte a ser fabricado, as reações bioquímicas responsáveis pela formação do gel/coágulo são exatamente as mesmas. As únicas diferenças existentes entre o iogurte firme e o batido são as propriedades reológicas do coágulo (ibid).

Para um bom desenvolvimento do processo de fermentação do leite, as culturas devem ser resistentes à degradação, apresentar um poder acidificante médio, capacidade de desenvolvimento em simbiose e de produzirem substâncias responsáveis pela viscosidade, sabor e aroma do iogurte (DEETH; TAMIME, 1981).

## 2.2.4 Cultura tradicional utilizada no processo de fermentação

As bactérias lácticas tradicionais na fabricação de iogurtes são *Streptococcus thermophilus*, cocos unidos geralmente em cadeias curtas, e *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*, bastonetes unidos em cadeias longas, que utilizam a lactose como substrato energético com liberação de ácido láctico. Ambos microrganismos são termofílicos e homofermentativos. O crescimento associado destas duas culturas resulta em menor tempo de coagulação do leite, maior produção de ácido láctico e um maior desenvolvimento de sabor e aroma no iogurte (SABOYA; OETTERER; OLIVEIRA, 1997).

De acordo com Tamime e Deeth (1980) e Tamime e Robinson (1991), a relação ótima entre cocos e bacilos para o desenvolvimento do sabor e aroma característicos do produto é dependente das propriedades das cepas utilizadas e é de aproximadamente 1:1. Este balanço adequado da cultura é importante para a obtenção de um iogurte com boas características sensoriais relativas ao sabor, aroma e textura.

A predominância de qualquer uma das espécies pode acarretar em defeitos para o produto final. Os principais fatores que podem afetar o balanço adequado entre os dois microrganismos são o tempo e a temperatura de incubação e a porcentagem de inóculo. Por exemplo, um tempo menor de incubação resultaria em um produto com maior proporção de cocos e com um sabor fraco. Por outro lado, um tempo maior de incubação ou um resfriamento inadequado favoreceria a predominância de bacilos resultando num produto com sabor amargo (SILVA, 2007).

A temperatura ótima de crescimento do *S. thermophilus* situa-se entre 40 - 45°C, atingindo um mínimo a 20°C e um máximo a 50°C. Para o *L. bulgaricus*, a ótima de crescimento situa-se entre 40 - 43°C, atingindo um mínimo a 22°C e um máximo a 52,5°C. O primeiro resiste até 90° Dornic de acidez, enquanto o segundo até 140° Dornic (BEHMER, 1999).

Quando ocorre uma associação entre *S. thermophilus* e *L. bulgaricus* a temperatura ótima de crescimento fica entre 40 - 45°C e a coagulação pode demorar mais que quatro horas, dependendo da porcentagem de inóculo adicionada. Após o iogurte ter atingindo o pH desejável (geralmente pH 4,6), o gel é resfriado a

temperatura menor que 10°C. O pH final da maioria dos iogurtes varia entre 4,6 - 4,0 (LUCEY; SINGH, 1998).

As bactérias tradicionais utilizadas na fermentação de iogurtes, *S. thermophilus* e *L. bulgaricus*, não pertencem a microbiota intestinal, não são resistentes à bile e conseqüentemente não sobrevivem à passagem através do trato gastrointestinal, portanto não são consideradas como probióticas. No entanto, essas bactérias possuem efeitos positivos como ação inibidora contra bactérias patogênicas no trato gastrointestinal e melhoramento da digestão da lactose devido a presença de enzima  $\beta$ -galactosidade nas células das bactérias tradicionais de iogurte (ibid).

A Instrução Normativa nº 46 (BRASIL, 2007), estabelece que em iogurtes a contagem total de bactérias lácticas viáveis deve ser no mínimo de  $10^7$  UFC/mL no produto final, durante todo o prazo de validade e, no caso em que mencione(m) o uso de bifidobactérias, a contagem será de  $10^6$  UFC/mL.

Atualmente, os microrganismos da cultura tradicional de iogurte (*S. thermophilus* e *L. bulgaricus*) são empregados em combinação com as bactérias probióticas para reduzir o tempo de fermentação e melhorar o sabor, corpo e textura do produto final (DAVE; SHAH, 1997).

Os microrganismos *Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* exibem uma relação denominada protocooperação ou simbiose durante o processo fermentativo de produção do iogurte, já que não existe dependência um do outro para a sua sobrevivência. Essas bactérias produzem mais ácido láctico na forma de cultura mista, ou seja, em simbiose, do que quando utilizadas como culturas isoladas (THAMER; PENNA, 2005).

No início da fermentação, o pH do leite favorece o desenvolvimento do *Streptococcus thermophilus*. Com o aumento da acidificação, ou seja, do teor de ácido láctico a partir da lactose, crescem os *Lactobacillus delbrueckii ssp bulgaricus*. Estes são proteolíticos, obtêm aminoácidos a partir da caseína (glicina, histidina, valina) e ativam o crescimento dos estreptococos que, por sua vez, estimulam o crescimento dos lactobacilos, com a produção de ácido fórmico e gás carbônico (ibid).

Similarmente, o desenvolvimento dos cocos estimula o crescimento dos bacilos devido à produção de ácido fórmico, gás carbônico e a redução da quantidade de oxigênio disponível no meio (TAMIME; DEETH, 1980).

Até esse momento a relação é de simbiose, a partir daí começa a antibiose, quando uma grande quantidade de ácido láctico é acumulada no meio e o pH excessivamente reduzido começa a inibir o desenvolvimento do *Streptococcus thermophilus*. O *Lactobacillus delbrueckii*, por ser mais resistente a acidez, aumenta em número e sobrepuja o desenvolvimento de *Streptococcus thermophilus*. Em condições de pH de 4,3, o crescimento das duas bactérias passa a ser inibido (FERREIRA, 2005).

### **3 MATERIAL E MÉTODOS**

#### **3.1 AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DO LEITE UAT**

Para a avaliação do leite UHT comercializado no estado do Rio de Janeiro, foram realizadas três coletas com intervalo bimestral, em diferentes pontos do comércio varejista da cidade de Niterói e Rio de Janeiro. Foram avaliadas um total de 58 amostras de leite UHT, de diferentes marcas. As amostras de leite foram encaminhadas e analisadas no Laboratório de Tecnologia e Inspeção de Leite e Produtos Derivados da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Federal Fluminense (UFF) - Niterói, Rio de Janeiro.

##### **3.1.1 Análises físico-químicas**

As técnicas de análises físico-químicas pelos métodos de referência utilizadas na avaliação das amostras de leite UAT foram baseadas na Instrução Normativa nº 68 (BRASIL, 2006), sendo: acidez titulável, álcool/alizarol, determinação do teor de gordura, extrato seco total e desengordurado, pH, densidade relativa e depressão do ponto de congelamento do leite (crioscopia).

Para comparar os resultados obtidos nas técnicas de referência com os das técnicas por espectroscopia de ultra-som, foi utilizado o Multi-analisador de Leite por Ultra-som (modelo, BoecoLAC 70, fabricante BOECO Alemanha), calibrado para análise do leite de vaca (DIAS et al, 2010).

Para a detecção de conformidades e não conformidades foram comparados os resultados obtidos nas análises de gordura, acidez titulável, estabilidade ao etanol a 72% (utilizando o alizarol) e extrato seco desengordurado com aqueles indicados no Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Leite UHT (BRASIL, 1997). Para os índices de crioscopia e a determinação da densidade, uma vez que estas análises não estão previstas no RTIQ do Leite UHT (BRASIL, 1997), foram utilizados os parâmetros descritos na Instrução Normativa nº 51 (BRASIL, 2002).

Em relação aos métodos para pesquisa de fraudes foram adotados como referência dos métodos analíticos a Instrução Normativa nº 68 (BRASIL, 2006) e para a avaliação da fraude foi utilizados os requisitos previstos na Instrução Normativa nº 51 (BRASIL, 2002) e no Regulamento de Inspeção Industrial Sanitária de Produtos de Origem Animal (BRASIL, 2008). Para a detecção da presença de fraudes foram utilizadas as metodologias específicas para: reconstituintes da densidade (amido e cloreto), conservantes (cloro e hipoclorito) e neutralizante de acidez.

Todas as análises quantitativas foram realizadas em triplicata e as médias utilizadas na análise estatística dos resultados.

### 3.1.1.1 Descrição das análises físico-químicas

#### 3.1.1.1.1 *Acidez titulável*

A acidez titulável do leite foi efetuada transferindo-se 10 mL da amostra para o béquer e adicionando quatro a cinco gotas da solução de fenolftaleína a 1%, seguindo por titulação com solução Dornic (Hidróxido de Sódio 0,111 N), até aparecimento de coloração rósea persistente por aproximadamente 30 segundos. O volume gasto de solução Dornic na titulação é convertido à acidez em graus Dornic.



#### *3.1.1.1.2 Potencial hidrogeniônico (pH)*

A mensuração do pH foi realizada utilizando o potenciômetro digital (PHmeter Hanna HI 221, Hanna Instruments). Para a análise do leite, a leitura foi realizada diretamente por meio da imersão do eletrodo em 50 mL da amostra.

#### *3.1.1.1.3 Densidade Relativa a 15°C*

A determinação da densidade relativa a 15°C foi realizada pela imersão do termolactodensímetro na amostra de leite, fazendo a leitura da densidade na cúspide do menisco, levando-se em consideração a temperatura da amostra, realizando correções sempre que a amostras estivesse abaixo ou acima de 15° C.

#### *3.1.1.1.4 Depressão do ponto de congelamento*

Essa técnica foi realizada através do equipamento crioscópio eletrônico digital ITR (Mod MC 540). O procedimento consistiu em efetuar três determinações para cada amostra em 3 tubos distintos, contendo 2,5 mL da amostra. Uma vez obtida as três leituras, foi calculado a média aritmética. Considerou-se apenas as leituras dentro dos limites de tolerância de mais ou menos 2 miligraus.

#### *3.1.1.1.5 Determinação do extrato seco total (EST) e desengordurado (ESD)*

Para a determinação do EST e ESD foi utilizado o Método do Disco de Ackermann. O procedimento consistiu em fazer coincidir as graduações dos círculos interno e médio, correspondentes a densidade corrigida e a porcentagem de gordura. A posição da seta indicou no círculo externo a porcentagem de extrato seco

total. O resultado foi obtido em porcentagem de extrato seco desengordurado, subtraindo da porcentagem de extrato seco total a porcentagem de gordura da amostra.

#### *3.1.1.1.6 Determinação do teor de gordura*

A análise de determinação do teor de gordura foi efetuada pelo Método Butirométrico para leite. O procedimento consistiu em adicionar a um butirômetro, 10 mL da solução de ácido sulfúrico, transferir 11 mL de amostra homogeneizada, para o butirômetro lentamente para evitar sua mistura com o ácido e acrescentar 1 mL de álcool isoamílico. Após o butirômetro ser fechado com rolha apropriada, agitado e posto em centrífuga durante 5 minutos com rotação de 1000 a 1200 rpm. Após esse tempo foi transferido para banho-maria a 65°C por 5 minutos. O resultado foi obtido fazendo a leitura da porcentagem de gordura diretamente na escala do aparelho e na base do menisco formado pela camada de gordura, imediatamente após a retirada do banho-maria.

#### *3.1.1.1.7 Álcool/Alizarol 72%*

O procedimento desta análise consistiu em misturar partes iguais da solução de alizarol e de leite fluído em um tubo de ensaio, agitar e observar a coloração e o aspecto (formação de grumos, flocos ou coágulos grandes).

#### *3.1.1.1.8 Pesquisa de reconstituintes da densidade*

Foram realizadas análises para a pesquisa dos seguintes reconstituintes mais comumente utilizados:

- Amido

O procedimento consistiu em adicionar 10 mL da amostra de leite em tubo de ensaio, aquecer até ebulição em banho-maria, e deixar repousar por 5 minutos. Após os tubos foram esfriados em água corrente e adicionados 2 gotas de solução de Lugol. A formação de uma coloração azulada indicava a presença de amido.

- Cloreto

O procedimento consistiu em colocar em tubo de ensaio 10 mL de leite, adicionar 0,5 mL de solução de cromato de potássio a 5 % e 4,5 mL de solução de nitrato de prata 0,1 N e agitar. O resultado foi obtido observando-se a coloração produzida, coloração amarela indicaria resultado positivo com a presença de cloretos em quantidades superiores à faixa normal (0,08 a 0,1 %).

#### *3.1.1.1.9 Pesquisa de conservantes*

Para a pesquisa de cloro e hipoclorito foram colocados em tubo de ensaio 5 mL de leite e adicionar 0,5 mL de solução de iodeto de potássio a 7,5 %, agitar. O resultado foi obtido por meio da observação da mudança de cor.

Em todas as amostras não houve mudança de cor. Sendo assim foi pesquisada a presença de hipocloritos adicionando ao mesmo tubo 4 mL de solução de ácido acético ou ácido clorídrico (1+2) e colocando em banho-maria a 80 °C por 10 minutos. Após este tempo, os tubos foram esfriados em água corrente. O resultado foi obtido por meio da observação da mudança de cor, sendo que a coloração amarela indicaria a presença de hipocloritos.

#### *3.1.1.1.10 Pesquisa de neutralizante de acidez*

Para essa pesquisa foi utilizado o método do ácido rosólico, que tem como procedimento colocar 5 mL de leite em tubo de ensaio e adicionar 10 mL de álcool etílico neutralizado, agitar e adicionar 2 gotas de solução de ácido rosólico a 2 %.

Foi feito um branco com álcool etílico e solução de ácido rosólico a 2 % e comparada as cores. O resultado foi obtido pela mudança de cor, caso positivo a coloração seria vermelho-carmim.

#### *3.1.1.1.11 Método de Ultra - som – BOECO LAC 70®*

Foram realizadas as determinações de densidade, gordura, ponto de congelamento, lactose, proteínas, extrato seco desengordurado (ESD) e sais minerais, em analisador ultra-sônico (US), calibrado para a análise de leite de vaca. As determinações foram realizadas em triplicata, em temperatura ambiente. O procedimento consistiu em acoplar ao aparelho analisador um becker contendo uma alíquota de 40 mL, previamente homogeneizada, da amostra que será analisada.

#### **3.1.2 Pesquisa de antimicrobiano**

Para a pesquisa da presença de substâncias antimicrobianas no leite foi utilizado o Teste ECLIPSE 50<sup>®</sup> (Cap-Lab). O procedimento consistiu em incubar os microtubos em estufa a 65°C por um período de aproximadamente 2 horas 30 minutos, nessa condição os esporos germinam e se multiplicam acidificando o meio e provocando a modificação do indicador de uma cor azul a amarelo esverdeado. O resultado foi obtido pela mudança da coloração no tubo. Se a amostra de leite contém uma concentração de antibiótico superior ao limite de detecção do teste, o crescimento do microorganismo é inibido de modo que não haverá produção de ácido, nem por consequência modificação da cor do meio.

### 3.1.3 Análises Estatísticas

Para a avaliação dos dados obtidos neste experimento, foram realizadas a estatística descritiva: média e desvio padrão e análise de frequência para todos os dados; e correlação de Pearson, análise de variância (ANOVA) e teste Wilcoxon para avaliar os resultados obtidos entre os métodos oficiais e de ultra-som e verificar a influência dos meses na composição e características físico-químicas utilizando o software SAS, a 0,05 de significância.

## 3.2 AVALIAÇÃO DO IOGURTE PRODUZIDO COM LEITE FRAUDADO COM 10, 20 E 40% DE ÁGUA

A produção do iogurte e as análises físico-químicas foram realizadas no Laboratório de Tecnologia e Inspeção de Leite e Derivados, pertencente ao Departamento de Tecnologia de Alimentos da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal Fluminense.

Foram realizadas quatro repetições da produção de iogurte. Em cada repetição foram produzidos iogurtes com leite normal (0% de adição de água), e fraudados com adição de água em três proporções (10%, 20% e 40%). Na primeira repetição o iogurte foi destinado à análise sensorial. Foram realizadas além das análises físico-químicas, análises bacteriológicas de contagem de mesófilos e coliformes a 30/35°C e coliformes a 45°C na matéria-prima; e de coliformes a 30/35°C e coliformes a 45°C no iogurte. Em todas as repetições foi realizada a contagem de *Lactobacillus* spp no iogurte final para os quatro tratamentos.

