

**Qualidade do leite in natura perante a instrução normativa IN 76 do Ministério da
Agricultura, Pecuária e Abastecimento do Brasil**

**Quality of fresh milk before normative instruction IN 76 of the Ministry of Agriculture,
Livestock and Supply of Brazil**

**Calidad de la leche fresca según la instrucción normativa EN 76 del Ministerio de
Agricultura, Ganadería y Abastecimiento de Brasil**

Recebido: 14/07/2020 | Revisado: 06/08/2020 | Aceito: 12/08/2020 | Publicado: 17/08/2020

Geovanna Machado Guimarães

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3599-4140>

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano, Brasil

E-mail: geovannamachadoguimaraes@gmail.com

Livia Silva Mateus

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9165-7881>

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano, Brasil

E-mail: liviamateus17@gmail.com

Anna Izabella Prado Moraes

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2613-2664>

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano, Brasil

E-mail: annaizabellapm@gmail.com

Widi Silva da Costa

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9921-7992>

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano, Brasil

E-mail: widiscosta@gmail.com

Nayana Ribeiro Soares

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6211-5394>

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano, Brasil

E-mail: nayana.ribeiro@ifgoiano.edu.br

Lorrane Soares dos Santos

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0519-2246>

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano, Brasil

E-mail: lorrane.soare.santos@gmail.com

Priscila Alonso dos Santos

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1024-4343>

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano, Brasil

E-mail: priscila.santos@ifgoiano.edu.br

Resumo

Devido a qualidade, do leite, ser definida por seus parâmetros físico-químicos e microbiológicos, estabeleceu-se instrução normativa n° 76 que recomenda as obrigatoriedades ao produtor. Objetivou-se com esse trabalho a avaliação do leite in natura refrigerado de quatro propriedades rurais do Município de Rio Verde – GO quanto à presença de microrganismos psicotróficos e psicotróficos proteolíticos juntamente com as análises de CBT, CCS e composição proximal do leite comparando os resultados com o exigido pela IN 76. As amostras de leite cru refrigerado foram coletadas e posterior, as amostras de leite para análises de CBT e CCS, foram encaminhadas para o diagnóstico no Laboratório de Qualidade do Leite da Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia do Centro de Pesquisa em Alimentos da Universidade Federal de Goiás (LQL). Utilizou-se o equipamento Milkoscan 4000 (Foss Electric A/S. Hillerod, Denmark) para determinar os teores de gordura, proteína, lactose, extrato seco total (EST), (ESD), ureia e caseína. Realizou-se a contagem padrão em placas de microrganismos psicotróficos e psicotróficos proteolíticos viáveis e calculou-se o número de UFC/mL da amostra multiplicando-se o número de colônias, em cada placa, pelo inverso da diluição. Obteve-se resultados dos valores de CBT, CCS, composição proximal, ureia, caseína, microrganismos psicotróficos e psicotróficos proteolíticos majoritariamente satisfatórios e dentro do permitido pela legislação, demonstrando a preocupação com as boas práticas de higiene, manejo e sanidade dos animais que os proprietários das propriedades rurais possuem.

Palavras-chave: CBT; CCS; Composição proximal; Produtor rural.

Abstract

Due to the quality, of the milk, being defined by its physical-chemical and microbiological parameters, normative instruction n ° 76 was established that recommends the mandatory requirements to the producer. The objective of this work was to evaluate the refrigerated fresh milk from four rural properties in the municipality of Rio Verde - GO, regarding the presence of psychrotrophic and proteolytic psychrotrophic microorganisms together with the CBT, CCS and proximal composition of the milk comparing the results with the required by IN 76.

The samples of chilled raw milk were collected and later, the milk samples for CBT and CCS analysis, were sent for diagnosis at the Milk Quality Laboratory of the School of Veterinary Medicine and Zootechnics of the Research Center in Food at the Federal University of Goiás (LQL). Milkoscan 4000 equipment (Foss Electric A / S. Hillerod, Denmark) was used to determine the levels of fat, protein, lactose, total dry extract (EST), (ESD), urea and casein. Standard counts were performed on viable proteolytic psychrotrophic and psychrotrophic microorganism plates and the number of CFU / mL of the sample was calculated by multiplying the number of colonies on each plate by the inverse of the dilution. Results were obtained from the values of CBT, CCS, proximal composition, urea, casein, psychrotrophic and proteolytic psychrotrophic microorganisms that are mostly satisfactory and within the limits of the legislation, demonstrating the concern with good hygiene, handling and health practices of the animals that the owners of rural properties have.

Keywords: CBT; CCS; Proximal composition; Rural producer.

Resumen

Debido a la calidad, de la leche, definida por sus parámetros físico-químicos y microbiológicos, se estableció la instrucción normativa n ° 76 que recomienda los requisitos obligatorios al productor. El objetivo de este trabajo fue evaluar la leche fresca refrigerada de cuatro propiedades rurales en el municipio de Río Verde - GO, con respecto a la presencia de microorganismos psicrotróficos psicrotróficos y proteolíticos junto con la TCC, CCS y la composición proximal de la leche comparando los resultados con lo requerido por IN 76. Las muestras de leche cruda enfriada fueron recolectadas y luego, las muestras de leche para análisis de TCC y CCS, fueron enviadas para diagnóstico en el Laboratorio de Calidad de Leche de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia del Centro de Investigación en Alimentación en la Universidad Federal de Goiás (LQL). Se utilizó el equipo Milkoscan 4000 (Foss Electric A / S. Hillerod, Dinamarca) para determinar los niveles de grasa, proteína, lactosa, extracto seco total (EST), (ESD), urea y caseína. Se realizaron recuentos estándar en placas de microorganismos psicrotróficos y psicrotróficos proteolíticos viables y se calculó el número de UFC / ml de la muestra multiplicando el número de colonias en cada placa por el inverso de la dilución. Los resultados se obtuvieron de los valores de TCC, CCS, composición proximal, urea, caseína, microorganismos psicrotróficos psicrotróficos y proteolíticos que son en su mayoría satisfactorios y dentro de los límites de la legislación, lo que demuestra la preocupación por las buenas prácticas de higiene, manipulación y salud de los animales que los propietarios de propiedades rurales tienen.

