UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
ESCOLA DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

INFLUÊNCIA DOS TIPOS DE ORDENHA, TRANSPORTE E TEMPO DE ARMAZENAMENTO NA QUALIDADE DO LEITE CRU REFRIGERADO DA REGIÃO SUDOESTE DO ESTADO DE GOIÁS

Autor: Marco Antônio Pereira da Silva
Orientador: Prof. Dr. Edmar Soares Nicolau

GOIÂNIA
2008

UFG

sistema de bibliotecas ufg

Termo de Ciência e de Autorização para Disponibilizar as Teses e Dissertações Eletrônicas (TE-DE) na Biblioteca Digital da UFG

Na qualidade de titular dos direitos de autor, autorizo a Universidade Federal de Goiás–UFG a disponibilizar gratuitamente através da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações – BDTD/UFG, sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a Lei nº 9610/98, o documento conforme permissões assinaladas abaixo, para fins de leitura, impressão e/ou download, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data.

1. Identificação do material bibliográfico: ☐ **Dissertação** ☒ **Tese**

2. Identificação da Tese ou Dissertação

Autor: **Marco Antônio Pereira da Silva** CPF: E-mail: **marcotonyrv@yahoo.com.br**

Seu e-mail pode ser disponibilizado na página? ☒ Sim ☐ Não

Vínculo Empregatício do autor: **Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano - Campus Rio Verde** Agência de fomento: MEC

País: **Brasil** UF: **GO** CNPJ: **74.039.603/0001-33** Sigla: **IFET Goiano**

Título: INFLUÊNCIA DOS TIPOS DE ORDENHA, TRANSPORTE E TEMPO DE ARMAZENAMENTO NA QUALIDADE DO LEITE CRU REFRIGERADO DA REGIÃO SUDOESTE DO ESTADO DE GOIÁS Palavras-chave: **Higiene; Leite Cru Refrigerado; Tempo de Estocagem; Transporte a Granel.**

Título em outra língua: **INFLUENCE OF THE MILKING TYPES, TRANSPORT AND STORAGE TIME IN THE COOLED RAW MILK QUALITY OF THE GOIANO SOUTHWEST**

Palavras-chave em outra língua: Hygiene, **Cooled Raw Milk; Storage Time; Bulk Tank Milk Transport.**

Área de concentração: **Higiene e Tecnologia de Alimentos** Data defesa: (dd/mm/aaaa) **19/12/2008**

Programa de Pós-Graduação: **Ciência Animal**

Orientador(a): **Prof. Dr. Edmar Soares Nicolau** CPF: E-mail: **rena@vet.ufg.br**

Co-orientador(1): **Prof. Dr. Celso José de Moura** CPF: E-mail: celsojose@gmail.com

Co-orientador(2): **Prof. Dr. Cristiano Sales Prado** CPF: E-mail: **pradocs@vet.ufg.br**

3. Informações de acesso ao documento:

Liberação para disponibilização?[1] ☒ total ☐ parcial

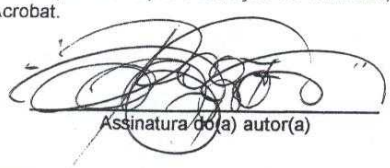
Em caso de disponibilização parcial, assinale as permissões:

[ ] Capítulos. Especifique:

[ ] Outras restrições:

Havendo concordância com a disponibilização eletrônica, torna-se imprescindível o envio do(s) arquivo(s) em formato digital PDF ou DOC da tese ou dissertação.

O Sistema da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações garante aos autores, que os arquivos contendo eletronicamente as teses e ou dissertações, antes de sua disponibilização, receberão procedimentos de segurança, criptografia (para não permitir cópia e extração de conteúdo, permitindo apenas impressão fraca) usando o padrão do Acrobat.



Goiânia 11 de março de 2009

Assinatura do(a) autor(a)

[1] Em caso de restrição, esta poderá ser mantida por até um ano a partir da data de defesa. A extensão deste prazo suscita justificativa junto à coordenação do curso. Todo resumo e metadados ficarão sempre disponibilizados.

MARCO ANTÔNIO PEREIRA DA SILVA

INFLUÊNCIA DOS TIPOS DE ORDENHA, TRANSPORTE E TEMPO DE ARMAZENAMENTO NA QUALIDADE DO LEITE CRU REFRIGERADO DA REGIÃO SUDOESTE DO ESTADO DE GOIÁS

Tese apresentada para obtenção do título de Doutor em Ciência Animal junto à Escola de Veterinária da Universidade Federal de Goiás

Área de concentração:
Higiene e Tecnologia de Alimentos

Orientador:
Prof. Dr. Edmar Soares Nicolau

Comitê de Orientação:
Prof. Dr. Celso José de Moura
Prof. Dr. Cristiano Sales Prado

GOIÂNIA
2008

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)

(GPT/BC/UFG)

Silva, Marco Antônio Pereira da.
S586i Influência dos tipos de ordenha, transporte e tempo de armazenamento na qualidade do leite cru refrigerado da região sudoeste do Estado de Goiás [manuscrito] / Marco Antônio Pereira da Silva. – 2008.
74 f., tabs.