### 3.2.1 Matéria prima e ingredientes

O iogurte foi elaborado com leite integral UAT adquirido no comércio varejista da cidade de Niterói. Foram utilizados em cada repetição da produção 16L de leite

UAT integral, açúcar (marca União®) na proporção de 8% (1,280g por repetição), e cultura láctica YC 180 (marca CHR Hansen®) constituída por cepas de *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* e *Streptococcus thermophilus*. A quantidade de cultura foi utilizada de acordo com indicação do fabricante, sendo utilizados 0,2 g de cultura para cada 4 litros de leite por tratamento.

Para todo leite utilizado como matéria-prima nas repetições da elaboração do iogurte foram realizadas análises físico- químicas e pesquisa de antimicrobiano.

### **3.2.2 Elaboração do iogurte**

Inicialmente foi realizada a fraude por adição de água ao leite UAT nas diferentes concentrações com 10, 20 e 40% de água, de forma que totalizasse 4 litros de matéria-prima inicial para cada tratamento. A água utilizada para fraudar o leite foi destilada e previamente pasteurizada.

Após a fraude foram adicionados 8% de açúcar e realizado o aquecimento do leite à 40°C. Atingida esta temperatura foi adicionada a cultura láctica. Após a adição da cultura e homogeneização da amostra, as amostras devidamente identificadas e acondicionadas em erlenmeyers, foram levadas para estufa a 45°C até que atingissem um pH referente a 4,5 e uma acidez de 0,65 g de ácido láctico por 100 g do produto.

A fabricação do iogurte seguiu o procedimento indicado por Tamine e Robinson (1991) para iogurte tradicional. Foram utilizados no total 16L de leite UAT integral. Na figura 5 encontra-se o diagrama geral da elaboração do iogurte (Figura 5).

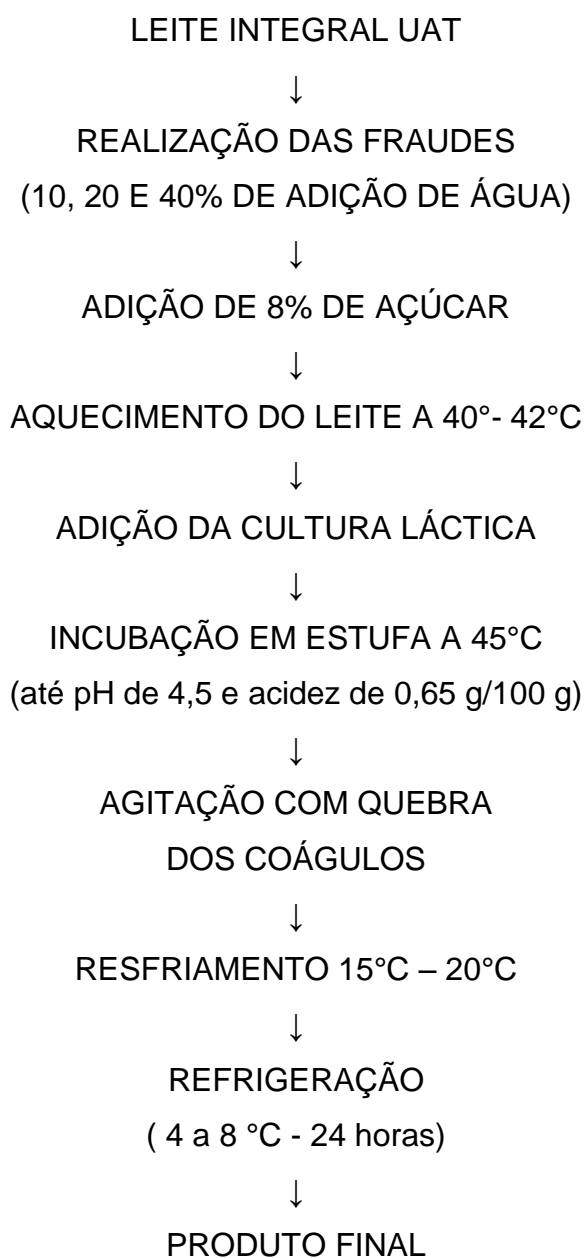


Figura 5 - Diagrama da elaboração do iogurte, produzido no laboratório de Tecnologia e Inspeção de Leite e Derivados da Faculdade de Veterinária da UFF, em 2010.

O volume de leite utilizado e a quantidade dos ingredientes utilizados na elaboração dos diferentes tipos de iogurte estão esquematizados na Tabela 1.

Tabela 1- Quantidade de ingredientes utilizados em cada grupo experimental na produção do iogurte.

TRATAMENTOS	LEITE	ÁGUA	AÇÚCAR	CULTURA
T1 -0% de água	4L	-	320g	0,2g
T2-10% de água	3,6 L	400 mL	320g	0,2g
T3 -20% de água	3,2 L	800 mL	320g	0,2g
T4 -40% de água	2,4 L	1,6 L	320g	0,2g

### 3.2.3 Análises físico-químicas

As análises físico-químicas foram realizadas no Laboratório de Controle Físico-Químico de Produtos de Origem Animal e no Laboratório de Tecnologia e Inspeção de Leite e Derivados, pertencentes ao Departamento de Tecnologia de Alimentos da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal Fluminense.

As análises foram baseadas nas metodologias descritas pela Instrução Normativa número 68 (BRASIL, 2006).

Todas as análises quantitativas foram realizadas em triplicata e o resultado final obtido por média aritmética.

#### 3.2.3.1 Análise da matéria prima

O leite utilizado como matéria-prima para elaboração do iogurte foi submetido às análises de acidez titulável, determinação do teor de gordura, extrato seco total e desengordurado, pH, densidade relativa, depressão do ponto de congelamento do leite (crioscopia) e pesquisa de fraudes reconstituintes da densidade (amido e cloreto), conservantes (cloro e hipoclorito) e neutralizante de acidez de acordo com as metodologias contidas na Instrução Normativa n° 68 (BRASIL, 2006). As análises de composição pelo o multi-analisador de leite por ultra-som (modelo, BOECOLAC



70, fabricante Boeco Alemanha); e pesquisa de antimicrobiano pelo teste eclipse 50®( fabricante Cap-Lab).

As análises foram realizadas para todos os tratamentos (0%,10%,20% e 40% de água), sendo que todas as análises quantitativas foram realizadas em triplicata e as médias utilizadas na análise estatística dos resultados.

### 3.2.3.2 Análise durante fermentação

Durante a o processo de fermentação do iogurte foram procedidas as análises de acidez titulável e pH de hora em hora. As análises foram baseadas nas metodologias descritas pela Instrução Normativa número 68 (BRASIL, 2006).

#### 3.2.3.2.1 Determinação da acidez titulável de leite fermentado

O procedimento consistiu em pesar cerca de 10 g da amostra em béquer de 50 mL, adicionar 10 mL de água isenta de gás carbônico e misturar. Foram adicionadas 4 a 5 gotas do indicador e titulado com solução de hidróxido de sódio 0,1 N sob agitação, até ponto final detectável pelo aparecimento de coloração rósea persistente. O resultado foi obtido por meio do cálculo: % de ácido láctico =  $(V \times f \times 0,9) / m$

Onde:

V = volume da solução de hidróxido de sódio 0,1 N gasto na titulação, em mL;

f = fator de correção da solução de hidróxido de sódio 0,1 N;

0,9 = fator de conversão para ácido láctico;

m = massa da amostra, em gramas.

### 3.2.3.2.2 *Potencial hidrogeniônico (pH)*

Para a realização desta análise foi utilizado o potenciômetro digital (PHmeter Hanna, HI 221, Hanna Instruments). Para a análise do leite, a leitura foi realizada diretamente por meio da imersão do eletrodo em 50 mL da amostra.

### 3.2.3.3 *Análise do iogurte*

No produto final foram realizadas além das análises de pH e acidez titulável, as análises de determinação do teor de gordura, determinação da umidade e determinação de proteínas.

As análises foram baseadas nas metodologias descritas pela Instrução Normativa número 68 (BRASIL, 2006) e pelo Instituto Adolfo Lutz (BRASIL, 2005).

#### 3.2.3.3.1 *Determinação do teor de gordura*

A determinação do teor de gordura do iogurte foi efetuada conforme a metodologia descrita pelo Instituto Adolfo Lutz (BRASIL, 2005).

O procedimento consiste em pesar 10g de iogurte em béquer de 100 mL e adicionar 30 mL de água destilada aquecida a 40°C – 50°C. Em seguida a amostra foi homogeneizada com bastão e transferida para um balão volumétrico onde se completa com água destilada até 100 mL. Após foi adicionado a um butirômetro, 10 mL da solução de ácido sulfúrico, 11 mL de amostra homogeneizada, lentamente e pela parede deste, para evitar sua mistura com o ácido. Foi acrescentado 1 mL de álcool isoamílico. O butirômetro foi fechado com rolha apropriada e agitado e centrifugado durante 5 minutos de 1000 a 1200 rpm. Após a centrifugação foi transferido para banho-maria a 65°C por 5 minutos.

Obteve-se o resultado fazendo a leitura da porcentagem de gordura diretamente na escala do aparelho e na base do menisco formado pela camada de

gordura, imediatamente após retirar o aparelho do banho-maria, e multiplicando por 10.

### 3.2.3.3.2 Determinação de proteína

Para a realização da análise de determinação de proteínas foi utilizado o método Kjeldahl (BRASIL, 2006). Para este método foi utilizado o aparelho micro-Kjeldahl.

O procedimento consistiu em pesar em balança analítica 1,5 g da amostra (quantidade utilizada para leite fermentado) embrulhar em papel livre de nitrogênio e transferir para tubo de Kjeldahl. Foram adicionados 0,25 g de mistura catalítica e 8,0 mL de ácido sulfúrico; aquecidos em bloco digestor por meia hora a 150°C; uma hora a 200°C; uma hora a 300°C e uma hora e meia a 400°C. Quando o líquido estava límpido e transparente, de tonalidade azul esverdeada, foi retirado do aquecimento. Após esfriar foi adicionado 10 mL de água destilada.

Para realizar a destilação, foi acoplado ao destilador um erlenmeyer contendo 20 mL de solução de ácido bórico a 4% com oito gotas de solução de indicador misto. O aparelho utilizado foi o Rapid Destillation Unit Labconco®.

O líquido do tubo Kjeldahl foi colocado em um balão e completado com água destilada até 50 mL e levado para a geladeira até esfriar. Foram colocados 10 mL da amostra no destilador e adicionados 7,0 mL de solução de hidróxido de sódio a 50%. Após foi procedida à destilação coletando cerca de 80 mL do destilado.

A titulação foi realizada com solução de ácido clorídrico 0,1 N até a viragem do indicador. Para obter o resultado, o seguinte cálculo foi realizado:

$$\% \text{ nitrogênio total} = V \times N \times f \times 0,014 \times 100 / m$$

$$\% \text{ protídios} = \% \text{ nitrogênio total} \times f$$

Onde:

V = volume da solução de ácido clorídrico 0,1 N, gasto na titulação, em mL;

N = normalidade teórica da solução de ácido clorídrico 0,1 N (1,0012);

f = fator de correção da solução de ácido clorídrico 0,1 N (1,0012);

m = massa da amostra, em gramas;

F = fator de conversão da relação nitrogênio/proteína.

O resultado pôde ser expresso em proteínas, multiplicando-se a porcentagem do nitrogênio total por fator específico, que no caso das proteínas do leite é 6,38.

#### 3.2.3.3.3 *Determinação do teor de umidade*

A determinação umidade foi procedida segundo o Método de Secagem pela Estufa a 105°C (BRASIL, 2005). O procedimento para leite fermentado consistiu em colocar uma cápsula em estufa a 105°C durante uma hora para secar. Esfriar em dessecador e pesar a cápsula. A amostra (cinco gramas) foi pesada na cápsula, e levada para a estufa por quatro horas, de acordo com a metodologia adotada para leite fermentado na Instrução Normativa número 68 (BRASIL, 2006), em complemento ao Método de Secagem pela Estufa a 105°C (BRASIL, 2005).

Após esse tempo a amostra foi esfriada em dessecador, e pesada. Este procedimento foi repetido de hora em hora até o peso constante. Foi considerado peso constante quando a diferença entre as pesagens sucessivas foi menor ou igual a 0,0005 gramas para cada grama de amostra ou quando a última pesagem for maior que a anterior, sendo a pesagem anterior considerada como o peso constante.

Para obter o resultado, foi utilizada a fórmula a seguir:

$$\% \text{ umidade a } 105^{\circ}\text{C} = \frac{100 \times p}{p'}$$

p = perda de peso em g (p' - (peso constante – peso da cápsula) + alimento)

p' = peso inicial da amostra em g

#### 3.2.4 **Análises Bacteriológicas**

As análises bacteriológicas foram efetuadas no Laboratório de Controle Microbiológico de Produtos de Origem Animal, pertencente ao Departamento de Tecnologia de Alimentos da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal Fluminense.

No leite e no iogurte da repetição em que a produção foi destinada a análise sensorial, foram procedidas as pesquisas de coliformes a 30/35°C e coliformes a 45°C (iogurte e leite) e a contagem de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas (leite), com a intenção de assegurar a qualidade do produto que seguiria pra consumo humano no procedimento de análise sensorial.

Em todas as repetições foram realizadas a análise de contagem de *Lactobacillus* spp no iogurte final.

#### 3.2.4.1 Pesquisa de coliformes a 30/35°C e coliformes a 45°C

A pesquisa de coliformes a 30/35°C e coliformes a 45°C foi realizada pela técnica do Número Mais Provável (NMP). A técnica utilizada foi a de Miniaturização com o caldo Fluorocult (MERCK, 1996, modificado por FRANCO; MANTILLA, 2004), onde para cada tratamento, pesou-se assepticamente uma alíquota de 25 mL em uma balança analítica. A alíquota foi colocada em recipiente de vidro estéril, diluída e homogeneizada com pequena quantidade de Solução Salina Peptonada (SSP) a 0,1% (MERCK, 7228). Depois da homogeneização, o restante da SSP foi transferido totalizando 225 mL, formando a diluição  $10^{-1}$  e, em seguida, as diluições seriadas consecutivas. A análise foi realizada no iogurte nas diluições de  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$  e  $10^{-4}$ .

A Técnica de Miniaturização consiste em utilizar microtubos "Eppendorfs" contendo 900 µL de caldo Fluorocult (MERCK, 10620), em triplicata, e alíquotas de 100 µL de cada uma das diluições das amostras. A incubação é feita a 35 - 37°C por 24 - 48 h.

A positividade para coliforme no caldo Fluorocult era verificada pela viragem da coloração, de amarelado para esverdeado. Os "Eppendorfs" esverdeados seriam colocados contra a luz ultravioleta (366 nm), e nos que apresentassem fluorescência, seria realizada a prova do Indol, que consiste em gotear três gotas do reativo de Kovacs (MERCK, 9293) no cultivo. A formação de anel vermelho na superfície do cultivo confirmaria a presença de *E. coli*.

Com o número de "Eppendorfs" positivos, em cada diluição, utiliza-se a tabela de Mac Crady, e obtém-se o NMP de *E. coli* por grama da amostra, com o cálculo a seguir:

NMP x fator de diluição intermediário x 10/100

#### 3.2.4.2 Contagem de *Lactobacillus* spp.

O método utilizado foi o de inóculo em profundidade (SILVA, 1997). Das amostras, de cada tratamento, foram pesadas assepticamente uma alíquota de 25 mL, em balança analítica. A alíquota era colocada em recipiente de vidro, diluída e homogeneizada com pequena quantidade de Solução Salina Peptonada (SSP) a 0,1% (MERCK, 7228). Depois da homogeneização o restante da SSP foi transferido totalizando 225 mL, formando a diluição  $10^{-1}$  e em seguida as diluições seriadas consecutivas até a diluição de  $10^{-7}$ . Das diluições  $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$  e  $10^{-7}$ , inoculou-se 100  $\mu$ L em placas de Petri e posteriormente adicionou-se o meio ágar Man Rogosa e Sharpe (MRS) (MERCK, 10660) previamente fundido e mantido em banho maria (Fanem) a 55°C. A condição de anaerobiose foi obtida pelo método de dupla camada (SILVA, 1997).