Palabras clave: CBT; CCS; Composición proximal; Productor rural.

1. Introdução

O leite sem outra característica é o resultado da ordenha completa e ininterrupta, em condições de asseio, de vacas sadias, bem alimentadas e descansadas (Brasil, 2011). Nos últimos 10 anos houve um acréscimo expressivo na atividade leiteira do Brasil, este progresso resultou no desenvolvimento da produção, fazendo o país um dos principais do setor. Com 33,8 bilhões de litros/ano o Brasil é julgado o terceiro maior produtor mundial de leite durante o ano de 2018 (Embrapa Gado de Leite, 2020).

A qualidade do leite é definida por seus parâmetros físico-químicos e microbiológicos. A presença de teores de proteínas, gordura, lactose, sais minerais e vitaminas determinam a manutenção das características do leite, que, por sua vez, é influenciada por diversos aspectos (Gracindo & Pereira, 2009). Esses podem ser fatores ligados ao indivíduo, como raça, espécie, estágio de lactação, número de lactações, idade, fatores ambientais, como umidade, temperatura, radiação solar, fatores fisiológicos e patológicos, como presença de mastite, porção da ordenha, fatores nutricionais e relacionados ao manejo, como persistência de lactação, intervalo entre ordenhas, e relação ao volumoso:concentrado da dieta e outros (Milani, 2011).

Diante do alto crescimento da produção de leite nos últimos anos, a necessidade de uma matéria-prima de qualidade é de suma importância. Visto que não é possível produzir produtos com qualidade se a matéria-prima não chegam às indústrias dentro dos padrões exigidos pela legislação. Uma vez fora dos padrões as indústrias são afetadas diretamente, pois um dos problemas é a diminuição do rendimento dos produtos.

A constituição do leite, bem como a contagem de células somáticas (CCS) é de extrema importância quando se avalia a qualidade do leite (Santos & Fonseca, 2010). Os dados servem como índices básicos para a inspeção da matéria-prima em toda a cadeia do leite, incluindo produtores, indústrias e consumidores. A constituição do leite retrata diretamente o rendimento industrial, sucessivamente o valor nutritivo, enquanto que a contagem de células somáticas apreça a ocorrência de mastite no rebanho, compondo um índice de qualidade higiênico-sanitária (Brasil, 2002).

Devido à alta riqueza nutricional, faz-se o leite um produto perfeito para o desenvolvimento de inúmeros microrganismos. Essa contaminação começa no decorrer da ordenha pelos microrganismos presentes no teto da vaca, e após do meio ambiente, pela

ordena efetuado de forma manual ou ordena mecânica por intermédio dos equipamentos e utensílios utilizados com a ausência de uma higienização correta, também pelo transporte, armazenamento e distribuição (Salvador et al., 2012).

A qualidade do leite cru está estritamente ligada com o grau de contaminação inicial e com o binômio tempo/temperatura em que o leite permanece após a ordena até o processamento. As condições higiênico-sanitárias de obtenção e armazenamento do leite fazem larga influência na qualidade, assim como de seu transporte até o seu seguinte beneficiamento na indústria de laticínios. Um dos parâmetros analisados para averiguação da qualidade do leite é o seu perfil microbiológico, que pode ser caracterizado por microrganismos indicadores de higiene e patógenos (Pereira, 2010).

A estocagem do leite cru sob refrigeração oportuniza a atenuação de custos operacionais de produção e cessa perdas dessa matéria-prima pela atividade acidificante de bactérias mesófilas. Contudo a estocagem por períodos prolongados pode derivar em uma decadência da qualidade dos produtos lácteos, devido ao aumento e a atividade de bactérias psicrotóxicas (Martins et al., 2005).

A criação de normas e métodos é o meio mais fácil de certificar a qualidade de um alimento. Diante disso, as Instruções Normativas Nº. 76 (Brasil, 2018b) e Nº. 77 (Brasil, 2018a) do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) recomendam as obrigatoriedades ao produtor, ajustando os requisitos mínimos que devem ser observados para a produção, identidade e qualidade do leite.

A existência de microrganismos patogênicos no leite e seus derivados não têm apenas atenção na saúde pública, mas também na qualidade do alimento, em face das inúmeras alterações no aroma, gosto e aspecto do produto (Menezes, 2007). A abundância de microrganismos no leite é importante no quesito tempo de prateleira e também no tipo de produto para o qual o leite poderá ser aplicado. Dessa forma, as condições higiênicas sanitárias devem ser monitoradas para conseguir um produto seguro e de qualidade, sendo um instrumento para deliberação dos pontos do processamento que podem ser melhorados (Defante, 2011).

Diante do exposto objetivou-se com este trabalho a avaliação do leite “in natura” refrigerado de quatro propriedades rurais do município de Rio Verde – GO quanto à presença de microrganismos psicrotóxicos e psicrotóxicos proteolíticos juntamente com as análises de CBT, CCS e composição proximal do leite comparando os resultados com o exigido pela IN 76.

