



EFEITO DA ADIÇÃO DE DIÓXIDO DE CARBONO E DA TEMPERATURA DE ARMAZENAMENTO SOBRE A PROTEÓLISE E LIPÓLISE DO LEITE CRU

Mariane Tonon Ruiz (marirui@fea.unicamp.br) e Prof^a. Dr^a. Mirna Lúcia Gigante (mirna@fea.unicamp.br)

FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS, FEA - UNICAMP

Agência Financiadora – PIBIC-CNPq

Palavras-chave: leite cru, dióxido de carbono, proteólise, lipólise



INTRODUÇÃO

O armazenamento refrigerado do leite cru nas fazendas produtoras, entrepostos e laticínios tornou-se obrigatório em 2002 com o objetivo de melhorar os padrões de qualidade do produto. Entretanto, esta condição de armazenamento favorece o crescimento de microrganismos psicrotóxicos que são eliminados pelo tratamento térmico, mas produzem enzimas termorresistentes que podem afetar a qualidade do leite e dos produtos lácteos através da proteólise e lipólise. A adição de dióxido de carbono (CO₂), associado ao armazenamento refrigerado do leite cru, pode aumentar sua vida útil e diminuir os custos com transporte do produto. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da adição de CO₂ e da temperatura de armazenamento sobre a proteólise e lipólise do leite cru.

MATERIAL E MÉTODOS

Para o primeiro processamento, utilizou-se 30 litros de leite cru que foi avaliado quanto a contagem padrão em placas (APHA, 2001), pH, acidez, sólidos totais, proteína total, nitrogênio solúvel em pH 4,6 e em TCA 24% de acordo com AOAC (1995). O teor de gordura foi determinado pelo método de Gerber (LANARA, 1981) e o teor de lactose pelo método de Fehling (LANARA, 1981). O leite cru foi dividido em duas porções, sendo que uma serviu de controle (sem adição de CO₂) e a outra foi adicionada de CO₂ até alcançar pH 6,2. Cada uma dessas porções foi subdividida em duas outras que foram armazenadas a 4 ou 7 ± 1°C em cubas de inox com capacidade para 5 litros cada uma, na tentativa de simular o armazenamento em tanques de expansão. Durante o armazenamento refrigerado, amostras foram coletadas diariamente e avaliadas quanto à contagem padrão em placas, até alcançar 10⁶ ufc/ml, que é o padrão microbiológico para leite cru estabelecido pela legislação (BRASIL, 2002). A cada dois dias, amostras foram avaliadas quanto ao teor de CO₂, pH, acidez titulável, nitrogênio total, nitrogênio solúvel em pH 4,6 e em TCA 24%. O decréscimo da relação caseína/proteína verdadeira foi usado para expressar o índice de proteólise. O conteúdo de ácidos graxos livres foi determinado pelo método de sabão de cobre descrito por Shipe *et al.* (1980) modificado por Ma *et al.* (2003). O aumento da concentração de ácidos graxos livres foi utilizado como índice de lipólise. A concentração de CO₂ no leite foi determinada através da curva padrão conforme descrito por Ma *et al.* (2001).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O leite cru apresentou pH 6,74, 16,09°D de acidez, 12,4% de sólidos totais, 4,1% de gordura (ligeiramente superior ao usual); 3,2% de proteína verdadeira; 2,6% de caseína, 84% caseína como % da proteína verdadeira e 4,9% de lactose. Quanto à característica microbiológica inicial, o leite cru apresentou contagem padrão de 1,12 x 10⁵ ufc/ml, o que atende ao padrão de leite cru refrigerado tipo B (BRASIL, 2002).

Durante armazenamento refrigerado a contagem padrão em placas aumentou para todos os tratamentos (Figura 1). Leites adicionados de CO₂ apresentaram maior tempo de conservação, tanto armazenados a 4 como a 7 ± 1°C. O leite adicionado de CO₂ e armazenado a 4°C alcançou a contagem total de 10⁶ ufc/ml em aproximadamente 6 dias, enquanto este tempo foi 4 dias para o leite não adicionado de CO₂. O tempo de conservação do leite cru refrigerado observado neste experimento foi inferior aos reportados na literatura. Em condições semelhantes de processamento, Ma *et al.* (2003) e Roberts e Torrey (1988) conseguiram conservar o leite cru refrigerado a 4°C por aproximadamente 16 dias e a 7°C por 6 dias, respectivamente. Neste experimento o leite adicionado de CO₂ e armazenado a 7°C não alcançou 3 dias de conservação. Paralelamente ao rápido aumento da contagem total de microrganismos observou-se o aumento progressivo do pH do leite adicionado de CO₂, o qual foi atribuído à perda do CO₂ dissolvido no leite durante a estocagem refrigerada do produto (dados não apresentados).