As placas foram homogeneizadas no sentido horário e anti-horário para distribuição uniforme do crescimento das colônias. Após solidificação, foram incubadas a 35 - 37°C por 120 horas (BARRETO et al., 2003; GARCIA et al., 2006). As placas solidificadas foram colocadas na estufa em posição invertida. Após incubação, foi realizada a seleção e contagem total das placas que continham entre 25 e 250 colônias. A análise foi feita em duplicata para cada tratamento e o resultado obtido por média das contagens.

O resultado final da contagem foi calculado aplicando-se a seguinte fórmula:  
Resultado final = colônias contadas x diluição utilizada.

As colônias típicas de *Lactobacillus* spp. no meio MRS são brancas e leitosas (Fig. 6), circulares e com bordas perfeitas (BARRETO et al., 2003).

Para a observação das características morfo-tintoriais, foram transferidas duas colônias de uma placa, de cada tratamento, para uma lâmina de vidro e foi realizado esfregaço, corado pelo método de Gram. Na prova da catalase, foi adicionada às placas peróxido de hidrogênio a 10%. Como a bactéria contada é catalase negativa, as amostras não apresentaram formação de efervescência.

Após os testes, os cultivos apresentaram prova da catalase negativa e presença de bastonetes Gram positivos, sendo então confirmados como *Lactobacillus* spp.

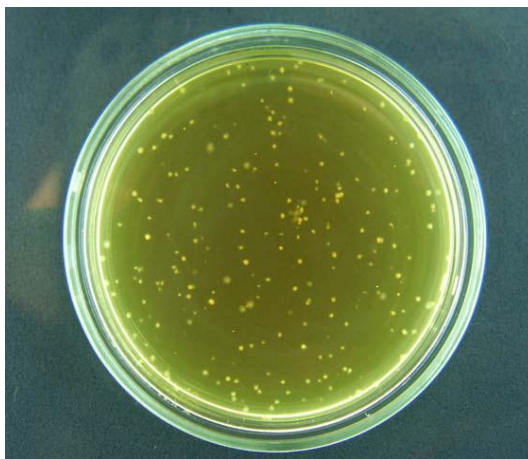


Figura 6 - Colônias de *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* desenvolvidas em meio de cultura MRS após 120 horas de incubação.

#### 3.2.4.3 Contagem de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas

O método utilizado foi o de inóculo em profundidade. Das amostras, de cada tratamento foram pesadas assepticamente uma alíquota de 25 mL, em balança analítica. A alíquota era colocada em recipiente de vidro, diluída e homogeneizada com pequena quantidade de Solução Salina Peptonada (SSP) a 0,1% (MERCK, 7228). Depois da homogeneização o restante da SSP foi transferido totalizando 225 mL, formando a diluição  $10^{-1}$  e em seguida as diluições seriadas consecutivas até as diluição de  $10^{-3}$ . Das diluições inoculou-se 1000  $\mu$ L em placas de Petri e posteriormente adicionou-se o meio Agar Padrão para Contagem APC (MERCK, 5463) previamente fundido e mantido em banho-maria (Fanem) a 45°C.

As placas foram homogeneizadas no sentido horário e anti-horário para distribuição uniforme do crescimento das colônias. Após solidificação, foram incubadas a 35 - 37°C por 48 horas, em posição invertida. A análise foi feita em duplicata para cada tratamento e o resultado obtido por média das contagens.

Após incubação, foi realizada a seleção e contagem total das placas que continham entre 25 e 250 colônias. O resultado final da contagem foi calculado aplicando-se a seguinte fórmula:

$$\text{Resultado final} = \text{colônias contadas} \times \text{diluição utilizada.}$$

### **3.2.5 Análises Sensoriais**

A análise sensorial do iogurte foi realizada no Laboratório de Análise Sensorial, pertencente ao Departamento de Tecnologia de Alimentos da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal Fluminense.

O método sensorial utilizado foi o teste discriminativo duo-trio que detecta diferença sensorial entre uma amostra e um padrão (P). Foram apresentados simultaneamente o padrão e duas amostras codificadas, sendo uma delas idêntica ao padrão. Coube ao julgador identificar a amostra igual ao padrão. A probabilidade de acertos para este teste é de 50% ( $p = 1/2$ ) (CHAVES et al., 2001). Em cada teste foram utilizados 30 julgadores, recrutados aleatoriamente entre alunos, professores e funcionários da Faculdade de Veterinária da UFF. As amostras foram servidas em cabines individuais, dentro de copos plásticos descartáveis, codificados com números aleatórios de três dígitos, e de formas casualizadas.

A análise sensorial foi realizada no terceiro dia de fabricação do iogurte da primeira repetição. Nos testes foram utilizados os quatro tratamentos, o iogurte sem adição de água (0%), e os iogurtes adicionados de 10%, 20 e 40% de água, sendo realizados 3 testes. O objetivo da análise foi verificar se houve diferença sensorial perceptível ao consumidor entre as amostras fraudadas e amostra padrão (0%).

A interpretação do resultado se baseou no número total de julgamentos versus o número de julgamentos corretos. Se o número de julgamentos corretos for maior ou igual ao valor tabelado, concluiu-se que existiu diferença significativa entre às amostras no nível de probabilidade correspondente (CHAVES et al, 2001).



### **3.2.6 Análises Estatísticas**

Para a avaliação dos dados obtidos neste experimento, foram utilizadas a análise de variância (ANOVA) e o teste de média Tukey a 5% de significância por meio do software SAS<sup>®</sup>. O objetivo dessas análises foi de avaliar os resultados obtidos entre os métodos de referência e ultra-som no leite fraudado, e o efeito da adição da água em diferentes proporções na fabricação do iogurte.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 AVALIAÇÃO DO LEITE UAT

#### 4.1.1 Método do Ultra- Som

As médias dos resultados das análises de composição pelo método de ultra-som e pelos métodos oficiais realizadas nos meses de agosto, outubro e dezembro de 2010, estão dispostas na Tabela 2.

Tabela 2 – Médias dos resultados das análises de Extrato Seco Desengordurado (ESD)(%), lactose (%), gordura (%), proteína (%), minerais (%), densidade (g/mL) e crioscopia (°H), pelo método de ultra-som e pelos métodos oficiais, durante os meses de Agosto, Outubro e Dezembro de 2010, em diferentes marcas de leite UAT comercializadas no estado do estado do Rio de Janeiro.

	Ultra Som			Métodos Oficiais			
	Ago	Out	Dez	Ago	Out	Dez	
Gordura (%)	3,55	3,58	3,58	Gordura (%)	3,17	3,24	3,24
Densidade (g/mL)	1,031	1,031	1,031	Densidade (g/mL)	1,029	1,030	1,029
Crioscopia (°H)	-0,536	-0,516	-0,522	Crioscopia (°H)	-0,549	-0,552	-0,553
ESD (%)	7,96	7,91	7,89	ESD (%)	8,23	8,28	8,22
Proteína (%)	3,24	3,14	3,13	EST (%)	11,41	11,53	11,46
Minerais (%)	0,62	0,62	0,62	Acidez Dornic (°D)	16,66	15,72	16,97
Lactose (%)	4,14	4,12	4,11	pH	6,65	6,74	6,68

Comparando os resultados médios obtidos nos meses de agosto, outubro e dezembro, não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas entre as médias avaliadas nos diferentes meses (ANOVA), demonstrando que não houve variação na composição e nas características físico-químicas do leite comercializado no estado do Rio de Janeiro durante esse período (Tabela 2). Esse resultado vai de acordo com o obtido por Rezer (2010) que em experimento parecido avaliou as características físico-químicas de leites comercializados na região do Rio Grande do Sul não observou diferença nas médias obtidas das amostras de leite UAT em dois períodos em que realizou a coleta das amostras, no inverno e na primavera de 2009.

As médias para os resultados de ESD (%), lactose (%), gordura (%), proteína (%), minerais (%), densidade (g/mL) e crioscopia (°H) pelo método de ultra-som estão demonstradas na Figura 7.

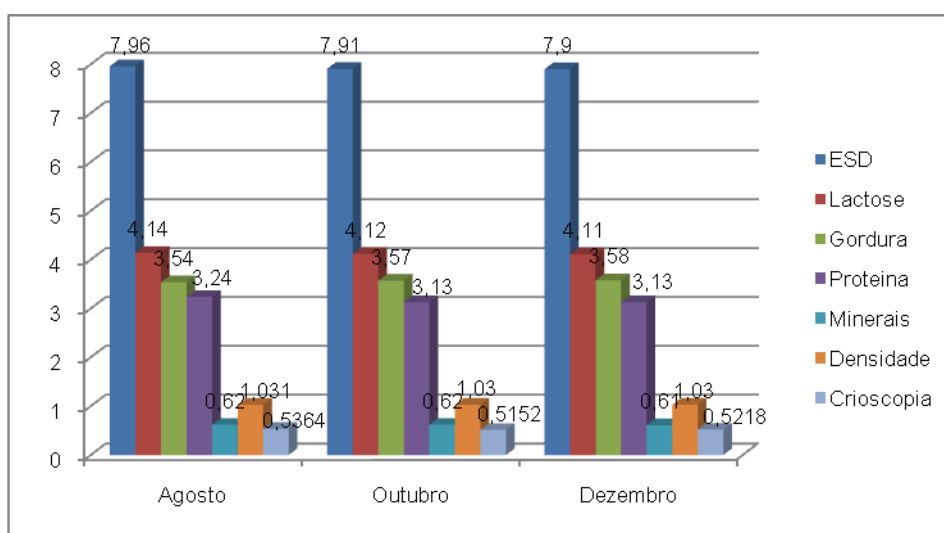


Figura 7 – Médias dos resultados das análises de Extrato Seco Desengordurado (ESD) (%), lactose, gordura(%), proteína(%), minerais(%), densidade(g/mL) e crioscopia(°H), realizadas pela técnica de ultra-som durante os meses de agosto, outubro e dezembro de 2010, em diferentes marcas de leite UAT comercializadas no estado do estado do Rio de Janeiro.

A média dos valores de composição obtidos pelo método de ultra-som para gordura foram 3,55, 3,58 e 3,58% nos meses de agosto, outubro, e dezembro respectivamente; para proteína as médias obtidas foram 3,24, 3,14 e 3,13%, já para lactose os valores obtidos nos meses de agosto, outubro e dezembro fora respectivamente 4,14, 4,12 e 4,11%. Todos esses valores estão de acordo com a

legislação (BRASIL, 2002), com exceção das médias obtidas para lactose que é de 4,3% (BRASIL, 2008), uma vez que foram obtidos resultados entre 4,11 e 4,14%.

Segundo Fonseca e Santos (2001), os teores de proteína e gordura são importantes por fornecer informações sobre parâmetros nutricionais e metabólicos, ocorrência de fraudes e desnate, além de constituir um dado fundamental para a produção de derivados.

Os resultados das médias dos valores obtidos de ESD pelo método de ultra-som nos meses de agosto, outubro, e dezembro foram respectivamente 7,96, 7,91 e 7,89%; já para crioscopia as médias obtidas foram - 0,536°H, - 0,516°H e - 0,522°H, e para densidade as médias apresentadas para os respectivos meses obtiveram todas uma média de 1,031 g/mL.

Todas as médias obtidas pelo método de ultra-som pra ESD desengordurado apresentaram-se abaixo do limite estabelecido pela legislação para leite UAT (BRASIL, 1997), que preconiza como limite mínimo para ESD um valor de 8,2%.

Em relação às médias de crioscopia obtidas pelo método de ultra-som durante esses meses, somente o mês de agosto obteve resultado em conformidade com a legislação (BRASIL, 2002), que preconiza um valor de - 0,530°H como limite máximo para o ponto de congelamento do leite.

Entretanto Venturoso et al., (2007) relatou em seu experimento que os dados obtidos pelo método de ultra-som para a determinação da densidade diferem dos resultados obtidos pelos métodos tradicionais. As médias obtidas para densidade para as amostras analisadas nas três coletas apresentaram-se iguais, 1,031 g/mL, e de acordo com o padrão preconizado por legislação (BRASIL, 2002), que determina os valores em conformidade entre 1,028 a 1,034 g/mL.

#### **4.1.2 Métodos Oficiais de referência**

Os valores médios obtidos para as análises oficiais de referência de pH e acidez titulável estão indicados na Figura 8.

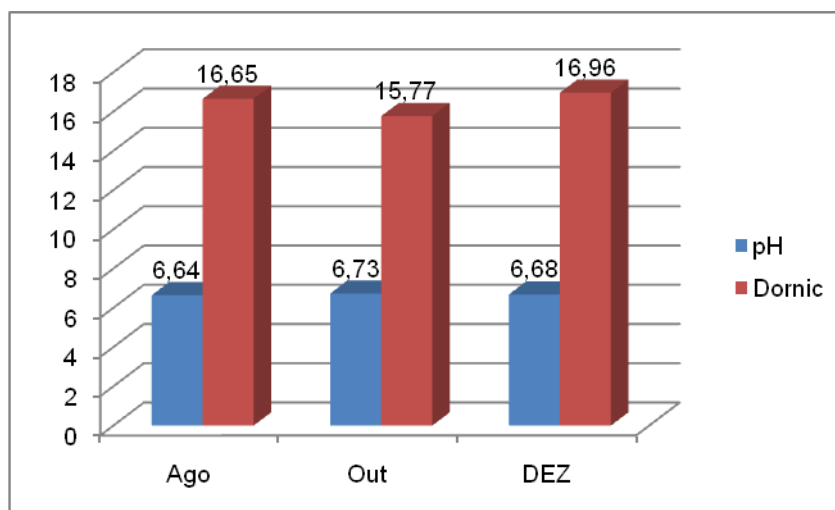


Figura 8 – Média dos valores obtidos para as análises de pH e acidez titulável em leite UAT realizadas por métodos oficiais nos meses de agosto, outubro e dezembro de 2010.

Os resultados das médias dos valores obtidos de pH pelo método oficial de referência nos meses de agosto, outubro, e dezembro foram respectivamente 6,65, 6,74 e 6,68; já para acidez titulável as médias obtidas foram respectivamente 16,66°D, 15,72°D e 16,97°D, estando as médias para todos os meses em acordo com a legislação vigente para leite UAT (BRASIL, 1997).

O pH do leite normal deve estar entre 6,6 e 6,7 (CORTEZ; CORTEZ, 2008). O leite possui fosfatos, citratos, caseína, albumina e dióxido de carbono dissolvido, que agem como agentes tamponantes, que mantêm os valores de pH em níveis constantes (OLIVEIRA; CARUSO, 1996), desta forma os valores encontrados neste experimento para a acidez, apresentam variações ligeiramente maiores quando avaliados por meio de acidez titulável.

Em relação à densidade e crioscopia, os valores obtidos estão dentro da conformidade segundo valores determinados pela legislação para o limite máximo (BRASIL, 2002), levando em consideração os padrões para leite cru ou pasteurizado. Entretanto, especificamente para a crioscopia, os valores obtidos estariam mais baixos (-0,552 e -0,553°H) que o recomendado pelo RIISPOA (BRASIL, 2008) para o leite cru, que é de -0,550°H. Porém, durante o processamento do leite UAT, é comum a utilização de agentes estabilizantes como citrato e ou polifosfatos de sódio poderiam alterar os valores mínimos da crioscopia. Desta forma, a crioscopia com a finalidade de detecção de adições de substâncias

solúveis utilizadas para confundir a análise do ponto de congelamento não seria uma técnica precisa. O mesmo ocorre com a análise de densidade (informação verbal).<sup>1</sup>

Os dados da determinação da gordura, entre 3,17 e 3,24%, e ESD, na faixa entre 8,22 a 8,28%, estavam de acordo com a legislação pertinente (BRASIL, 1997), que preconizou os valores de no mínimo 3,0% e 8,2%, respectivamente para gordura e ESD.

#### 4.1.1 Comparação entre os métodos de análises físico-químicas oficiais e o método de ultra-som

As análises de densidade, crioscopia, gordura e ESD foram comparadas em cada método realizado, oficial e de ultra-som, nas três coletas que foram realizadas de leite UAT nos meses de agosto, outubro e dezembro. As médias dos resultados podem ser vistas na tabela 3.