2. Metodologia

Para realização do presente estudo, utilizou-se de uma metodologia de pesquisa em campo e natureza qualitativa, conforme descrito por Pereira et al. (2018).

As amostras de leite cru refrigerado foram coletadas em tanques de expansão de quatro propriedades rurais do Município de Rio Verde - GO, no período de maio a setembro de 2018. As amostras foram coletadas mensalmente, sendo que em cada visita eram coletadas 40 amostras em tubo apropriado de plástico e homogeneizadas com conservante celular de leite (bronopol) para análise de CCS (Contagem eletrônica de Células Somáticas), 40 amostras para análise CBT (Contagem Bacteriana Total) em recipientes apropriados e adicionadas do conservante (azidiol) e 20 frascos de 150 mL esterilizados para o diagnóstico microbiológico de microrganismos psicrotróficos e psicrotróficos proteolíticos.

A coleta das amostras foi realizada de acordo com as boas práticas de higiene e de fabricação, assim sendo, o leite foi retirado via concha de inox esterilizada, por um manipulador devidamente equipado e preparado, com vestimentas e mãos lavadas e posteriormente desinfetadas com álcool 70%, evitando ao máximo quaisquer tipos de agentes contaminantes possíveis no meio durante o procedimento. Após a coleta, as amostras foram colocadas em um recipiente térmico a 4° C e levadas imediatamente para o laboratório de leite e derivados do Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde para realização das análises para as análises de microrganismos psicrotróficos e psicrotróficos proteolíticos.

Os recipientes contendo as amostras de leite para análises de CBT e CCS foram encaminhadas em caixa térmica a 4° C para o diagnóstico no Laboratório de Qualidade do Leite da Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia do Centro de Pesquisa em Alimentos da Universidade Federal de Goiás (LQL).

Para a contagem de células somáticas (CCS), utilizou-se o método analítico que se baseia na citometria de fluxo utilizando-se o equipamento Fossomatic 5000 Basic (Foss Electric A/S. Hillerod, Denmark).

O resultado foi expresso em CS/mL. Enquanto que a contagem bacteriana total (CBT) foi realizada por meio do equipamento Bactoscan FC (Foss Electric A/S. Hillerod, Denmark), cujo princípio de análise também se baseia na citometria de fluxo que consiste na medição de características celulares, quando estas se encontram suspensas em meio fluido. Os resultados foram expressos em UFC/mL.

Os teores de gordura, proteína, lactose, extrato seco total (EST), (ESD), ureia e caseína foram determinados através do princípio analítico que se baseia na absorção diferencial de

ondas infravermelhas pelos componentes do leite, utilizando-se o equipamento Milkoscan 4000 (Foss Electric A/S. Hillerod, Denmark). As amostras foram previamente aquecidas em banho-maria à temperatura de 40°C por 15 minutos para dissolução da gordura. Os resultados foram expressos em porcentagem (%).

A contagem padrão em placas de microrganismos psicrotróficos e psicrotróficos proteolíticos viáveis foram realizadas pipetando-se, assepticamente, 25 mL da amostra transferindo-as para um frasco tipo Erlenmeyer contendo 225 mL de água peptonada 0,1% (diluição 10-1).

A partir dessa diluição, ocorreu o preparo de diluições decimais até 10-4, empregando-se o mesmo diluente. Uma vez diluídas, foi adicionado 1 mL das diluições em placas de Petri esterilizadas e 15 a 18 mL de ágar-padrão para contagem, fundido, resfriado a 45°C e homogeneizado (APHA, 2001). Esse procedimento foi realizado em triplicata. Após a solidificação do ágar em temperatura ambiente, as placas foram incubadas invertidas a 7°C/10 dias (Marshall, 1992).

As contagens foram realizadas em contador de colônias. Para o cálculo do número de UFC/mL da amostra, foi multiplicado o número de colônias, em cada placa, pelo inverso da diluição inoculada.

Para a Contagem padrão em placas de microrganismos psicrotróficos proteolíticos foi seguido o mesmo procedimento de diluições. Após, procedeu-se à adição de 1 mL das diluições em placas de Petri esterilizadas e 15 a 17 mL de ágar-leite (ágar-padrão acrescido de 10% de leite em pó desnatado reconstituído a 10%, preparado recentemente, fundido e resfriado a 45°C. As placas foram incubadas a 21°C/72 horas (Marshall, 1992).

As colônias de microrganismos proteolíticos apresentam-se rodeadas por uma zona clara, o que é resultado da conversão da caseína em compostos nitrogenados solúveis. Como o meio é opaco, utiliza-se um precipitante químico (ácido acético 10%) para detectar a proteólise e, assim, verificar se as zonas claras são causadas por proteólise ou pela formação de ácidos devida à fermentação de carboidratos.

Efetuuou-se a contagem de colônias que possuir halo transparente ao seu redor e calcular o número de UFC/mL da amostra multiplicando-se o número de colônias, em cada placa, pelo inverso da diluição.

3. Resultados e Discussão

Os resultados obtidos foram comparados com o que a legislação brasileira preconiza para leite cru refrigerado destinado ao processamento em laticínios. Dessa forma utilizou-se a Instrução Normativa nº 76 de 26 de novembro de 2018 como referência de qualidade para as amostras de cada produtor (Brasil, 2018b).