O efeito da adição de CO₂ e da temperatura de armazenamento (4 ou 7°C) sobre a lipólise e proteólise do leite cru é apresentado na Tabela 1, onde observa-se o aumento do teor de caseína e a redução dos ácidos graxos livres. Estes resultados certamente não estão corretos e representam algum erro de amostragem e análise.

Foram realizados mais dois experimentos seguindo-se as mesmas condições de processamento descritas anteriormente, exceto pelo acondicionamento do leite que foi realizado em garrafas de vidro de 300 ml com tampa metálica, o que proporcionou fechamento hermético para se evitar a perda do CO₂ adicionado ao leite. Entretanto, em ambos os casos não foi possível concluir os experimentos devido, possivelmente, à má qualidade inicial do leite cru que apresentou contagem total de 2,8 x 10⁵ ufc/mL e quantidade incontável após o plaqueamento até diluição de 10⁻⁵.

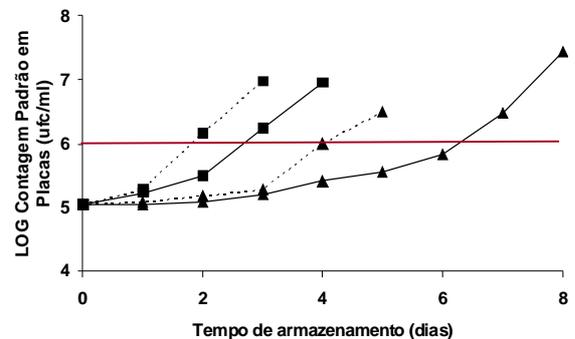


Figura 1. Contagem padrão em placas do leite cru com ou sem adição de CO₂ durante o armazenamento refrigerado a 4 e 7 ± 1°C. A contagem total máxima permitida (1 x 10⁶ ufc/mL) é pela linha vermelha.

Tabela 1. Proteólise e lipólise do leite cru durante armazenamento refrigerado.

Tempo de estocagem (dias)	Leite controle				Leite adicionado de CO ₂ até pH 6,2			
	Proteólise*		Lipólise**		Proteólise*		Lipólise**	
	4°C	7°C	4°C	7°C	4°C	7°C	4°C	7°C
0	80,40	80,40	0,41	0,41	80,40	80,40	0,41	0,41
2	83,20	83,40	0,36	0,37	83,30	86,40	0,28	0,29
4	83,90	*	0,39	*	84,20	84,60	0,28	0,33
6	*	*	*	*	81,40	*	0,32	*
8	*	*	*	*	85,30	*	0,34	*

*Caseína como % da proteína verdadeira; ** mEq ácido palmítico/kg de leite

No terceiro experimento, após 24 horas da armazenagem os leites controles armazenados a 4 e 7°C apresentaram contagens total de 3,3x10⁶ e 6,4x10⁶ ufc/ml, respectivamente. Similarmente, os leites adicionados de CO₂ até pH 6,2 e armazenados a 4 ou 7°C apresentaram contagem total de 1,4x10⁶ e 2,1x10⁶ ufc/ml, respectivamente.

Diante destes resultados optou-se por conduzir um experimento que foi considerado como um teste de desafio. O objetivo deste teste foi confirmar se a fonte de erro dos processamentos anteriores estava na qualidade da matéria prima, ou na eficiência do CO₂ em prolongar a vida de prateleira do leite cru, conforme descrito na literatura. Leite esterilizado (UHT) foi inoculado a temperatura ambiente com cepas puras de *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* 279 NCDO 1996, *Pseudomonas fluorescens* IB 2312 e *Escherichia coli* ATCC 11229 para a obtenção de leite com contagem total de 10³ a 10⁴ ufc/ml. A temperatura de armazenagem (4 e 7°C) e os tratamentos (adição ou não de CO₂) afetaram a conservação do leite. Sob condições controladas o leite adicionado de CO₂ e armazenado a 4°C levou mais do que 14 dias para atingir a contagem limite de qualidade do leite cru. Já a 7°C este tempo foi maior do que 5 dias. Estes dados estão em concordância com a literatura (Ma *et al.*, 2003).

CONCLUSÃO

Os resultados do teste desafio evidenciaram a eficiência da adição de CO₂ na conservação do leite cru conforme reportado na literatura. Desta forma, a qualidade da matéria prima pode ter sido responsável pelos resultados inconclusivos observados nos processamentos conduzidos durante este trabalho. Os experimentos devem ser repetidos com leite cru de melhor qualidade e usos de frascos de vidro fechados hermeticamente para conservação do leite cru.