Tabela 3 - Médias dos resultados das análises de densidade (g/mL), crioscopia (°H), gordura (%) e ESD (%), obtidas pelos métodos oficiais de ultra-som nos meses de agosto, outubro e dezembro.

Meses	Densidade		Crioscopia		Gordura		ESD	
	US	MO	(°H) US	(°H) MO	US	MO	US	MO
<b>Agosto</b>	1,031g/mL	1,029g/mL	-0,5364	0,5490	3,55%	3,17%	7,9%	8,23%
<b>Outubro</b>	1,031g/mL	1,030g/mL	-0,5152	0,5522	3,58%	3,24%	7,9%	8,28%
<b>Dezembro</b>	1,031g/mL	1,029g/mL	-0,5218	0,5534	3,58%	3,24%	7,9%	8,22%

\*US:Ultra-som; MO:Método oficial.

Todas as médias obtidas foram significativamente diferentes de acordo com o teste Wilcoxon ( $P < 0,05$ ) quando comparados os resultados obtidos pelos métodos ultra som e métodos oficiais (Tabela 3).

Apesar das médias determinadas pelo resultado de densidade pelos dois métodos apresentarem-se próximas e em conformidade com a legislação (BRASIL, 2002), os resultados encontrados para a análise de densidade obtidos pelos dois

<sup>1</sup> Comunicação feita por Marco Antonio Sloboda Cortez, em 05-2010, na disciplina de Ciência do Leite, Programa de pós-graduação em Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal, Faculdade de Veterinária, UFF. Niterói - RJ.

métodos apresentaram diferença significativa pelo teste de análise de variância, e com coeficiente de correlação baixo, de 0,26, o que indicou que estes dois métodos não apresentaram comportamento muito semelhante para a análise de densidade do leite UAT.

O resultado obtido nesse experimento está de acordo com o obtido por Ponsano et al. (2007) que em estudo semelhante, encontraram um coeficiente baixo de correlação ( $r=0,225$ ) para esses dois métodos para a análise de densidade, e em desacordo com o obtido por Venturoso et al (2007) que ao comparar os métodos oficiais de determinação físico-química em produtos lácteos observaram teores de densidades sempre menores que os obtidos por método de ultra-som, porém o coeficiente de correlação para estes dois métodos na análise de leite integral foi alto nesse experimento ( $r=0,90$ ), indicando que as duas metodologias foram comparáveis. No caso da espectroscopia ultra-sônica, a densidade do leite está diretamente relacionada à medida da velocidade ultra-sônica, parâmetro extremamente sensível à organização molecular e às interações intermoleculares da amostra, fornecendo, assim, informações bastante seguras sobre a concentração dos componentes (BUCKIN et al., 2003), o que pode explicar a alta correlação encontrada por Venturoso et al. (2007).

As médias para os resultados de crioscopia pelo método de ultra-som neste experimento apresentaram-se maiores que as obtidas pela metodologia oficial, como por exemplo no mês de outubro, onde pelo método oficial o valor da crioscopia foi de  $-0,552^{\circ}$  H, enquanto do ultra som foi de  $-0,515^{\circ}$  H (Tabela 4). O coeficiente de correlação encontrado na comparação da análise do ponto de congelamento da amostra para estes dois métodos foi muito baixo,  $r= 0,028$ , indicando que essas duas metodologias não são comparáveis para esta análise.

As médias obtidas para análise do teor de gordura nos dois métodos nos três meses de coleta permaneceram dentro do estipulado pela legislação (BRASIL, 1997), apresentando valores entre 3,54 a 3,58% para o método de ultra-som, nos meses de agosto a dezembro; e, 3,1 a 3,24%, nos meses de agosto a dezembro, pelo método oficial. Entretanto, ambos os métodos apresentarem diferença significativa pela análise de variância ( $P>0,05$ ). Já o coeficiente de correlação obtido para estes dois métodos foi o mais alto das quatro análises comparadas, apresentando um valor moderado,  $r=0,61$ , o que indica uma baixa semelhança de

comportamento nos resultados obtidos nos dois métodos, considerando esses dois métodos como levemente comparável.

Esse dado difere do obtido por Venturoso et al (2007) e Ponsano et al (2007) , que ao comparar a semelhança entre a análise do teor de gordura no leite realizada pelos métodos oficial e de ultra-som, encontraram alto coeficiente de correlação ( $r > 0,90$ ), indicando semelhança nos resultados entre esse dois métodos.

É importante ter em vista que a determinação da gordura no leite pelo método oficial envolve uma reação de hidrólise ácida para separar proteínas e carboidratos ligados aos glóbulos de gordura (CECCHI, 2003). A técnica analítica do método oficial utiliza ácido sulfúrico e álcool amílico, gerando um resíduo químico que requer descarte apropriado, nem sempre possível de ser realizado nos laboratórios de controle de qualidade. É também técnica destrutiva e requer equipamento e vidrarias específicos. Outro parâmetro medido na espectroscopia de ultra-som, a atenuação, é determinado pela dispersão de ondas ultra-sônicas em amostras não-homogêneas, tais como emulsões e suspensões, e está diretamente envolvido na análise da concentração da gordura do leite por esse método (BUCKIN et al.).

Miles et al. (1990) pesquisaram a atenuação provocada pela fração gordurosa em leite integral submetido a diferentes pressões durante a operação de homogeneização e em leite desnatado e verificaram que a atenuação do ultra-som depende não somente da concentração de lipídeos, como também do grau de homogeneização, em razão de perdas térmicas resultantes da transferência de calor do meio aquoso para os glóbulos de gordura e vice-versa.

Os valores médios nos três meses obtidos para ESD pelos os dois métodos obtiveram diferença estatisticamente significativa pela análise variância ( $p > 0,05$ ). Todos os valores médios encontrados nas três coletas pelo método oficial encontraram-se em conformidade com a legislação (BRASIL, 1997), porém os resultados das médias obtidas pela metodologia de ultra-som encontraram-se abaixo do padrão limite estipulado por legislação, o que classificaria essas amostras como irregulares nessa análise.

O coeficiente de correlação para análises de ESD para estes dois métodos foi -0,50. Venturoso et al (2007) ao correlacionar os dois métodos para análise de ESD, obteve alto coeficiente de correlação ( $r = 0,92$ ), considerando esse dois métodos altamente comparáveis, estando de acordo com resultados encontrados por Ponsano et al. (2007) que encontrou valores diferentes pra ESD pelos métodos



oficial e de ultra-som, porém a correlação entre esses dois métodos para esta análise foi positiva e significativa.

Convém lembrar que, para a determinação do ESD pelo método oficial, é necessária a determinação prévia do EST que, por sua vez, depende dos valores de densidade e porcentagem de gordura. Portanto, qualquer erro na determinação dessas variáveis pelos métodos oficiais levará, diretamente, a erros nos valores de ESD, o que pode justificar as diferenças estatísticas nas médias dos resultados encontrados para os dois métodos (PONSANO et al, 2007).

Neste experimento, os dados obtidos pelos métodos oficiais e de ultra som apresentam baixa correlação e diferenças significativas, entretanto os estudos na literatura a respeito da comparação entre a espectroscopia de ultra-som e os métodos oficiais na determinação de características físico-químicas do leite indicaram que este método pode ser útil em fornecer informações sobre a composição e a estrutura dos componentes físico-químicos, importantes para o controle do processamento e da qualidade (MILES et al., 1990; BUCKIN et al., 2003). Além disso, a análise físico-química do leite por espectroscopia de ultra-som apresenta vantagens sobre os métodos tradicionais por dispensar o preparo das amostras, utilizar volumes mínimos das amostras em estado intacto, dispensar o uso de reagentes químicos e vidrarias específicos e por fornecer o resultado em poucos minutos (PONSANO et al., 2007).

#### **4.1.2 Avaliação das médias das análises físico-químicas**

O resultado médio das análises físico-químicas realizadas por métodos oficiais e de ultra-som, oriundos de três coletas, com um total de 58 amostras de leite UAT integral obtidas no comércio no estado da cidade do Rio de Janeiro para avaliação da qualidade do leite comercializado estão dispostas na Tabela 4.

Tabela 4. Médias e desvio padrão das análises físico-químicas realizadas em 58 marcas de leite UAT integral comercializados no estado do estado do Rio de Janeiro.

<b>Análises</b>	<b>Média</b>	<b>Desvio Padrão</b>	<b>Valor máximo</b>	<b>Valor mínimo</b>
<b>Gordura US</b>	3,56%	0,18	4,05%	3,32%
<b>Densidade US</b>	1,030g/mL	1,01	1,037g/mL	1,029 g/MI
<b>Lactose US</b>	4,12%	0,05	4,22%	4,02%
<b>ESD US</b>	7,90%	0,09	8,10%	7,70%
<b>Proteína US</b>	3,16%	0,21	4,75%	3,05%
<b>Crioscopia US</b>	-0,5243 °H	0,02	-0,499 °H	-0,584 °H
<b>Sais US</b>	0,62	0,01	0,63	0,6
<b>Acidez MO</b>	16,45 °D	1,98	20	13,33
<b>Densidade MO</b>	1,029 g/mL	0,68	1,031g/mL	1,027g/mL
<b>Gordura MO</b>	3,22%	0,17	3,80%	2,93%
<b>EST MO</b>	11,47%	0,03	12,17%	10,85%
<b>ESD MO</b>	8,24%	0,1	8,42%	7,82%
<b>Crioscopia MO</b>	-0,5516°H	0,01	-0,5328 °H	-0,5865°H
<b>pH MO</b>	6,69	0,07	6,84	6,56

Segundo a legislação, o leite UAT deve apresentar no mínimo 3% de gordura, acidez entre 14 e 18 °D e no mínimo 8,2% de ESD (BRASIL, 1997).

Todas as amostras apresentaram-se de acordo com a legislação, tanto pela análise oficial, quanto pelo método de ultra-som. A média do resultado obtido pelo método de ultra-som teve um valor superior ao método oficial de Gerber, sendo 3,56% e 3,22%, respectivamente.

Esse resultado está de acordo com Martins et al. (2008) que obtiveram resultados semelhantes ao analisarem 30 amostras de leite UAT provenientes de uma indústria localizada no Estado de São Paulo no que se refere a gordura, 100% das amostras estavam dentro do estabelecido pela legislação brasileira, assim como Souza et al. (2004), em estudo no Norte e Noroeste do Estado do Paraná. Em trabalho semelhante, Barros et al. (2003) avaliaram os parâmetros físico-químicos de 30 amostras de leite UAT e verificaram que, para a gordura, todas as amostras estavam de acordo com os padrões da legislação brasileira. Rezer (2010) em experimento ao analisar diferentes marcas de leite UAT integral comercializadas no Rio Grande do Sul durante a primavera e o inverno de 2009, e obteve resultados de

gordura dentro do padrão de legislação, apresentado uma média de 3,07% de gordura .

A média dos valores de acidez nas 58 marcas analisadas obtidas por metodologia oficial, encontraram-se de acordo com a legislação (BRASIL, 1997), correspondente a 16,45 °D. O valor máximo obtido para esta análise de 20°D está em desacordo com o valor máximo estipulado pela legislação de leite UAT que é de 18°D, indicando que alguma amostra esteve acima desse padrão, porém esse resultado está em acordo com o RIISPOA (BRASIL, 2008), que estipula uma faixa de 15 a 20°Dornic como padrão de acidez para leite.

Rezer (2010) em seu experimento, observou que somente uma marca analisada durante a fase do experimento realizada no inverno, estava em desacordo com a legislação, com valor de 0,19 g de ácido láctico/100 mL de amostra. Fernandez (2007) analisou 15 lotes de leites UHT após 8 dias de fabricação, mantidos a temperatura ambiente e verificou acidez de 16,60°D a 17,40°D, estando essa faixa de acidez em acordo com a encontrada neste experimento.

Analisando os dados do Extrato Seco Desengordurado (ESD), a média encontrada pelo método de ultra-som para as 58 amostras analisadas foi de 7,90%, estando abaixo do valor mínimo estabelecido na legislação para os leites UHT integral (BRASIL, 1997) que é 8,2%. A média encontrada pelo método oficial para ESD foi de 8,24% estando seu limite máximo dentro do padrão estipulado por legislação, porém o resultado obtido como limite mínimo nessa análise encontra-se em desacordo com a legislação, indicando que houve amostra com resultado abaixo do padrão estipulado. A determinação do extrato seco total e desengordurado pode dar um indicativo da presença de fraudes no leite, principalmente por aguagem.

Rezer (2010) ao analisar ESD em seu experimento constatou um total de 60% das amostras coletadas no inverno fora do padrão estabelecidos na legislação para os leites UAT integral, e 80% das amostras coletadas na primavera durante seu experimento estavam em desacordo com a legislação, com verificação de diferença significativa entre as marcas analisadas nos dois períodos, essas médias encontraram-se abaixo do limite estipulado por legislação estando respectivamente em 8,14% e 8,07%.

Os resultados de ESD encontrados por Martins et al. (2008), em trabalho já citado anteriormente, foram inferiores ao estabelecido de 8,2% em 100% das amostras. Esses dados já diferem dos dados obtido por Bernardi et al. (2006) que

analisaram leite UAT em Andradina - SP e obtiveram resultados dentro dos padrões em 100% das amostras.

Martins et al. (2008) relacionaram o valor abaixo do permitido do ESD com a crioscopia em que obtiveram resultados variados, afirmando que podem estar relacionados a adição de água no leite, por falhas no processamento, pois logo após o tratamento UAT direto deve ser retirada a água que condensou durante a injeção de vapor quente ao leite.

Silva (2001) e Bizari (2002) analisaram amostras de leite UAT, verificaram que todas estavam de acordo com o estabelecido pela legislação brasileira. Tais resultados diferenciam-se dos encontrados no presente estudo, cujos valores verificados foram inferiores para ESD.

Para os demais parâmetros avaliados na Tabela 5 não foram encontrados padrões na legislação brasileira para leite UAT (BRASIL, 2007), por este motivo foi utilizado como fonte de comparação dos resultados de proteína, densidade e crioscopia os padrões para o leite tipo A integral da Portaria Nº 51 do Ministério da Agricultura e do Abastecimento (BRASIL, 2002). Sendo os limites aceitos para proteína/mínimo de 2,9%, densidade/1028 a 1034g/mL a 15°C e índice crioscópico/máximo -0,530°H.

Pode-se observar na Tabela 5 que a média dos resultados encontrados para proteína nesse experimento foi de 3,16% estando de acordo com a legislação vigente, até mesmo o valor mínimo para esta análise nas 58 amostras diferentes encontra-se dentro desse limite estipulado.

Rezer (2010) em seu experimento com análise das características físico-químicas de leite UAT verificou que as médias de proteínas no inverno e primavera encontradas foram respectivamente de 2,91% e 2,95%, com os valores que variaram de 2,83% e 3,03%, essas médias estão no limite do padrão estipulado por legislação. João et al. (2008) analisaram 50 amostras de leite UAT integral em Lages - SC, e encontraram uma média de 3,4% para proteínas com valores variando de 2,6 a 5,0%. Martins et al. (2006) encontraram valores de proteína abaixo de 2,9% em 57% das amostras, estes resultados diferem de Bernardi et al. (2006) que obtiveram 100% das amostras analisadas dentro dos padrões estando de acordo com os resultados obtidos nesse experimento.

Os valores médios encontrados para densidade nos métodos de ultra-som e oficial foram respectivamente de 1,030 g/mL e 1,029 g/mL, estando dentro do limite

estabelecido por legislação nas duas técnicas de análise. Porém o valor máximo encontrado nas análises de ultra-som foi de 1,037 g/mL, encontrando-se acima do limite estipulado por legislação de 1,034 g/mL, porém normal na pesquisa de fraudes. Entretanto, os valores máximo e mínimo encontrados por metodologia oficial encontraram-se dentro do limite padrão estabelecido.

Os resultados encontrados nesse experimento pelo método oficial para análise de densidade estão de acordo com o realizado por Rezer (2010), que verificou que as médias obtidas na análise de densidade estavam todas dentro dos limites estabelecidos na Instrução Normativa nº 51 (BRASIL, 2002), obtendo uma média na coleta da primavera e do inverno de 1,028 e 1,029g/mL respectivamente. Esses dados estão em desacordo com a pesquisa realizada por João et al. (2008) que apesar de terem obtido uma média geral de 1,030g/mL na análise de densidade, verificaram que 4 % das amostras de leite UAT analisadas estavam fora do padrão de densidade.