Descreveu-se na Tabela 1 os resultados encontrados para as médias e desvio padrão da composição proximal observada em cada produtor durante o período do estudo. Observa-se que os valores encontrados estão integralmente em conformidade com o preconizado na IN 76. Da mesma forma não foi identificado presença de antibióticos em nenhuma das amostras.

Tabela 1 - Médias e desvio padrão da composição centesimal.

| Parâmetro | Composição Centesimal (g/100g) | | | |
|-----------|--------------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| | Produtor <u>1</u> | Produtor <u>2</u> | Produtor <u>3</u> | Produtor <u>4</u> |
| Gordura | 3,90 ± 0,22 | 4,19 ± 1,68 | 3,74 ± 0,23 | 3,14 ± 0,21 |
| Proteína | 3,16 ± 0,03 | 3,20 ± 1,28 | 3,25 ± 0,08 | 3,23 ± 0,06 |
| Lactose | 4,37 ± 0,08 | 4,41 ± 1,76 | 4,19 ± 0,09 | 4,50 ± 0,06 |
| EST | 12,43 ± 0,27 | 12,81 ± 5,12 | 12,18 ± 0,28 | 11,85 ± 0,23 |
| ESD | 8,54 ± 0,07 | 8,61 ± 0,07 | 8,45 ± 0,13 | 8,71 ± 0,06 |
| Ureia | 8,63 ± 2,72 | 10,68 ± 1,45 | 11,96 ± 2,86 | 8,39 ± 1,82 |
| Caseína | 2,44 ± 0,05 | 2,49 ± 0,09 | 2,53 ± 0,07 | 2,52 ± 0,05 |

Fonte: Acervo autoral.

Para a análise de gordura (Tabela 1) todos os produtores atenderam o mínimo de 3g/100g preconizado na IN 76 (Brasil, 2018b), e a média geral de todos os produtores foi de 3,74g/100g. Em concordância Machado et al. (2000) que ao avaliarem a qualidade do leite cru refrigerado de tanques de expansão localizados principalmente no Estado de São Paulo e no sul de Minas Gerais, verificaram teor de gordura de 3,61 g/100g.

Com relação ao teor de proteínas, todos os produtores apresentaram valores acima de 3g/100g sendo o conteúdo mínimo exigido de (2,9g/100g). Silva et al. (2009) obtiveram 3,27 g/100g de proteína em tanque isotérmico, valores próximos aos encontrados no seguinte estudo. Com relação à análise de lactose os teores entre os produtores variaram de, 4,19g/100g a 4,50g/100g. Valores de lactose de 4,42% a 4,47% foram observados por González et al. (2004).

Na análise de EST somente o produtor 4 apresentou média abaixo de 12g/100g este valor está diretamente ligado aos teores de gordura, visto que o mesmo produtor também apresentou o menor valor de gordura quando comparados com os demais. Considerando os demais produtores, resultados próximos ao deste estudo foram encontrados por Bueno et al. (2005), que verificaram média de 12,61% e por Silva et al. (2009) que obtiveram média de 12,62% de EST, em estudo realizado também Sudoeste Goiano. Para ESD foram obtidos valores médios entre os produtores de 8,45g/100g e 8,71g/100g, estes resultados foram compatíveis com os valores estabelecidos na IN 76, que recomenda o mínimo de 8,4g/100g de ESD.

Os valores encontrados para a análise de ureia no leite variaram de 8,63g/100g a 11,96g/100g, entre as propriedades avaliadas. Riemeier et al. (2004) verificaram que a quantidade de ureia no leite pode ser indicador de excessiva degradação de proteínas no rúmen. No entanto, a média dos níveis de ureia no leite recomendados pela literatura se encontram entre 12 mg/dL a 18 mg/dL (Cabral et al., 2016).

A temperatura exerce influência sobre a proteólise e a lipólise, pois as principais enzimas envolvidas nestes processos, plasmina e lipoproteína lipase, são ativadas quando o leite é submetido à temperatura de refrigeração, causando gradativa degradação das proteínas do leite, principalmente caseína, e dos lipídeos, principalmente os triglicerídeos (Ma et al., 2003). No presente estudo foram observados os seguintes valores médios entre os produtores avaliados 2,44g/100g à 2,53g/100g. Além da temperatura a integridade das micelas, segundo De Kruif (2003), depende também da presença dos íons cálcio, aos quais, juntamente com a fração K-caseína, formam uma suspensão coloidal estável na estrutura micelar.

No entanto, os resultados obtidos para as análises de CBT e CCS (Tabela 2) em alguns produtores apresentaram inconformidades.

Tabela 2 - Médias e desvio padrão dos teores de CBT e CCS observados em cada produtor durante o período de estudos.

| Parâmetro | Produtor <u>1</u> | Produtor <u>2</u> | Produtor <u>3</u> | Produtor <u>4</u> |
|---------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| CCS (x 1000 UFC/mL) | 311,80 ± 0,07 | 440,50 ± 69,63 | 558,60 ± 78,12 | 135,80 ± 47,08 |
| CBT (x 1000 CS/mL) | 8,80 ± 8,66 | 44,25 ± 69,73 | 28,60 ± 43,32 | 9,00 ± 4,90 |