Orientador: Prof. Dr. Edmar Soares Nicolau..

Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Goiás, Escola de Veterinária, 2008.

Bibliografia.

1. Leite Cru - Resfriamento – Tempo de Estocagem 2. Leite a Granel – Microbiologia - Higiene 3. Leite Cru – Qualidade - Goiás 4. Células Somáticas I. Nicolau, Edmar Soares. II. Universidade Federal de Goiás, **Escola de Veterinária**. III. Título.

CDU: 637.112(817.3)

MARCO ANTÔNIO PEREIRA DA SILVA

Tese defendida e aprovada em **19/12/2008** pela Banca Examinadora constituída pelos professores:

Prof. Dr. Edmar Soares Nicolau
(ORIENTADOR (A))

Profa. Dra. Jacira dos Santos Isepon - UNESP/Ilha Solteira - SP

Dr. Jaison Pereira de Oliveira – EMBRAPA Arroz e Feijão

Profa. Dra. Cintia Silva Minafra e Rezende – memória

Prof. Dr. Moacir Evandro Lage

Aos meus pais

Antônio Luciano da Silva e
Rosa Maria Pereira da Silva

Dedico

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador Prof. Dr. Edmar Soares Nicolau pela paciência, compreensão e amizade que me proporcionou ao realizarmos esta obra. Serei eternamente grato.

A minha orientadora de Mestrado Profª. Drª. Jacira dos Santos Isepon que não mediu esforços para contribuir com simpatia, humildade e beleza no fechamento desta obra.

Aos meus irmãos João Batista Pereira da Silva e Alberto Pereira da Silva pela força.

Aos meus sobrinhos e afilhados Guilherme Moraes Martins Pereira, Maria Júlia Campos Pereira e Maria Caroline Campos Pereira pela alegria que me proporcionam a cada dia.

A amiga Priscila Alonso dos Santos pela contribuição imensurável no decorrer da obra.

Aos colaboradores da pesquisa Elen de Paula Matias Moutinho, Julliane Carvalho Barros, Lincoln Campos da Silva Júnior, Marcos Roberto da Silva, Moraima Castro Rodrigues, Rossane Pereira da Silva, Natália do Carmo Silva e Tiago Pereira Guimarães pela contribuição e empenho durante o desenvolvimento da pesquisa.

Ao Prof. Dr. Ipojucan de Goiás Brasil pela força espiritual.

A CAPES pela concessão da bolsa de estudos.

Ao Laboratório de Qualidade do Leite do Centro de Pesquisa em Alimentos da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Goiás pela contribuição na execução das análises eletrônicas.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Goiás pela oportunidade.

Ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano Campus Rio Verde pela oportunidade de realização profissional.

Aqueles que direta ou indiretamente contribuíram para o desenvolvimento desta obra.

A Deus pela vida.

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS..... 01
REFERÊNCIAS..... 06

CAPÍTULO 2 – LEITE CRU REFRIGERADO ESTOCADO POR ATÉ 72 HORAS EM PROPRIEDADES RURAIS DO SUDOESTE GOIANO..... 08
RESUMO..... 08
ABSTRACT..... 09
1 INTRODUÇÃO..... 10
2 MATERIAL E MÉTODOS..... 12
2.1 Coleta das amostras..... 12
2.2 Contagem de microrganismos psicrotróficos..... 13
2.2.1 Contagem de microrganismos psicrotróficos..... 13
2.2.2 Contagens de microrganismos psicrotróficos proteolíticos..... 14
2.2.3 Contagem de *Pseudomonas* spp..... 14
2.3 Análises físico-químicas..... 15
2.3.1 Acidez titulável..... 15
2.3.2 Composição centesimal..... 15
2.4 Contagem de células somáticas..... 15
2.5 Contagem bacteriana total..... 15
2.6 Análises Estatísticas..... 16
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO..... 17
4 CONCLUSÕES..... 31
5 REFERÊNCIAS..... 32