As médias obtidas para os resultados de crioscopia nesse experimento foram bem diferentes em relação ao método de ultra-som e a técnica oficial. Pelo método de ultra-som a média obtida na análise de todas as amostras foi de -0,5243 °H estando acima do limite máximo estabelecido por legislação, obtendo valores máximo e mínimo também fora desse limite, sendo respectivamente de -0,499 °H e -0,584 °H. Pelo método oficial a média encontrada foi de -0,5516°H.

Carvalho et al. (2007) ao avaliarem a qualidade do leite pasteurizado em Viçosa-MG encontraram uma amostra de uma marca com acidez de 20 °D, índice crioscópico de -0,483, gordura 2,8% e densidade normal, comprovando adição de água e posteriormente alguma substância solúvel, como o sal (cloreto de sódio), para corrigir densidade.

Rezer (2010) verificou em sua pesquisa que todas as amostras analisadas apresentaram médias dentro dos padrões para a crioscopia, e Andrioli et al. (2001) observaram valores adequados de crioscopia em 50 amostras de leite UAT integral , comercializado em Juiz de Fora – MG. Contudo, Viegas et al. (2006) encontraram valores fora dos padrões em 10% das amostras analisadas em leite UAT comercializada em Belo Horizonte – MG, e Andrioli et al. (2001) observaram valores adequados de crioscopia em 50 amostras de leite UAT integral , comercializado em Juiz de Fora - MG.

O valor normal, para leites com 12,5% de extrato seco total (4,3% de lactose e 0,1% de cloretos), é de  $-0,530^{\circ}\text{H}$  até  $-0,560^{\circ}\text{H}$  (FONSECA e SANTOS, 2000).

Muitos autores verificaram que o ponto de congelamento do leite apresenta-se relativamente constante, variando dentro de uma pequena faixa, já que o índice crioscópico é bastante relacionado à lactose (FONSECA e SANTOS, 2000). Porém, alguns fatores podem acarretar em alterações deste índice. Uma diminuição do índice pode ser decorrente de aumento da acidez, congelamento do leite no tanque de expansão ou do aumento da concentração de solutos, tais como sal, açúcares e uréia. Já seu aumento pode estar relacionado com a adição de água ou características relacionadas com o rebanho (BEHMER, 1999).

As amostras obtiveram resultados padrão em torno de 0,62% para teor de minerais pelo método de ultra-som. Esse resultado quando aumentado pode indicar fraude por adição de solutos ao leite.

De forma geral, os resultados obtidos das médias das análises oficiais para todas as amostras nesse experimento quanto aos parâmetros físico-químicos de gordura, acidez e ESD encontraram-se dentro do padrão exigido por legislação (BRASIL, 1997), estando somente o resultado do teor de ESD obtido por metodologia de ultra-som abaixo do padrão estipulado.

Todas as amostras apresentaram-se estáveis para a prova do álcool 72%, atendendo a exigência do Regulamento Técnico par leite UAT (BRASIL, 1997), e indo de acordo com pesquisa realizada por Rezer (2010), e Martins e colaboradores (2008) onde 100% das amostras de leite UAT analisadas apresentaram-se estáveis nesta análise.

Quanto as análises de pesquisa de fraudes verificou-se resultado negativo em 100% das amostras (58), este vai de acordo com experimento realizado por Martins et al (2008) que analisaram 30 amostras de leite UAT, mas em desacordo com pesquisa realizada por Silva et al. (2010) que identificaram adição de substâncias alcalinas em duas amostras de 30 leites UAT analisados em sua pesquisa.

Quanto à pesquisa realizada para detecção de substâncias antimicrobiana, não foi detectada amostra positiva. Esse resultado vai de acordo ao encontrado por Rheinheimer et al. (2005), que ao analisar a presença de antibióticos em leite UAT obteve 100% das amostras negativas.

Os dados das análises físico-químicas obtidas por metodologia oficial apresentam-se de acordo com experimentos como os realizados por Silva (2001) e Bizari (2002) que analisaram amostras de UAT e verificaram que atendiam o estabelecido pela legislação brasileira.

Rabelo (2003) analisou 90 amostras de leite UAT e verificou que, com exceção de uma amostra que estava em desacordo com o padrão para crioscopia, todas as demais estavam de acordo com o estabelecido pela legislação vigente.

Rheinheimer et al. (2005) ao avaliarem a qualidade de leite fluido de diferentes marcas comercializadas em Passo Fundo observaram que 18,7% das amostras de leite UAT apresentaram acidez abaixo da recomendada pela legislação, e a maior parte das amostras analisadas não atingiu o teor de sólidos não gordurosos (SNG). Dentre as marcas analisadas duas apresentaram com teores médios de ESD de 7,3%, em uma delas o índice crioscópico apontou adição de água. Nenhuma amostra de leite UAT apresentou resíduos de antimicrobiano.

Em trabalho semelhante, Barros et al. (2003) avaliaram os parâmetros físico-químicos de 30 amostras de leite UAT e verificaram que, para a gordura e para a crioscopia, todas as amostras estavam de acordo com os padrões da legislação brasileira. Porém, os autores verificaram alguns valores de acidez, densidade, EST e ESD em desacordo com o padrão estabelecido pela legislação vigente.

Em trabalho realizado por Martins et al (2008) foram avaliadas 30 amostras de leite UAT e verificaram que todas as amostras testadas se mostraram estáveis na prova do álcool 68%, e obedeceram aos parâmetros gordura e acidez, porém com relação ao ESD nenhuma das amostras atendeu ao estabelecido.

Silva et al (2010) avaliaram 30 amostras de marcas diferentes de leite UAT e verificou normalidade em 80% (25) das amostras do leite. Das cinco amostras irregulares, duas apresentaram aguagem, com valores do ponto de congelamento acima do permitido pela legislação, duas foram adicionadas de substâncias alcalinas e em uma amostra foi detectada a diminuição do ponto de congelamento, sugerindo a adição de alguma substância ao leite, que não foi determinado na pesquisa de fraudes do experimento.

## 4.2 FABRICAÇÃO DE IOGURTE COM LEITE FRAUDADO

### 4.2.1 Avaliação da matéria-prima

#### 4.2.1.1 Análises físico-químicas

As médias dos resultados referentes ao leite utilizado como matéria-prima para a fabricação do iogurte, após a adição de água, nas quatro repetições podem ser visualizadas na Tabela 5.

Tabela 5. Valores médios das análises físico-químicas pelos métodos oficiais (MO) e pelo método de ultra-som (US) do leite utilizado na fabricação do iogurte.

<b>Tratamento (% adição de água)</b>	<b>pH</b>	<b>Acidez Dornic (°D)</b>	<b>Crioscopia MO (H°)</b>	<b>Densidade MO (g/mL)</b>	<b>Gordura MO (%)</b>		
0	6,53 <sup>a</sup>	16a	-0,550a	1,028a	3,2a		
10	6,56 <sup>a</sup>	13,75ab	-0,502b	1,026ab	2,9ab		
20	6,61 <sup>a</sup>	12,25bc	-0,452bc	1,024bc	2,7ab		
40	6,65 <sup>a</sup>	9,5c	-0,329c	1,023c	2,4b		

<b>Tratamento (% adição de água)</b>	<b>Densidade US (g/mL)</b>	<b>Crioscopia US (°H)</b>	<b>Gordura US (%)</b>	<b>Lactose US (%)</b>	<b>SNG (%)</b>	<b>US</b>
0	1,031 <sup>a</sup>	-0,5229a	3,74a	4,13a	7,95a	
10	1,027b	-0,4635b	3,4ab	3,68b	7,06b	
20	1,025b	-0,4139c	3,15b	3,37b	6,47b	
40	1,018c	-0,3062d	2,47c	2,55c	4,9c	

\*Para cada análise, médias com letras diferentes na mesma coluna são significativamente diferentes pelo teste de Tukey (P<0,05).

Em relação aos valores de pH, foi observado que mesmo com a adição de quantidades crescentes de água, as médias não apresentaram diferenças



estatisticamente significativas, a 0,05 de significância, para todos os tratamentos aplicados. Entretanto, foi observado um aumento do valor do pH progressivamente a adição de água. No leite sem adição de água o valor médio de pH foi 6,53, já na adição de 40% de água, o valor aumentou para 6,65. O aumento de 0,12 no valor de pH, por ser uma unidade relacionada com a escala logarítmica, pode ter significado um aumento real da alcalinidade devido à adição de água.

O comportamento das médias de acidez Dornic nos diferentes níveis de adição de água, apresentou diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos, principalmente entre os tratamentos com adição de mais de 20% de água em relação ao sem adição. O valor relativamente baixo no tratamento com adição de 10% de água, de 13,75° D, apresentou-se em não conformidade com a legislação, que define o limite de 14 a 18° Dornic como padrão (BRASIL, 2002). Estes dados diferem de Dias et al. (2010), que encontraram valores abaixo da legislação apenas após a adição de 25% de água. Neste experimento, o valor mínimo da acidez Dornic foi de 9,5° D, com a adição de 40% de água.

Os valores das médias de crioscopia para os diferentes tratamentos apresentaram diferenças estatisticamente significativas já com a adição de 10% em relação ao tratamento sem adição de água. Todos os tratamentos adicionados de água apresentaram valores fora do padrão estipulado por legislação, que é de -0,530° H (BRASIL, 2002). A crioscopia aumentou progressivamente com o aumento da quantidade de água adicionada, estando de acordo com o trabalho realizado por Dias et al. (2010) que detectaram elevação do índice crioscópico a partir da adição de 1% de água.

Silva et al. (2010) observaram que o nível de detecção mínimo para aguagem do leite diagnosticado pelo método oficial de crioscopia eletrônica foi de 0,4%. A partir deste ponto, o crioscópio não mantinha a regularidade de detecção. Santos e Fonseca (2007), afirmaram que a presença de água pode ser percebida pela interpretação dos valores obtidos na crioscopia que fica mais alta, de modo que o valor se aproxima do ponto de congelamento da água.

Os valores para as médias de crioscopia pelo método de ultra-som nos diferentes tratamentos também se apresentaram mais elevados, obtendo uma faixa de valores entre -0,5229 °H na amostra de 0% e -0,3062 °H para amostra de 40%.

A correlação de Pearson entre o método de ultra-som e o método oficial para esta análise apresentou-se elevada, com o valor de 0,99. Isto indicou uma

semelhança entre o comportamento de aumento do valor da crioscopia por ambos os métodos, concomitantemente ao aumento na adição de água, apesar das duas técnicas apresentarem valores diferentes para os mesmos pontos e serem utilizadas poucas amostras (16 amostras).

Em relação aos valores das médias encontradas pelo método oficial para densidade nos diferentes tratamentos, foram observadas diferenças estatisticamente significativa ( $p > 0,05$ ) entre os diferentes níveis de adição de água, sendo mais marcante principalmente entre o tratamento sem adição de água e com 40% de adição. Todos os tratamentos adicionados de água obtiveram resultados abaixo do padrão estipulado por legislação para esta análise, que define a faixa entre 1,028 a 1,034 g/mL como conformidade (BRASIL, 2002). A presença de água pode ser percebida pela diminuição dos valores obtidos na densidade (SANTOS e FONSECA, 2007).

Em pesquisa realizada por Dias et al (2010), foram observados valores não conformes de densidade somente a partir da adição de 25% de água ao leite (1,027g/mL). Cruz et al (2010) pesquisando a partir de qual percentual de aguagem seria identificada fraude no leite, obtiveram alteração da densidade a partir de 10% de adição de água.

Para os valores de densidade encontrados pelo método de ultra-som também foi observada diferença estatisticamente significativa entre os tratamentos ( $P < 0,05$ ), nos tratamentos com adição de 10 e 20% de água, não existiu diferença estatística ( $P > 0,05$ ). No entanto, com a utilização do método por ultra-som, somente o tratamento com 40% de adição de água apresentou-se em não conformidade com a legislação (BRASIL, 2007). Apesar disso, a correlação entre o método oficial (termolactodensímetro) e o método por ultra-som, apresentou-se alta ( $r = 0,96$ ). Estes achados vão de acordo com o descrito por Venturoso et al. (2007), que também encontraram uma alta correlação entre esses métodos ( $r = 0,90$ ). Inversamente, Ponsano et al. (2007) em estudo semelhante, encontraram um coeficiente baixo de correlação ( $r < 0,225$ ).

Os valores médios de gordura encontrados neste experimento para os diferentes tratamentos diferiram estatisticamente, em especial quando comparados os valores obtidos entre os tratamentos sem adição de água e com 40% de água adicionada. Esses dados vão de acordo com Dias et al (2010) que encontraram em sua pesquisa, diminuição no teor de gordura a partir de amostras adicionadas de

10% de água, e com Cruz et al (2010) que observou alteração no teor de gordura acima de 12% de água adicionada.

Os valores obtidos pelo método de ultra-som para cada tratamento apresentaram diferença estatística significativa ( $P < 0,05$ ). Entretanto, os valores determinados pela técnica de ultra-som foram superiores aos encontrados por metodologia oficial para todos os tratamentos. O coeficiente de correlação entre os métodos de análise utilizados para quantificar a gordura do leite foi alto ( $r = 0,985$ ), indo de acordo com as pesquisas realizadas por Ponsano et al. (2007) e Venturoso et al. (2007) que também encontraram alta correlação entre esses métodos para análise de teor de gordura em leite integral.

Os valores de lactose encontrados pela metodologia de ultra-som para todos os tratamentos estavam abaixo do teor mínimo estipulado por legislação, que é de 4,3% (BRASIL, 2008). Foi observada diferença estatisticamente significativa entre os tratamentos com diminuição da porcentagem de lactose de acordo com a adição de água. Dados semelhantes foram obtidos em experimento conduzido por Dias et al (2010) que observaram uma diminuição do teor de lactose a partir da adição de apenas 1% de água ao leite integral.

Neste experimento as fraudes por adição de água atuaram modificando a concentração dos principais componentes sólidos do leite (lactose e gordura), corroborando com experimento realizado por Dias et al (2010), onde adições de água ao leite em diferentes proporções também reduziram os teores de gordura, lactose, proteínas e minerais. Essa redução dos sólidos totais estaria relacionada com a diminuição do rendimento industrial e da textura/viscosidade dos produtos.

Os valores encontrados para sólidos não gordurosos (SNG) pela metodologia de ultra-som diferiram estatisticamente entre os tratamentos. Houve diminuição desses valores de acordo com o aumento da adição de água ocasionada pela diluição do leite. Esse dado é equiparável com o obtido por Cruz et al (2010) que identificou alteração do extrato seco desengordurado em amostra com adição de água acima de 4%.

A pesquisa de presença de fraudes (reconstituintes de densidade, conservantes e substâncias alcalinas) foi negativa em todas as repetições, atendendo aos padrões determinados no regulamento técnico do produto, confirmando a qualidade desejável da matéria prima (BRASIL, 1997).

#### 4.2.1.2 Análises bacteriológicas

As análises bacteriológicas realizadas no leite UAT utilizado como matéria prima para elaboração do leite iogurte, apresentaram resultados satisfatórios, visto que não houve observação de crescimento de Bactérias Heterotróficas Aeróbias Mesófilas. A pesquisa de presença de resíduos de antimicrobianos foi negativa atendendo aos padrões determinados no regulamento técnico do produto, confirmando a qualidade desejável da matéria prima (BRASIL, 1997).

O leite utilizado não apresentou coliformes a 35°C e 45°C, não se observando a viragem de cor para esverdeado e nem a fluorescência em luz ultravioleta, não sendo necessária a continuação da análise com o reativo de Kovacs.

#### 4.2.2 Potencial hidrogênico e acidez titulável durante a fabricação

O acompanhamento da acidez desenvolvida ao longo do período de fermentação pelos microrganismos adicionados ao leite, mensurada pelos métodos de acidez Dornic e pH, em todos os tratamentos de adição de água, esta representado na Figura 9.