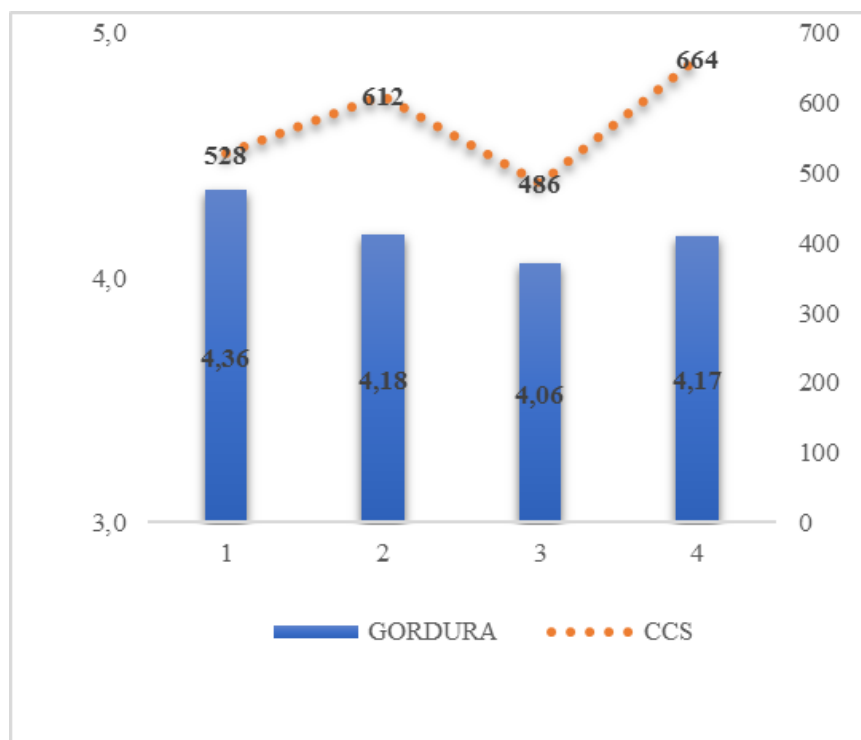
Fonte: Acervo autoral.

É possível verificar na Tabela 2 que somente o produtor 3, ultrapassou o limite máximo de 500 CS/mL (quinhentas mil células por mililitro) descrito na IN 76.

Relacionando a Tabela 1 com a Tabela 2, observa-se que os teores de lactose e ESD decresceram de acordo com o aumento de CCS no leite. Segundo Lima et al. (2006), a lactose é sintetizada pelo aparelho de Golgi das células epiteliais secretoras dos alvéolos mamários. Uma mastite causa danos nesse tecido e altera os sistemas enzimáticos nas células secretoras, tendo como consequência, a diminuição da biossíntese desse constituinte. Por esse motivo a diminuição da lactose é proporcional ao aumento da CCS. Resultados médios de lactose maiores que os do presente estudo (4,60%) foram obtidos por Bueno et al. (2005), na avaliação do leite com CCS inferior a 200 mil CS/mL.

O teor de gordura mais elevado foi o do Produtor 2, onde demonstrou-se na Figura o acompanhamento mensal para Gordura e CCS.

Figura 1 - Acompanhamento mensal dos resultados de Gordura e CCS, obtidos no produtor 2.



Fonte: Acervo autoral.

O resultado obtido para o Produtor 2 pode estar relacionada a uma maior incidência de mastite no rebanho leiteiro. Bueno et al. (2008) informaram que essa elevação pode ser

apenas de caráter relativo, em virtude da redução expressiva nos demais componentes. Esses pesquisadores relataram que o teor de gordura do leite diminuiu em consequência da inibição da síntese na glândula mamária.

Apresenta-se na Tabela 3 os dados de crescimento de microrganismos psicrotróficos e psicrotróficos proteolíticos nos leites coletados nas diferentes propriedades rurais durante os 4 meses de coleta.

Tabela 3 - Microrganismos psicrotróficos e psicrotróficos proteolíticos em amostras leite cru refrigerado, obtidos de quatro produtores rurais do município de Rio Verde, GO, no período de maio a setembro de 2018.

| Produtor | Microrganismos psicrotróficos | Microrganismos psicrotróficos proteolíticos |
|------------|-------------------------------|---|
| Produtor 1 | $3,14 \times 10^{-2}$ UFC/mL | $1,94 \times 10^{-3}$ UFC/mL |
| Produtor 2 | $4,31 \times 10^{-3}$ UFC/mL | $4,62 \times 10^{-3}$ UFC/mL |
| Produtor 3 | $1,14 \times 10^{-3}$ UFC/mL | $2,97 \times 10^{-3}$ UFC/mL |
| Produtor 4 | $2,78 \times 10^{-3}$ UFC/mL | $1,98 \times 10^{-3}$ UFC/mL |

Fonte: Acervo autoral.

Como mencionado anteriormente a legislação brasileira vigente que dispõe de padrões microbiológicos em leite cru refrigerado é a Instrução Normativa N° 76, de 26 de novembro de 2018 (Brasil, 2018b), a qual estabelece um valor máximo de contagem padrão em placas de 900.000 UFC/mL. Ainda de acordo com esta legislação as médias geométricas devem considerar as análises realizadas no período de três meses consecutivos e ininterruptos com no mínimo uma amostra mensal de cada tanque, por isso os resultados estão apresentados desta forma. Observando os dados das Tabelas 3 e comparando com a IN N°76, nota-se que estes encontram-se dentro do limite estabelecido.

Os microrganismos psicrotróficos, apesar de serem destruídos pelo processo de UHT, são conhecidos por se desenvolverem em temperaturas entre 0°C e 7°C, quando no leite cru refrigerado, realizam uma série de reações metabólicas relacionadas ao seu próprio crescimento e manutenção, dentre elas a produção de enzimas que não somente causam a fermentação devido à presença de carboidrato, mas também degradações lipídicas e proteolíticas (Collins, 1981; Santana, 2001). Contudo, essas enzimas têm como característica a termorresistência, logo não são afetadas pelos processos utilizados nas indústrias, continuando assim suas atividades normalmente, podendo comprometer o produto final já

disponível para consumo nos diversos supermercados (Muir, 1996; Cunha & Brandão, 2000; Santos & Fonseca, 2003).

Sabe-se que os principais meios de contaminação do leite por esses microrganismos são os latões, tanques, e também a água residual de equipamentos, utensílios de ordenha e tetos higienizados inadequadamente (Swaigood & Bosoglu, 1984). As contagens de psicotróficos do leite tende a se manter constante quando o mesmo possui baixas contagens iniciais, é retirado de forma higiênica e armazenado por até 48h a 4°C, contudo, temperaturas variantes entre 5 e 10°C torna susceptível as alterações, devido ao desenvolvimento propício de microrganismos (Santos & Fonseca, 2001).

Além disso, essas bactérias psicotróficas podem aumentar de uma forma considerável durante o transporte do leite até o laticínio, dado que a temperatura tende a subir em graus, mesmo estando em tanques isotérmicos. Quando o trajeto a ser percorrido é longo, o efeito da multiplicação desses microrganismos no leite pode ter grande impacto (Maziero & Montanhini, 2016). Na maioria das vezes nas propriedades leiteiras a temperatura de refrigeração oscila de 5 até 10° C, sendo considerado o resfriamento como inadequado, pois esta variação contribui para a multiplicação de microrganismos, outro fator é o tempo de armazenamento do leite nos tanques de refrigeração até a coleta realizada pelos caminhões visto que variam, ultrapassando as 48h orientadas por lei. (Pinto et al., 2006).

Em Goiás, Santos et al (2009), analisaram amostras de leite cru refrigerado obtidas diretamente de tanques de expansão de propriedades rurais da região Sudoeste, a contagem de microrganismos psicotróficos no leite cru refrigerado, no tempo de estocagem de zero horas variou de $3,3 \times 10^{-3}$ a $2,2 \times 10^{-7}$ UFC/mL. Para o tempo de estocagem de 24 horas, os resultados variaram de $3,0 \times 10^{-4}$ a $3,6 \times 10^{-6}$ UFC/mL. Com 48 horas de estocagem, a variação observada foi de $7,0 \times 10^{-3}$ a $4,0 \times 10^{-6}$ UFC/mL. Para as 72 horas de estocagem, os resultados foram de $2,0 \times 10^{-3}$ a $1,5 \times 10^{-7}$ UFC/mL. No presente trabalho foram encontrados valores entre 10^{-1} UFC/mL e 10^{-3} UFC/mL, sendo, portanto, observada uma expressiva melhora na qualidade do leite na região analisada ao comparado com os resultados de Santos (2009) visto que os dados se encontraram dentro dos parâmetros estabelecidos pela legislação brasileira. Baseado nos dados da literatura, é imprudente a fabricação de produtos a partir do leite cru com contagem de psicotróficos superior a $5,0 \times 10^6$ UFC/mL.

Nörnberg, Tondo & Brandelli (2009) realizaram o isolamento de bactérias psicotróficas de leite cru refrigerado de uma unidade de processamento no Rio Grande Do Sul, e obtiveram contagens de bactérias psicotróficas entre 79.000 a 63.000.000 UFC/mL de amostras coletadas no caminhão, e entre 199.000 e 15.800.000 UFC/mL em amostras

coletadas no silo de armazenamento de leite, evidenciando assim as falhas encontradas no processamento, presentes em todas as regiões do Brasil.

Nessa perspectiva, Zanella (2014) ressalta as mesmas fragilidades, das amostras de leite cru avaliadas em Santa Catarina, a contagem bacteriana total de psicotróficos resultou em 1,88% das amostras acima de $6 \log^{10}$ UFC/mL. A média de contagem foi de $4,2 \log^{10}$ UFC/mL, variando de $2,5 \log^{10}$ UFC/mL a $9,4 \log^{10}$ UFC/mL, valores esses preocupantes visto a detecção de atividades proteolíticas no mesmo.

Diversos problemas ligados à qualidade dos produtos de origem láctea como: mudanças de sabor e aroma do leite, perda de consistência e geleificação ao longo da vida comercial do leite UHT, de acordo com estudos tem sido associado justamente à ação das proteases e lipases de origem bacteriana, visto que estas são termorresistentes (Silva et al., 2010).

Não obstante, Lorenzetti (2006), realizando os mesmos estudos também na região sul, tendo como principal diferença apenas a forma de captação do leite, sendo este em uma das propriedades rurais levado diretamente a unidade beneficiadora e outro passando por um entreposto, obteve diferenças significativas em seus resultados, mas ainda sim em desacordo com a legislação vigente, onde foi ressaltado como justificativa um importante fator, o intervalo de tempo, onde o produto chega ao seu destino final com mais de 72h após ordenha frequentemente.

4. Considerações Finais

No presente estudo pode ser observado quanto aos valores de CBT, CCS, composição proximal, ureia, caseína, microrganismos psicotróficos e psicotróficos proteolíticos a maioria apresentou resultados satisfatórios dentro do permitido pela legislação, o que mostra que os proprietários das propriedades rurais estão se preocupando com as boas práticas de higiene, manejo e sanidade dos animais.

Em trabalhos futuros, sugere-se que se faça o acompanhamento de um maior número de produtores, bem como de um maior tempo, para que se tenham dados mais amplos da qualidade do leite da região.