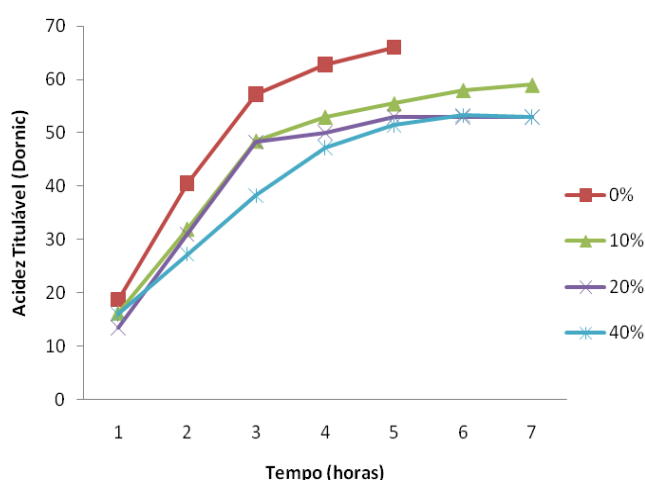


Figura 9 - Desenvolvimento da acidez titulável, medida em graus Dornic, para os tratamentos de adição de água, ao longo do tempo de fermentação.

Em relação aos valores de acidez em graus Dornic foi observado que o tratamento sem adição de água obteve valores superiores aos tratamentos em que houve adição de água nas diferentes proporções, e alcançou a acidez desejada de 65°Dornic em um tempo de 5 horas. Esse dado vai de acordo com dados descritos por autores como Tamine e Robinson (1991), Van de water, (2003) e Ordoñez (2005) que afirmam que o processo de produção do iogurte ocorre em média de 4 a 5 horas em uma incubação a temperaturas de 40 a 44 °C.

Nos tratamentos adicionados de água em diferentes proporções pode-se observar um tempo de fermentação mais demorado, levando em média 7 horas de fabricação sem alcançar a acidez desejada de 65°Dornic, mantendo uma média constante de acidez a partir do tempo de 5 horas, com uma acidez média final de 59°D, 53°D e 53°D nas amostras de 10, 20 e 40% respectivamente.

O aumento do tempo necessário a fermentação foi proporcional a adição de maiores volumes de água, os tratamentos com maiores níveis de adição de água obtiveram um resultado de acidez final menor, sendo esse resultado foi inversamente proporcional a adição de água. Essa lentidão observada nos tratamentos adicionados de água, pode apresentar relação com a redução proporcional da quantidade de substratos, principalmente lactose, proteínas e aminoácidos nesses tratamentos.

A fermentação láctea apresenta uma série de características próprias, distintas das demais fermentações industriais. Geralmente é descontínua; objetiva um produto final diferente da matéria-prima e utiliza como substratos lactose, lactato e citrato (AQUARONE, 1983). O crescimento dos *Lactobacillus* é afetado por vários fatores ambientais, como pH do meio, tensão de oxigênio, e o nível de substrato disponível (BRANDÃO, 2007), assim a modificação da matéria prima realizada neste experimento pode ter alterado o perfil do metabolismo microbiano.

O comportamento observado nesse experimento vai de acordo com estudo realizado por Pereira (2002) que ao analisar o processo de fermentação em iogurtes com diferentes teores de lactose, observou que amostras que obtinham menor quantidade de lactose tiveram valores menores de acidez, maiores valores de pH, além de levarem maior tempo para atingir a o nível de fermentação ideal.

No início da fermentação, o pH do leite em torno de 6,5 favorece o desenvolvimento do *Streptococcus thermophilus*, iniciando a produção de ácido no

meio devido à conversão da lactose. Com o aumento da acidificação ocorre o crescimento do *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* que são proteolíticos, obtêm aminoácidos a partir da degradação da caseína (glicina, histidina, valina) (REIS et al., 2007; RODAS et al., 2001; TAMINE; DEETH, 1980). Quanto maior a disponibilidade de substrato, maior a capacidade do *Streptococcus thermophilus* em acidificar o meio e conseqüentemente maior crescimento de *Lactobacillus* contribuindo para elevação da acidificação do meio.

Diferente da acidez mensurada em graus Dornic, o comportamento da acidez em valores de pH nos diferentes tratamento com adição de água mostraram-se semelhantes em relação a amostra sem adição de água (0%), como pode ser visto na Figura 10.

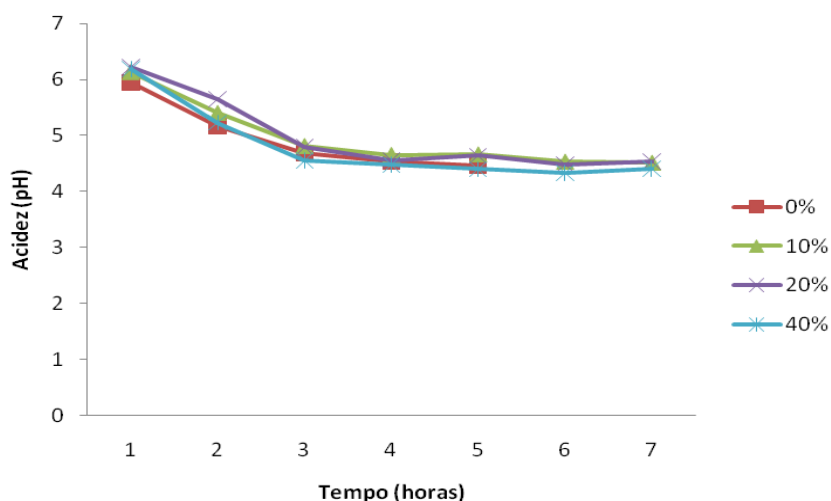


Figura 10 - Desenvolvimento da acidez, medida em valores de pH, para os tratamentos de adição de água, ao longo do tempo de fermentação.

Neste experimento foi observado pela mensuração dos valores de pH de hora em hora, que a adição de água em diferentes proporções não alterou de forma marcante os valores de pH durante o tempo de fermentação dos tratamentos. No tempo de 5 horas todos os tratamentos atingiram a média de pH desejável em torno de 4,5 não sendo esse um dado com diferença relevante entre os tratamentos.

Esse fato pode estar relacionado ao efeito tampão da água e ao poder tampão do leite. O leite possui fosfatos, citratos, caseína, albumina e dióxido de carbono dissolvido, que mantém os valores de pH em níveis constantes (OLIVEIRA;

CARUSO; 1996). O uso de água destilada na fraude do leite pode ter influenciado na manutenção do valor do pH entre os tratamentos.

### 4.2.3 Composição do iogurte

Os resultados referentes ao pH, acidez e à composição (porcentagem de gordura, porcentagem umidade e porcentagem de proteína) das amostras do produto final, realizados 24 horas após a fabricação, encontram-se na Tabela 6.

Tabela 6 – Comparação das médias do pH, acidez e composição (% gordura, % umidade e % proteína) dos quatro tratamentos do iogurte nas quatro repetições.

Tratamento	pH	Acidez	Gordura	Umidade	Ptn
0%	4,54a	0,77a	3,5a	81,84a	3,9 <sup>a</sup>
10%	4,42a	0,72ab	3ab	82,85ab	3,6 <sup>a</sup>
20%	4,39a	0,64bc	2,25b	84,00bc	2,64b
40%	4,36a	0,55c	1,25c	85,85c	1,8c

\* Médias com letras diferentes na mesma coluna são significativamente diferentes pelo teste de Tukey (P<0,05).

Os valores médios de pH no produto final não apresentaram diferenças estatisticamente significativas a nível de 5% de probabilidade para os diferentes tratamentos de adição de água, estando o valor médio de pH em torno do valor desejável de 4,5 – 4,3. Essa baixa variação do valor de pH do produto para os diferentes níveis de adição de água pode ser atribuída ao poder tampão do leite e da água destilada.

Segundo Martim (2002) relata que valores de pH entre 4,6 e 3,7 normalmente são encontrados nos produtos, mas valores entre 4,4 e 4,0 são considerados mais próximos do ideal, uma vez que o produto nesta faixa de pH não se apresenta excessivamente amargo ou ácido.

Apesar de não haver um padrão específico para o pH do iogurte na legislação, a técnica de fabricação típica consiste na obtenção de um produto com pH final entre 4,2 e 4,5 (ORDOÑEZ, 2005).

Rodas et al. (2001) ao analisar diferentes marcas de iogurte observaram que todas as marcas encontravam-se dentro do limite de pH entre 3,6 a 4,3 , no qual houve crescimento das bactérias lácticas normalmente e sem prejuízo. Esses valores também estão de acordo com estudo realizado por Pereira et al (2007), que ao analisar diferentes marcas de iogurte integral obteve os mesmos valores de pH encontrada por Rodas et al (2001).

Em relação aos valores médios de acidez obtidos no produto final para os quatro tratamentos, é perceptível que há uma diminuição da acidez em gramas de ácido láctico por 100 gramas do produto de acordo com o aumento da adição de água em cada tratamento. O tratamento sem adição de água (0%) foi o que obteve maior valor de acidez. Esse comportamento dos resultados finais evidencia que a quantidade de adição de água influencia no valor da acidez, obtendo valores menores de acidez quanto maior a proporção de adição água ao produto.

Os quatro tratamentos apresentaram diferenças significativas estatisticamente ( $p > 0,05$ ) entre si, e a diferença em valor mais marcante foi entre os resultados do tratamento sem adição de água e com 40% de água adicionada, obtendo uma diferença de valor de 0,22 g de ácido láctico/100g entre esses tratamentos.

Mesmo com a adição de 10% e 20% de água, os valores de acidez obtidos para estes tratamentos apresentaram-se em conformidade com a legislação vigente, que preconiza um valor de 0,6 a 1,5 g ácido láctico/100g (BRASIL, 2007).

Apesar do resultado obtido para o tratamento com 20% de adição de água estar em conformidade com a legislação, esse tratamento não obteve diferença significativa estatisticamente ( $p > 0,05$ ) em relação ao tratamento com 40% de adição de água, que foi o único que apresentou valor de acidez fora do padrão preconizado por legislação (BRASIL, 2007).

Pereira et al (2005) ao analisar o teor de acidez em diferentes marcas de iogurte encontrou um valor médio de 0,76 g de ácido láctico/100g, e apenas uma marca fora do padrão da legislação apresentando 0,50 g de ácido láctico/100g.

A diferença no resultado de acidez entre os tratamentos encontrada nesse experimento pode ser atribuída à diminuição dos substratos do iogurte como a proteína e a lactose, devido a diluição provocada pela adição de água ao leite. Essa diminuição dos substratos prejudica o metabolismo dos microrganismos da cultura "starter", que conseqüentemente acidificam menos o meio durante o processo de



fermentação, como percebido anteriormente ao analisar os valores de acidez obtidos durante o processo de fermentação.

Os valores do teor de gordura encontrados neste experimento apresentaram redução proporcional à quantidade de água adicionada em cada tratamento. Quanto maior a proporção de água adicionada menor foi valor de teor de gordura encontrado. O tratamento sem adição de água apresentou maior teor de gordura como já esperado, estando de acordo com a legislação vigente (BRASIL, 2007), obtendo diferença significativa estatisticamente ( $P < 0,05$ ) dos tratamentos com 20 e 40% de adição de água.

O tratamento com 10% de adição de água, não apresentou diferença significativa estatisticamente ( $P < 0,05$ ) do tratamento sem adição de água, obtendo valor de gordura de 3% estando em conformidade com a legislação vigente para iogurte integral (BRASIL, 2007).

O tratamento com 40% de adição de água diferiu estatisticamente dos demais tratamentos ( $P < 0,05$ ), obtendo o menor valor de gordura. Com a adição de 40% de água observou-se uma diminuição no teor de gordura de 3,5% (0%) para 1,25%.

Apenas os tratamentos com 20 e 40% de adição de água apresentaram-se em inconformidade com a legislação para os teores de gordura (BRASIL, 2007).

Os resultados obtidos na análise de umidade confirmaram o aumento de água em cada tratamento, apresentando valores superiores de umidade nos tratamentos com maior adição de água. O valor máximo foi obtido no tratamento de 40% de água que obteve 85,85% de umidade.

O tratamento sem adição de água (0%) obteve diferença significativa estatisticamente ( $P < 0,05$ ) dos tratamentos com 20 e 40% de adição de água, mas não diferiu estatisticamente do tratamento com 10% de água.

O comportamento das médias do valor obtido para proteínas nos diferentes níveis de adição de água apresentou diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos, principalmente entre os com adição de mais de 20% de água em relação ao sem adição. Os valores de 0% e com adição de 10% de água não obtiveram diferenças estatisticamente significativas ( $P < 0,05$ ) estando esses dois valores em conformidade com a legislação, que define o limite mínimo de 2,9% como padrão (BRASIL, 2007).

A partir de 20% de adição de água os valores encontrados foram de 2,64% e 1,8% no tratamento com 40% de água, esses valores estão em inconformidade com a legislação (BRASIL, 2007). Rodas (2001) ao analisar 8 diferentes marcas de iogurtes, obteve em seu experimento um resultado onde 50% das amostras de iogurtes possuíam valores médios de proteínas abaixo do recomendado pela legislação.

Alves (2007) realizou uma pesquisa com diferentes marcas de iogurte comercializadas no Rio Janeiro e observou que apenas uma marca atingiu o valor mínimo estabelecido por legislação para proteína, todas as outras amostras de iogurtes tiveram resultados inferiores estando em desacordo com a legislação (BRASIL, 2007). Por sua vez, Rodas et al (2001) ao analisar diferentes marcas de iogurtes com frutas comercializados em São Paulo encontrou em sua pesquisa, conteúdo de proteína com valor médio de 2,95% ( $\pm 0,46$ ) em suas amostras.

Neste experimento os dados obtidos demonstram uma diminuição progressiva do valor de proteína de acordo com a proporção de água adicionada.

#### 4.2.4 Contagem de *Lactobacillus* spp.

As médias dos resultados referentes à contagem de *Lactobacillus* nos diferentes tratamentos do iogurte, nas quatro repetições podem ser visualizadas na Tabela 7.

Tabela 7 - Valores médios das análises de contagem de *Lactobacillus* spp (Log UFC/g) do iogurte nos quatro tratamentos, 0%, 10%, 20% e 40%.

Tratamentos	<i>Lactobacillus</i> spp
0%	7,74 a
10%	7,12 a
20%	7,1 a
40%	6,9 a

\* médias com letras diferentes na mesma coluna são significativamente diferentes pelo teste de Tukey (P<0,05)

Em relação ao valor médio da contagem de *Lactobacillus* spp em cada tratamento foi observado que mesmo com a adição de quantidades crescentes de água, as médias não apresentaram diferenças estatisticamente significativas, a 0,05 de significância, para todos os tratamentos aplicados. Entretanto, foi observada uma redução no número de microrganismos, com o aumento da quantidade de água adicionada em cada tratamento, o que colabora com os dados obtidos para a acidez como pode ser observado na Figura 11.

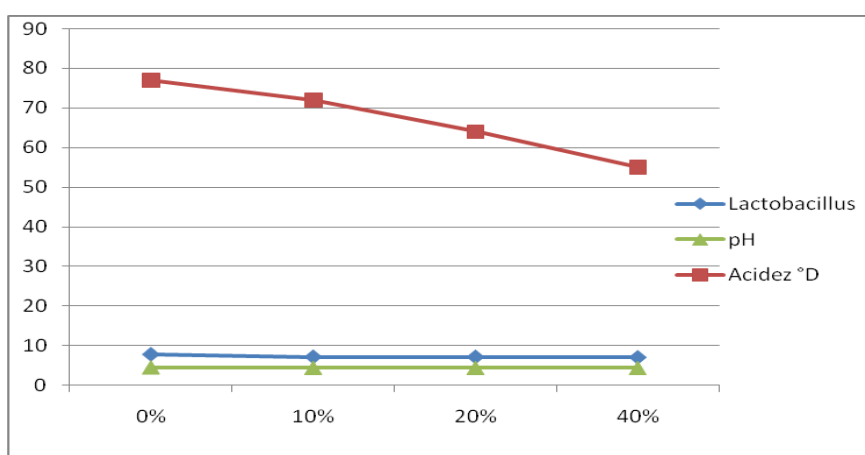


Figura 11 - Representação gráfica dos resultados da Contagem de *Lactobacillus* spp (Log UFC/g), pH e acidez em graus Dornic dos iogurtes nos diferentes tratamentos com adição de água.