Agradecimentos

Agradecimento ao IF Goiano Campus Rio Verde pela bolsa, tornando possível a realização do experimento, aos proprietários das propriedades rurais que cederam suas amostras para que pudesse ser feito o estudo e ao Laboratório de Qualidade do Leite do Centro de Pesquisa em Alimentos da Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás pela realização das análises eletrônicas.

Referências

Brasil (2011). Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n° 62, de 29 de dezembro de 2011. Aprovar o Regulamento Técnico de Produção, Identidade e Qualidade do Leite tipo A, o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite Cru Refrigerado, o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite Pasteurizado e o Regulamento Técnico da Coleta de Leite Cru Refrigerado e seu Transporte a Granel. Diário Oficial da União. Recuperado em 7 de maio de apcbrh.com.br/files/IN62.pdf.

Brasil (2018a). Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n. 77, de 26 de novembro de 2018. Regulamento Técnico onde foram estabelecidos os critérios e procedimentos para a produção, acondicionamento, conservação, transporte, seleção e recepção do leite cru em estabelecimentos registrados no serviço de inspeção oficial. Recuperado em 8 de maio de http://www.in.gov.br/materia/-/asset_publisher/Kujrw0TZC2Mb/content/id/52750141/do1-2018-11-30-instrucao-normativa-n-77-de-26-de-novembro-de-2018-52749887.

Brasil (2018b). Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n. 76, de 26 de novembro de 2018. Diários Oficiais da União. Regulamentos Técnicos que fixam a identidade e as características de qualidade que devem apresentar o leite cru refrigerado, o leite pasteurizado e o leite pasteurizado tipo A. Recuperado em 7 de maio de http://www.in.gov.br/materia/-/asset_publisher/Kujrw0TZC2Mb/content/id/52750137/do1-2018-11-30-instrucao-normativa-n-76-de-26-de-novembro-de-2018-52749894IN%2076.

Brasil (2002). Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n° 51 de 18 de setembro de 2002. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Leite tipo

A, Leite tipo B, Leite tipo C, Leite Pasteurizado e Leite Cru Refrigerado. Recuperado em 8 de maio de <https://www.defesa.agricultura.sp.gov.br/legislacoes/instrucao-normativa-51-de-18-09-2002,654.html>.

Bueno, V. F. F., Mesquita, A. J. D., Oliveira, A. N., Nicolau, E. S., & Neves, R. B. S. (2008). Contagem bacteriana total do leite: relação com a composição centesimal e período do ano no Estado de Goiás. *Revista Brasileira de Ciência Veterinária*, 15(1), 40-44.

Bueno, V. F. F., Mesquita, A. J. D., Nicolau, E. S., Oliveira, A. N. D., Oliveira, J. P. D., Neves, R. B. S., ... & Thomaz, L. W. (2005). Contagem celular somática: relação com a composição centesimal do leite e período do ano no Estado de Goiás. *Ciência Rural*, 35(4), 848-854.

Cabral, J. F., Da Silva, M. A. P., Carvalho, T. S., Brail, R. B., Giovannini, C. I., & Neves, R. B. S (2016) Composição química do leite refrigerado em função das contagens de células somáticas e contagem bacteriana total. *Ciência Animal*, 26(2), 03-12.

Collins, E. B (1981). Heat resistant psychrotrophic microorganisms. *Journal of Dairy Science*, 64(1), 157-160.

Cunha, M., & Brandao, S. (2000). A coleta a granel pode aumentar os riscos com as bactérias psicrotóxicas. *Indústria de Laticínios*, 71-73.

Defante, L. (2011). *Caracterização dos sistemas de produção leiteiros na Região do Oeste do Paraná por meio de análise multivariada*. Dissertação – Universidade Estadual do Oeste do Paraná.

Embrapa Gado de Leite (2020). Pecuária de leite espera crescer cerca de 2% em 2020. Recuperado em 7 de maio de <https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/49358451/pecuaria-de-leite-espera-crescer-cerca-de-2-em-2020>.

Gracindo, A, P. A. C.; Pereira, G. F. (2009). Produzindo leite de alta qualidade. Recuperado de <http://www.emparn.rn.gov.br/contentproducao/aplicacao/emparn/arquivos/pdf/produzindo%20leite%20de%20alta%20qualidade.pdf>.

Gonzalez, H. D. L., Fischer, V., Ribeiro, M. E. R., Gomes, J. F., Stumpf Jr, W., & Silva, M. A. D. (2004). Avaliação da qualidade do leite na bacia leiteira de Pelotas, RS. Efeito dos meses do ano. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 33(6), 1531-1543.

De Kruif, C. G. (2003). Chapter VI Caseins. In *Progress in Biotechnology*, 23, 219-269). Elsevier.

Lima, M. C. G., Sena, M. J., Mota, R. A., Mendes, E. S., Almeida, C. C., & Silva, R. P. P. E. (2006). Contagem de células somáticas e análises físico-químicas e microbiológicas do leite cru tipo c produzido na região agreste do estado de Pernambuco. *Arquivos do Instituto Biológico*, 73(1), 89-95.

Lorenzetti, D. K. (2006). *Influência do tempo e da temperatura no desenvolvimento de microrganismos psicrotróficos no leite cru de dois estados da região sul*. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) Universidade Federal do Paraná.

Ma, Y., Barbano, D. M., & Santos, M. (2003). Effect of CO₂ addition to raw milk on proteolysis and lipolysis at 4 C. *Journal of Dairy Science*, 86(5), 1616-1631.

Machado, P. F., Pereira, A. R., & Sarríes, G. A. (2000). Composição do leite de tanques de rebanhos brasileiros distribuídos segundo sua contagem de células somáticas. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 29(6), 1883-1886.