No leite sem adição de água, o valor médio de Log UFC/g foi de 7,74, já na adição de 40% de água, o valor diminuiu para 6,9. A diminuição de 0,84 no valor da contagem média, por ser uma unidade relacionada com a escala logarítmica, significa uma diminuição real da contagem de microrganismos devido à adição de água.

A capacidade de produzir grande quantidade de ácidos orgânicos, principalmente ácido láctico, e conseqüentemente reduzir o pH, é o fator primário em que se baseia a atividade antimicrobiana das bactérias lácticas (JATOBÁ et al., 2008). Com uma diminuição na contagem de bactérias lácticas devido a adição de água, a acidez Dornic do produto ficou comprometida, ocorrendo diminuição da acidez de acordo com a diminuição na contagem das bactérias lácticas (Figura 11).

Espécies do gênero *Lactobacillus* são acidofílicas, com pH ótimo de crescimento entre 5,5 e 6,2. Entretanto, o desenvolvimento geralmente ocorre em pH menor ou igual a 5,0; em pH neutro ou levemente alcalino a taxa de crescimento é

reduzida (BRANDÃO, 2007). Assim, valores de pH gradativamente mais altos no leite com maiores percentuais de adição de água podem ser relacionados como um fator que colaborou para a diminuição do desenvolvimento dos *Lactobacillus* nos tratamentos em que a adição de água foi maior.

O limite estipulado por legislação para contagem de bactérias lácticas viáveis em iogurte é de  $10^7$  UFC/g (BRASIL, 2007). Segundo Rodas et al (2001) para que a qualidade do iogurte seja garantida, o número de colônias de *L. bulgaricus* e *S. thermophilus*, individualmente, não deve ser inferior a  $10^7$  colônias por grama ou mL. Neste experimento as médias encontradas para contagem de *Lactobacillus* spp variaram de  $9,2 \times 10^7$  UFC/g no tratamento sem adição de água, a  $1,2 \times 10^7$  UFC/g no tratamento com adição de 40% de água. Todos os tratamentos realizados neste experimento obtiveram contagens de *Lactobacillus* spp em conformidade com a legislação (BRASIL, 2007).

Em experimento realizado por Rodas et al (2001) 6,7% das amostras de iogurte analisadas não apresentaram o limite mínimo para contagem de *Lactobacillus* spp, estando abaixo do limite estipulado de  $10^7$  UFC/g. Pereira et al (2005) em estudo semelhante identificou apenas uma marca de iogurte em desacordo com o limite da legislação.

#### 4.2.5 Análise sensorial

Os resultados das análises sensoriais do iogurte elaborado na primeira repetição, no terceiro dia de fabricação, pelo teste discriminativo Duo-trio, encontram-se na Tabela 8 a seguir.

Tabela 8 - Resultados da análise sensorial pelo teste discriminativo Duo-trio, do iogurte com 0% de água (amostra Padrão), 10% de água, 20% de água, e 40% de água.

Tratamentos	Identificação da amostra correta (0%)
10%	23 julgadores
20%	24 julgadores
40%	27 julgadores

De acordo com a tabela para o teste duo-trio (unilateral  $p=1/2$ ) (CHAVES; SPROSSER, 2001) todas as amostras diferiram significativamente da amostra padrão ao nível de 5% de probabilidade. O número mínimo de acertos da amostra correta para se detectar diferença significativa é considerado de 20 acertos.

Na análise sensorial realizada nesta pesquisa, foi verificado que a adição de água nas proporções de 10%, 20%, e 40% no leite de fabricação do iogurte promoveram diferença sensorial detectável pelo consumidor.

A adição de água tornou o produto visivelmente mais diluído, menos consistente e viscoso. Esse fato pode se basear na diminuição do desenvolvimento e conseqüentemente do metabolismo dos *Lactobacillus* spp respectivamente nos diferentes tratamentos. As bactérias lácticas em seu metabolismo liberam substâncias que são agentes espessantes, geleificantes e estabilizantes. Na fabricação de leites fermentados os exopolissacarídeos produzidos por bactérias lácticas são muito utilizados devido às propriedades reológicas que proporcionam aos produtos (FONTES et al. 2005).

As atividades metabólicas das bactérias lácticas contribuem para o desenvolvimento das características sensoriais desejáveis no produto, como também permitem conservar ou aumentar o valor nutritivo da matéria-prima, proporcionam sabor e textura dos alimentos (FONTES et al., 2005; MARTINIS et al., 2003).

Segundo Alves (2007) a baixa acidez no produto pode levar a uma diminuição da viscosidade do iogurte promovendo um defeito de estrutura granulosa, alterando seu frescor e suas qualidades gustativas.

As atividades metabólicas da microbiota como a degradação da lactose em ácido láctico, contribuem para a elevação da acidez e para o desenvolvimento das características sensoriais desejáveis no produto (MARTINIS et al., 2003).

O aroma característico do iogurte é atribuído exclusivamente ao desenvolvimento do *S. thermophilus* e os microrganismos do iogurte participam do aumento da viscosidade que está presente no iogurte batido. Além de a viscosidade ser resultado da elevação da acidez, também é aumentada pela presença do *L. bulgaricus* que produz polissacarídeos, como a mucina (VEISSEYRE, 1980).

Os tratamentos com adição de água obtiveram diminuição do teor de lactose e de gordura, o que contribui para alterações sensoriais neste produto. Esse comportamento já foi observado por Pereira (2002), que ao analisar sensorialmente

amostras de iogurte com diferentes teores de lactose, obteve amostras que foram consideradas pelos provadores como “com menos consistência (aguada)” e “menos ácida (acidez indesejável)”, tendo baixa porcentagem de preferência pelos consumidores; e Neto et al (2005) também realizaram análise sensorial de iogurte com diferentes teores de gordura, e observaram a preferência do consumidor pela amostra integral, com 3% de gordura.

## 5 CONCLUSÃO

A qualidade do leite pesquisado apresentou-se dentro do exigido pela legislação, não apresentando substâncias fraudulentas, nem modificação da composição.

Apesar de ser rápido e de fácil utilização o método de ultra-som não mostrou-se adequado para a análise de leite, por apresentar resultados divergentes dos métodos oficiais, sendo necessário mais estudos em relação a padronização e ao funcionamento do método.

A adição de água na fabricação do iogurte prejudicou a elaboração, por aumento do tempo de fabricação, e acarretou um produto com diferenças de qualidade e sensoriais.

Os resultados apresentados nesta pesquisa fornecem subsídios para a tomada de decisões por parte de estabelecimentos beneficiadores e órgãos regulamentadores e fiscalizadores de leite e derivados no direcionamento da escolha dos métodos de controle de qualidade a serem praticados.

## 6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGNESE, A. P.; NASCIMENTO, A. M. D. do; VEIGA, F. H. A.; PEREIRA, B. M.; OLIVEIRA, V. M. de. *Avaliação físico-química do leite cru comercializado informalmente no Município de Seropédica – RJ*. Revista Higiene Alimentar, v.16, n. 94. p. 58-61, 2002

ALVEZ, L. *Avaliação das características físico-químicas de leites fermentados inspecionados, comercializados no município do Rio de Janeiro*. 2007. 105p. Trabalho de Conclusão de Curso (Especialização em Higiene e Inspeção de Produtos de Origem Animal), Universidade Castelo Branco.

ANDERSON, M. D. R. P. *Microbiologia Alimentaria. Metodologia Analítica para Alimentos y Bebidas*. España: Diaz de Santos, 1992. p. 222-224

ANDRIOLI, A.S., FURTADO M.A.M, VILELA M.A.P, MEURER V.M. *Padrões físico-químicos de identidade do leite “longa vida (UHT) comercializado na cidade de Juiz de Fora (MG)*. Revista do instituto Candido Tostes, v. 56, n.321, p.50-54, 2001.

ANTUNES, A.C.; PACHECO, M.T.B. *Leite para adultos: mitos e fatos frente à ciência*. São Paulo: Livraria Varela, 2009. 457 p.

AQUARONE, E., *Alimentos e bebidas produzidos por fermentação*. São Paulo: Blücher, 1983.

BARRETO, G. P. M.; SILVA, N.; SILVA, E. N.; BOTELHO, L. *Quantificação de Lactobacillus acidophilus, Bifidobactérias e bactérias totais em produtos probióticos comercializados no Brasil*. *Brazilian Journal of Food Technology*, v. 6. n. 1, p.119-126, jan./jun. 2003. Disponível em: <<http://www.ital.sp.gov.br/bj/artigos/brazilianjournal/free/p03120.pdf>>. Acesso em: 17/11/2010.

BEHMER, M. L. A. *Tecnologia do Leite*. 13. ed. São Paulo: Nobel, 1999. 320 p.

BERNARDI, C.M.M. ; GUERRA, C. R. S.; SANTOS, F. D.; TORRES, A. P. C.; *Teste comparativo da qualidade do leite integral comercializado no município de Andradina*. Ciências Agrárias e Saúde. FEA, Andradina, v.6, p.45-48, 2006.

BIZARI, P. A. *Eficiência da contagem microscópica na avaliação da qualidade pregressa da matéria-prima utilizada no processamento de leite UAT*. Jaboticabal,



2002, 53 p. Dissertação (Mestre em Medicina Veterinária Preventiva), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista (UNESP).

BORGES, M.F.; BRANDÃO, S.C.C.; PINHEIRO, A.J.R.; Efeito bactericida do peróxido de hidrogênio sobre *Salmonella* em leite destinado a fabricação de queijos. *Revista de Microbiologia*, São Paulo, v. 20, n. 2, p.145-149, 1989.

BRANDÃO, S. C. C. Tecnologia da fabricação de iogurte. *Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes*, v. 42, n. 250, p. 3-8, 1987.

BRANDÃO, W. A. P. L. N. T. M. *Elaboração de Bebida Fermentada Simbiótica de Soro Lácteo*. Florianópolis, 2007. 120p. Dissertação (Mestrado em Ciências dos Alimentos) - Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis - SC. 2007.

BRASIL. Portaria nº146, de 07 de março de 1996, alterado pela Portaria nº 370, de 04 de setembro de 1997. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. *Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite UAT*. Brasília, DF, 1997.

BRASIL. Instrução Normativa nº 51, de 18 de setembro de 2002. Aprova os Regulamentos Técnicos de Produção, Identidade e Qualidade do Leite tipo A, do Leite tipo B, do Leite tipo C, do Leite Pasteurizado e do Leite Cru Refrigerado e o Regulamento Técnico da Coleta de Cru Refrigerado e seu Transporte a Granel. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. *Diário Oficial da República Federativa do Brasil*, Brasília, DF, 20 de set. de 2002a.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº 02, de 07 de janeiro de 2002. Aprova o Regulamento Técnico de Substâncias Bioativas e Probióticos Isolados com Alegação de Propriedades Funcional e ou de Saúde. *Diário Oficial da União*, Brasília, DF, 09 de jan. de 2002b.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Instituto Adolfo Lutz. *Métodos Físico-Químicos para análise de alimentos*, 4. ed. Brasília, 2005.

BRASIL. Instrução Normativa nº 68, de 12 de dezembro de 2006. Oficializa os Métodos Analíticos Oficiais Físico-Químicos, para Controle de Leite e Produtos Lácteos. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. *Diário Oficial da União*, Brasília, DF, 14 dez. 2006.

BRASIL. Instrução Normativa nº 46, de 23 de outubro de 2007. Adota o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leites Fermentados. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. *Diário Oficial da República Federativa do Brasil*, Brasília, DF, 23 de out. de 2007.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal – RIISPOA. Aprovado pelo Decreto nº. 30.691 de 29/03/1952, alterado pelos Decretos nº. 1.255 de 25/06/1962, nº. 1.236 de 02/09/1994, nº. 1.812 de 08/02/1996, nº. 2.244 de 04/06/1997 e nº. 6385 de 27/02/2008. *Diário Oficial da República Federativa do Brasil*, Brasília, DF, 27 fev. 2008.

BUCKIN, V.; O'DRISCOLL, B.; SMYTH, C. Ultrasonic spectroscopy for material analysis: recent advances. *Spectrosc. Eur.*, v.15, p.20-25, 2003

CARDOSO, L.; ARAÚJO, W. M. C. Parâmetros de qualidade em leites comercializados no Distrito Federal, no período 1997-2001. *Revista Higiene Alimentar*, São Paulo, v. 17, n. 114/115, p. 34-40, 2003.

CASTRO, M. F. P. M.; ATHIE, I.; OLIVEIRA, J. J. V.; OKAZAKI, M. M. Segurança em laboratórios: riscos e medidas de segurança em laboratorios de microbiologia de alimentos e de quimica. Campinas: ITAL, 2002. 92 p.

CHAVES, J. B. P.; SPROSSER, R. L. *Práticas de laboratório de análise sensorial de alimentos e bebidas*. Viçosa: UFV, 2001. 81 p.

CHAVES, J. B. P. *Métodos de diferença em avaliação sensorial de alimentos e bebidas*. Viçosa: UFV, 1993. 90 p.

CORTEZ, M. A. S.; CORTEZ, N. M. S. *Qualidade do leite: boas práticas agropecuárias e ordem higiênica*. Niterói: EDUFF, 2008. 77 p.

CRUZ, E. N.; SANTOS, E. P. *Aguagem do leite: métodos básicos de identificação*. Centro de Ciências Humanas Sociais e Agrárias. UFPB – Encontro de Iniciação à docência. 2010. Disponível em: [www.prac.ufpb.br/anais/xenex.../xi.../7CCHSADTRMT01.pdf](http://www.prac.ufpb.br/anais/xenex.../xi.../7CCHSADTRMT01.pdf). Acesso em dezembro 2010.

CUNHA NETO, O. C., OLIVEIRA, C. A. F., HOTTA, R. M., SOBRAL, P. J. A. Avaliação físico-química e sensorial do iogurte natural produzido com leite de búfala contendo diferentes níveis de gordura. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, v. 25(3), p. 448-453, jul.-set. 2005.

DAHMER, A.M. *Avaliação da gestão da qualidade na indústria de leite do Estado de Mato Grosso do Sul*. 2006. 218p. Dissertação (Mestrado em Economia e Administração) - Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, Mato Grosso.

DAVE, R.I.; SHAH, N.P. Viability of yogurt and probiotic, in yogurt made from commercial starter cultures. *International Dairy Journal*, v. 7, n. 1, p. 31-41, 1997.

DEETH, C.L.I.F.; TAMIME, A.Y. Yogurt: Nutritive and therapeutic aspect. *Journal of Food Protection*, v. 44, n. 1, p. 78, 1981.

DIAS, V.G.; MAIA, R.G.; COSTA, C.C.A.; CORTEZ, M.A.S. Características físico-químicas e análise sensorial do leite pasteurizado adicionado de água, soro de queijo, soro fisiológico e soro glicosado. *Revista do Instituto de Laticínios Candido Tostes*. v.65, n.376, 2010

EARLY, R. *Tecnología de los productos lácteos*. Zaragoza: Acribia, 2000 459p.

EGITO, A. S.; ROSINHA, G. M. S.; LAGUNA, L. E.; MICLO, L.; GIRARDET, J. M.; GAILLARD, J. L. *Método eletroforético rápido para detecção da adulteração do leite caprino com leite bovino*. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec., v. 58, n.5, p. 932-939, 2006.

FELLOWS, P. *Tecnologia do processamento de alimentos*. Porto Alegre: Artmed, 2006. 602 p.

FERREIRA, C.L.L.F. *Produtos Lácteos Fermentados: Aspectos Bioquímicos e Tecnológicos*. 3.ed. Vicosa: UFV, 2005. 112p.

FONSECA, L.F.L.; SANTOS, M.V. *Qualidade do leite e controle de mastite*. 2.ed. São Paulo: Lemos, 2001. 175p.

FONSECA, L. M.; SILVA, T. J. P.; RODRIGUES, R.; SAMPAIO, I. B. M.; CERQUEIRA, M. M. O. P. Efeitos da pasteurização e da esterilização sobre o índice crioscópico do leite, medido nas escalas Hortvet e Celsius. *Arquivo brasileiro de medicina veterinária e zootecnia*. V. 45, n. 5, 1993.

FONTES, E. A. F.; PIRES, A. C. S.; ARAÚJO, E. A. Método Alternativo para Enumeração de Bactérias Lácticas. In: *Anais Eletrônicos do XXII Congresso Nacional de Laticínios*. A inserção do Brasil no mercado internacional de lácteos. Juiz de Fora, 18 a 21 de julho, 2005.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. *Microbiologia dos Alimentos*. São Paulo: Atheneu, 1996. p. 155-164.

FUKUDA, S. P. *Estudo da Correlação Entre o Método da Ninidrina Ácida e a Cromatografia Líquida de Alta Eficiência para a Dosagem de Glicomacropéptido e Caseinomacropéptido em Leite*. Campinas, 2003. 102 f. Tese (Doutorado) - Unicamp, Campinas, 2003.

FURTADO, B.B.R; BOEIRA, L.B. ; ZANCHET, F. *Comparação de rótulos de três marcas de leite Integral UHT comercializadas no município de Cascavel – PR*. Anais do II ENDICT – Encontro de Divulgação Científica e Tecnológica Universidade Tecnológica Federal do Paraná UTFPR. 20 - 22 de Outubro de 2010.

GARCIA, G. R.; SCHOCKEN-ITURRINO, R. P.; MEDEIROS, A. P.; POIATTI, M. L.; RAGAZANI, A. V. F.; HATAYDE, M. C.; CHIODA, T. P.; COAN, R. M.; PIGATTO, C. P.; TROVÓ, K. V. P. Inibição do crescimento de bactérias patogênicas por *Lactobacillus acidophilus*. *Revista Portuguesa de ciências veterinárias*, n. 101, 2006. Disponível em: <[http://www.fmv.utl.pt/spcv/PDF/pdf12\\_2006/263-268.pdf](http://www.fmv.utl.pt/spcv/PDF/pdf12_2006/263-268.pdf)>. Acesso em: 20/12/2010

GUNASEKARAN, S.; AY, C. *Evaluating milk coagulation with ultrasonics*. Chicago, 1993. Disponível em: <http://144.92.76.98/Guna/evaluatingmilk94.>>. Acesso em: 01 jan. 2011.

HUTH, P.J.; DIRIENZO, D.B.; MILLER, G.D. Major scientific advances with dairy foods in nutrition and health. *Journal Dairy Science*, n. 89, p. 1207–1221, 2006.

JATOBA, A.; VIEIRA, F. N.; NETO, C. B.; SILVA, B. C.; MOURIÑO, J. L. P.; JERÔNIMO, G. T.; DOTTA, G.; MARTINS, M. L.. Utilização de bactérias ácido-lácticas isoladas do trato intestinal de tilápias do Nilo como probiótico. *Pesquisa Agropecuária Brasileira - Embrapa Informação Tecnológica*. Brasília, v. 43, n.9, set. 2008.

JOÃO, J.H. Diagnóstico da Qualidade do Leite UAT comercializado em Lages- SC. *Indústria e Laticínios*, p. 50-54, julho/ago. 2008.

LACTOSCAN. Ultrasonic Milk Analysers. Disponível em: <<http://www.lactoscan.com/faq.html>>. Acesso em: 1 agosto de 2010.

LOBATO, V. Tecnologia de fabricação de derivados do leite na propriedade rural. Lavras/MG: Editora UFLA. Boletim Técnico. 2000.

MARTIN, A. F., *Armazenamento do iogurte comercial e o efeito na proporção das bactérias lácticas*. 2002. 50f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Escola Superior de Agricultura "Luis de Queiros", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2002.

MARTINS, E. C. P.; SANTAROSA, P. R.; FREITAS, F. Z. Caracterização preliminar de bacteriocinas produzidas por seis cepas de bactérias lácticas isoladas de produtos cárneos embalados à vácuo. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*. Campinas, v.23, n.2, mai/ago. 2003.

MARTINS, A. M. C. V.; JUNIOR, O. D. R.; SALOTTI, B. M.; BURGER, K. P.; CORTEZ, A. L. L.; CARDOZO, M. V. Efeito do processamento UAT (Ultra Alta Temperatura) sobre as características físico-químicas do leite. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 28, n. 2, p. 295-298, abr./junho 2008.

MARTINS, F.O.; SILVA, C. A. O.; CAMPOS, M. E. M.; ANTUNES, V. C. A.; MILAGRES, M. P.; BRANDÃO, S. C. C. *Avaliação da Composição na Qualidade Físico-Química e Ocorrência de Adultrações em Leite UHT*. 2006. Disponível em: <<http://www.terraviva.com.br/IICBQL/p043.pdf>>. Acesso em: 19 janeiro 2010.

MENDES, C.G.; SAKAMOTO, S. M.; SILVA, J.B.A; LEITE, A.I. *Análises físico-químicas e pesquisa de fraude no leite informal Comercializado no município de Mossoró - RN*. *Ciência animal Bras.*, Goiânia, v. 11, n. 2, p. 349-356, abr/jun. 2010

MILKPOINT. *As ações do Ministério para o combate à fraude de leite no Brasil*. Disponível em: <<http://www.laticinio.net/noticias.asp?cod=735>>. Acesso em: 22 fevereiro 2011.

MILES, C.A.; SHORE, D.; LANGLEY, K.R. Attenuation of ultrasound in milks and creams. *Ultrasonics*, v.28, p.394-400, 1990.

NETO, C. C.O.; OLIVEIRA, C. A. F.; HOTTA, R. M.; SOBRAL, P. J. A. *Avaliação físico-química e sensorial do iogurte natural produzido com leite de búfala contendo diferentes níveis de gordura*. *Ciência e Tecnologia Alimentar*. Campinas, v. 25, n.3. p. 448-453, jul.-set. 2005

OLIVEIRA, J. S. Produção e conservação de iogurte. *Revista Leites e Derivados*, São Paulo, ano 2, n.10, p.35-38. Mai -jun, 1993.

OLIVEIRA, A. J.; CARUSO, J. G. B. *Leite: obtenção e qualidade do produto fluido e derivados*. v. 2. Piracicaba: FEALQ, 1996. 80p.

OLIVEIRA, C. A. F.; FONSECA, L. F. L.; GERMANO, P. M. L. Aspectos relacionados à produção, que influenciam a qualidade do leite. *Higiene Alimentar*, São Paulo, v.13, n.62, p.10-16, 1999.

ORDOÑEZ, J.A. *Alimentos de Origem Animal. Tecnologia de Alimentos*. 2 ed. Porto Alegre: Artmed, v.2, 2005. 279 p.

PEDRAS, M. M. *Avaliação de propriedades físico-químicas e funcionais de leite processado por tecnologia de homogeneização a ultra-alta pressão*. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual de Campinas. Programa de Pós-Graduação: Programa em Tecnologia de Alimentos. Faculdade de Engenharia de Alimentos. Campinas, 2007.

PEREIRA, M. A., ALMEIDA, D. M., SAUER, E. *Avaliação da concentração de bactérias lácticas viáveis em iogurtes com polpas de frutas*. ISBN. v. 01, p. 07-13, 2007.

PEREIRA, M. A. G., *Efeito do teor de lactose e do tipo de cultura na acidificação e pós-acidificação de iogurtes*. 2002. 105p. Dissertação (mestrado). Universidade Estadual de Campinas - Faculdade de Engenharia de Alimentos. Campinas, SP. 2002.

PINA, M. S. L.; REIS FILHO, A. F.; XAVIER, C. M. O.; FREITAS NETO, J. R.; RODRIGUES, J. M. B. B.; LIMA, V. A. M.; FREITAS FILHO, J. R. Técnicas experimentais para identificação de substâncias estranhas presentes no leite de vaca comercializado em Garanhuns. I Congresso Norte-Nordeste de Química, Anais, Natal, 2007.

PINTO, A. T.; RÜBENSAM, J. M. ; BRONZATTO, M. ; MAROSO, M. T. D. ; GRECO, D. ; MANTESE, F. ; NISHIMURA, R. Padrão de qualidade do leite pasteurizado integral produzido no Rio Grande do Sul. In: CONGRESSO LATINO- AMERICANO DE HIGIENISTAS DE ALIMENTOS, 1. CONGRESSO BRASILEIRO DE HIGIENISTAS DE ALIMENTOS, 7, 2003, Belo Horizonte. *Anais...* Belo Horizonte - MG: Sociedade Brasileira de Higienistas de Alimentos, 2003. p. 152-153

PONSANO, E.H.G.; PERRI, S.H.V.; MADUREIRA, F.C.P.; PAULINO, R.Z.; CAMOSSO, L.G. *Correlação entre métodos tradicionais e espectroscopia de ultrassom na determinação de características físico-químicas do leite*. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec., v.59, n.4, p.1052-1057, 2007.

RABELO, R.N. *Avaliação retroativa da qualidade microbiológica da matéria-prima utilizada em leites UAT comerciais*. Jaboticabal, 2003. 75 p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária Preventiva), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Universidade Estadual Paulista (UNESP).

REIS, A.R.N.; GOULART, P.F.P.G; SILVEIRA, I.A. Elaboração de Bebida Simbiótica e Avaliação de sua Qualidade Sensorial e Microbiológica. *Higiene Alimentar*. São Paulo, v.21, n.151, p. 31-36, maio. 2007

REZER, A. P. S. Avaliação da qualidade microbiológica e físico-química do leite UHT integral comercializado no Rio Grande do Sul. Santa Maria, 2010. 120p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal de Santa Maria. Santa Maria, 2010.

RHEINHEIMER, V.; DÜRR, J. W.; HEPP, M.A.W. *Qualidade de leite fluido de diferentes marcas comercializadas em passo fundo-RS*. 2005. Disponível em: [www.terraviva.com.br/IICBQL/p007.pdf](http://www.terraviva.com.br/IICBQL/p007.pdf). Acesso em dezembro 2010.

RODAS, M. A. B.; RODRIGUES, R. M. M. S.; SAKUMA, H.; TAVARES, L. Z.; SGARBI, C. R.; LOPES, W. C. C. Caracterização física química, histológica e viabilidade de bactérias lácticas em iogurtes com frutas. *Ciência e Tecnologia de Alimentos – Food Science and Technology*. Campinas: Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia, v.21, n.3, p. 304-309, set - dez. 2001.

SABOYA, L. V.; OETTERER, M.; OLIVEIRA, A. J. Propriedades profiláticas e terapêuticas de leites fermentados: uma revisão. *Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 31, n. 2, p. 176-185, 1997.

SANTOS, J. A. Iogurte: um bom negócio se feito com profissionalismo. *Indústria de Laticínios*, n. 18, p. 20-27, 1998.

SANTOS, M. V.; FONSECA, L. F. L. *Estratégias para controle de mastite e melhoria da qualidade do leite*. Barueri, SP: manole, 2007. 314 p.

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

SILVA, E.O.T.R.E. *Leite longa vida integral: avaliação de alguns parâmetros de qualidade dos leites cru e processado*. São Paulo, 2001. 122 p. Tese (Doutorado em Epidemiologia Experimental e Aplicada às Zoonoses) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo (USP).

SILVA, S.V. *Desenvolvimento de iogurte probiótico com prebiótico*. Santa Maria, 2007. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia dos alimentos) – Centro de ciências rurais, Universidade Federal de Santa Maria. Santa Maria, 2007.

SILVA, A.C.O., HOOD, C.; SILVA, F.E.R.; MÁRSICO, E.T. *Deteção de fraudes em leite beneficiado e verificação dos métodos analíticos para análise de leite fluido*. Encontro de iniciação à científica. Prêmio UFF Vasconcelos. Universidade Federal Fluminense. Niterói, 2010.

SOROA, J. M. *Indústrias Lácteas*. LITEXA: Lisboa. 1980. 376 p.

SOUZA, L.G. SANTOS, G.T.; SAKAGUTI, E.S. *Avaliação da composição do leite UHT proveniente de dois laticínios das regiões Norte e Noroeste do Estado do Paraná*. *Acta Scientiarum. Animal Sciences*,v.26, n.2, 2004.

TAMIME, A.Y.; DEETH, H.C. Yogurt: technology and biochemistry. *Journal of Food Protection*, v. 43, n. 12, p. 939-977, 1980.

TAMINE, A. Y.; ROBINSON, R. K. *Yogur – Ciência e tecnologia*. Zaragoza: Acribia, 1991, p. 368.

TAUZIN, J.; MICLO, L. GAILLARD, J.L. Angiotensin- I converting enzyme inhibitory peptides from tryptic hydrolysate of bovine  $\alpha$ 2- casein. *FEBS Letters*, v.531, p.369-374, 2002.

TEIXEIRA, A.C.P.; MOURTHÉ, K.; ALEXANDRE, D.P.; SOUZA, M.R.; PENNA, C. F. A. M. Qualidade do logurte Comercializado em Belo Horizonte. *Leite & Derivados*, v. 1, n. 51, p. 32-39, 2000.

TETRA PACK. Uma fonte de notícias semestrais sobre a Indústria de Laticínios. Foco nos mercados desenvolvidos. *Dairy Index*, n. 2, dez. 2009. Disponível em: <[http://www.tetrapak.com/br/Documents/DairyIndex\\_Brasil\\_dez2009.pdf](http://www.tetrapak.com/br/Documents/DairyIndex_Brasil_dez2009.pdf)>. Acesso em: 27 dezembro 2010.

THAMER, K. G.; PENNA, A.L.B. Efeito do teor de soro, açúcar e de frutooligossacarídeos sobre a população de bactérias láticas probióticas em bebidas fermentadas. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, v. 41, n. 03, jul./set., 2005.

TRONCO, V.M. *Manual para inspeção da qualidade do leite*. Santa Maria: Editora UFSM, 3º ed., 2008. 203p.

TSENKOVA, R.; ATANASSOVA, S.; ITOH, K. et al. *Near infrared spectroscopy for biomonitoring cow milk composition measurement in a spectral region from 1,100 to 2,400 nanometers*. *Journal Animal Science.*, v.78, p.515-522, 2000.

USDA (UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE). *Dairy World Markets and Trade*. 2009. Circular Séries. Disponível em: <[http://www.fas.usda.gov/dlp/circular/2009/dairy\\_08-2009.pdf](http://www.fas.usda.gov/dlp/circular/2009/dairy_08-2009.pdf)>. Acesso em: 12 dezembro de 2010.

VARNAM, A.H.; SUTHERLAND, J.P. *Leche y productos lácteos. Tecnología, Química y Microbiología*, p. 1-34, 365-401, 1994. Zaragoza: Acribia.

VENTUROSO, R.C., ALMEIDA, K.E.; RODRIGUES, A.M.; DAMIN, M.R., OLIVEIRA, M.N. *Determinação da composição físico-química de produtos lácteos: estudo exploratório de comparação dos resultados obtidos por metodologia oficial e por ultra-som*. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*. v 43, n. 4, out./dez., 2007.

WALSTRA, P.; GEURTS, T. J.; NOOMEN, A.; JELLEMA, A.; VAN BOEKEL, M. A. J. S. *Dairy technology: principles of milk properties and processes*, New York, 1999.

VAN DE WATER, J. Yogurt and immunity: the health benefits of fermented milk products that contain lactic acid bacteria. In: FARNWORTH, E.R. *Handbook of fermented functional foods*. Boca Raton: CRC Press. p.113-144. 2003.

VEISSEYRE, R. *Lactologia Técnica – Composición, recogida, tratamiento y transformación de la leche*. España: Acribia, Zaragoza. p.288 - 291, 1988.

VIEGAS, R.P. *Avaliação da qualidade físico-química do leite UAT desnatado comercializado em Belo Horizonte – MG*. Revista do Instituto Candido Tostes, v.61 n.351, p.85-88, 2006

ZOCHE, F.; BERSOT, L.S.; BARCELLOS, V.C.; PARANHOS, J.K.; ROSA, S.T.M.; RAYMUNDO, N.K. Qualidade microbiológica e físico-química do leite pasteurizado produzido na região oeste do Paraná. *Archives of Veterinary Science*. v.7, n.2, p.59-67, 2002.



## 7 ANEXOS

### 7.1 FICHA DE AVALIAÇÃO SENSORIAL PARA O TESTE DUO TRIO

Nome:	Sexo:	Idade:
Por favor, prove a amostra codificada com a letra R (referência), em seguida prove as outras amostras da esquerda para direita e indique qual das duas é idêntica a R. É necessária uma escolha.		
659	921	
Comentários: _____		