Martins, M. L., de Araújo, E. F., Mantovani, H. C., Moraes, C. A., & Vanetti, M. C. (2005). Detection of the apr gene in proteolytic psychrotrophic bacteria isolated from refrigerated raw milk. *International Journal of Food Microbiology*, 102(2), 203-211.

Marshall, R. T. (1992). Standard methods for the examination of dairy products. American Public Health Association, 16.

Maziero, M. T. & Montanhini (2016). Bactérias psicrotróficas em leite refrigerado. *Revista milkpoint*. Recuperado em 8 de maio de

<https://www.milkpoint.com.br/artigos/industria/bacterias-psicrotroficas-em-leite-refrigerado-100639n.aspx>.

Menezes, S. F. (2007). *Aspectos higienico-sanitario de queijo de coalho comercializado no Municipio de Agua Branca – Alagoas e perfil de seus fornecedores e consumidores*. Monografia. Universidade Federal de Alagoas.

Milani, M. P. (2011). *Qualidade do leite em diferentes sistemas de produção, anos e estações climáticas no noroeste do Rio Grande do Sul*. Dissertação (Mestrado) – Curso de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade de Santa Maria.

APHA - American Public Health Association (2001). *Compendium of methods for the microbiological examination of foods*. Washington, DC: American Public Health Association.

Muir, D. D. (1996). The shelf-life of dairy products: 1. Factors influencing raw milk and fresh products. *International Journal of Dairy Technology*, 49(1), 24-32.

Nörnberg, M. D. F. B. L., Tondo, E. C., & Brandelli, A. (2009). Bactérias psicrotróficas e atividade proteolítica no leite cru refrigerado. *Acta scientiae veterinariae*, 37(2), 157-163.

Pereira, F. E. V. (2010). *Isolamento e caracterização de microrganismos em leite cru refrigerado e leite UHT no Estado de Goiás e desenvolvimento de filme ativo antimicrobiano para inibição de Bacillus sporothermodurans*. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de Goiás.

Pereira A. S. et al. (2018). *Metodologia da pesquisa científica*. [e-book]. Santa Maria. Ed. UAB/NTE/UFSM. Recuperado em 11 de agosto de https://repositorio.ufsm.br/bitstream/handle/1/15824/Lic_Computacao_Metodologia-Pesquisa-Cientifica.pdf?sequence=1.

Pinto, C. L. D. O., Martins, M. L., & Vanetti, M. C. D. (2006). Qualidade microbiológica de leite cru refrigerado e isolamento de bactérias psicrotróficas proteolíticas. *Food Science and Technology*, 26(3), 645-651.

Riemeier, A., Lebzien, P., & Flachowsky, G. (2004). Influence of the ruminal N-balance on rumen metabolism. *Journal of Animal and Feed Sciences*, 13, 191-194.

Salvador, F. C., Burin, A. S., Frias, A. A. T., Oliveira, F. S., & Faila, N. (2012). Avaliação da qualidade microbiológica do leite pasteurizado comercializado em Apucarana-PR e região. *Revista F@ ciência, Apucarana-PR*, 9(5), 30-41.

Santana, E. H. W. (2001). *Contaminação do leite por microrganismos aeróbios mesófilos, psicrotróficos e psicrotróficos proteolíticos em diferentes pontos do processo de produção leiteira* (Dissertação [Mestrado em Ciência Animal]-Universidade Estadual de Londrina).

Santos, M. D., & Fonseca, L. D. (2010). Qualidade microbiológica do leite: métodos de análise e estratégias de controle. *Monitoramento da qualidade do leite: módulo, 2*.

Santos, M. V. D., & Fonseca, L. F. L. D. (2001). Importância e efeito de bactérias psicrotróficas sobre a qualidade do leite. *Higiene alimentar*, 15(82), 13-19.

Santos, M. V. D., & Fonseca, L. F. L. D. (2002). Bactérias psicrotróficas e a qualidade do leite. *CBQL em revista*, 1(1), 12-15.

Silva, V. A. D. M. D., Rivas, P. M., Zanela, M. B., Pinto, A. T., Ribeiro, M. E. R., Silva, F. F. P. D., & Machado, M. (2010). Avaliação da qualidade físico-química e microbiológica do leite cru, do leite pasteurizado tipo A e de pontos de contaminação de uma Granja Leiteira no RS. *Acta Scientiae Veterinariae*, 38(1), 51-57.

Silva, M. A. P. D., Santos, P. A. D., Isepon, J. D. S., Rezende, C. S. M., Lage, M. E., & Nicolau, E. S. (2009). Influência do transporte a granel na qualidade do leite cru refrigerado.

Swaisgood, H. E., & Bozoglu, F. (1984). Heat inactivation of the extracellular lipase from *Pseudomonas fluorescens* MC50. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 32(1), 7-10.

Zanella, M. S. (2014). *Pesquisa de psicrotróficos lipolíticos e proteolíticos do leite e análise da qualidade da água em propriedades rurais no extremo oeste de Santa Catarina*.

Monografia (Pós-Graduanda em Ciências Biológicas) Universidade do Oeste de Santa Catarina.

Porcentagem de contribuição de cada autor no manuscrito

Geovanna Machado Guimarães – 16%

Livía Silva Mateus – 14%

Anna Izabella Prado Moraes – 14%

Widi Silva da Costa – 14%

Nayana Ribeiro Soares – 14%

Lorrane Soares dos Santos – 14%

Priscila Alonso dos Santos – 14%