CAPÍTULO 3 – INFLUÊNCIA DO TRANSPORTE NA COMPOSIÇÃO CENTESIMAL, CONTAGEM DE CÉLULAS SOMÁTICAS E CONTAGEM BACTERIANA TOTAL DO LEITE CRU REFRIGERADO OBTIDO NO SUDOESTE GOIANO..... 35
RESUMO..... 35
ABSTRACT..... 36
1 INTRODUÇÃO..... 37
2 MATERIAL E MÉTODOS..... 38
2.1 Amostragem..... 38
2.2 Análises laboratoriais..... 39
2.2.1 Composição centesimal..... 39
2.2.2 Contagem de células somáticas..... 39
2.2.3 Contagem bacteriana total..... 40
2.3 Análises Estatísticas..... 40
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO..... 41
4 CONCLUSÕES..... 48
5 REFERÊNCIAS..... 49

CAPÍTULO 4 – AVALIAÇÃO DA ESTOCAGEM DO LEITE DE DOIS LATICÍNIOS DO SUDOESTE GOIANO..... 51
RESUMO..... 51
ABSTRACT..... 52

1 INTRODUÇÃO..... 53
2 MATERIAL E MÉTODOS..... 54
2.1 Coleta das amostras..... 54
2.2 Análises microbiológicas..... 55
2.2.1 Contagem de microrganismos psicrotróficos..... 55
2.2.2 Contagens de microrganismos psicrotróficos proteolíticos..... 55
2.2.3 Contagem de *Pseudomonas* spp..... 56
2.3 Análises físico-químicas..... 56
2.3.1 Acidez titulável..... 56
2.3.2 Composição centesimal..... 57
2.4 Contagem de células somáticas..... 57
2.5 Contagem bacteriana total..... 57
2.6 Análises Estatísticas..... 57
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO..... 59
4 CONCLUSÕES..... 69
5 REFERÊNCIAS..... 70

CAPÍTULO 5 – CONSIDERAÇÕES FINAIS..... 74

RESUMO

O objetivo da pesquisa foi avaliar a influência dos tipos de ordenha, transporte e tempo de armazenamento na qualidade do leite cru refrigerado produzido na região Sudoeste de Goiás. As amostras de leite cru refrigerado foram obtidas de sete propriedades rurais que armazenavam o leite em tanques de expansão por até 72 horas, durante os períodos chuvoso e seco de 2008. Foram coletadas amostras da primeira ordenha acondicionada no tanque (zero hora) às 24, 48 e 72 horas de estocagem, as amostras foram classificadas como compostas ou de remontagem. A contagem de células somáticas (CCS), contagem bacteriana total (CBT) e composição centesimal foram realizadas no Laboratório de Qualidade do Leite do Centro de Pesquisa em Alimentos da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Goiás (LQL/UFG). A contagem de psicrotróficos, psicrotróficos proteolíticos, *Pseudomonas* spp. e acidez titulável foi realizada nos Laboratórios de Microbiologia e Processamento de Leite e Derivados da Unidade de Agroindústria do Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde – GO (IFGoiano). Os resultados obtidos foram avaliados estatisticamente quanto aos períodos do ano (chuvoso e seco), tipos de ordenha (manual e mecânica) e tempo de estocagem (zero, 24, 48 e 72 horas). Para avaliar a influência do transporte na qualidade do leite cru refrigerado foram coletadas amostras de leite armazenadas nos tanques de expansão e após a chegada a indústria foram coletadas amostras do tanque isotérmico. A avaliação da composição centesimal, CCS e CBT foram realizadas no LQL/UFG. Os dados foram submetidos à análise de variância, com as coletas constituindo os blocos, enquanto o período de coleta e tipos de amostra foram os fatores avaliados. O delineamento experimental foi em blocos ao acaso com tipos e tempos de estocagem em arranjo fatorial 2 x 2. As análises estatísticas foram realizadas por meio do Software Sisvar. Para avaliação da qualidade do leite recebido pelas indústrias foram coletadas amostras de leite a granel dos silos de estocagem de leite de duas indústrias de laticínios localizadas na região Sudoeste de Goiás. Realizou-se as coletas em condições assépticas e o leite foi armazenado em frascos com bronopol para avaliação da CCS e composição centesimal e azidiol para avaliação da CBT, e frascos de cor âmbar de ± 250 mL para serem realizadas as análises microbiológicas e de acidez titulável. Foram coletadas sete amostras da indústria A e seis da indústria B, para avaliação no tempo de estocagem de 24, 48 e 72 horas, sendo que essas amostras ficaram armazenadas em refrigerador (± 5ºC) instalado no Laboratório do IFGoiano. A CCS, CBT e composição centesimal foi realizada no LQL/UFG. A contagem de psicrotróficos, psicrotróficos proteolíticos, *Pseudomonas* spp. e acidez titulável foi realizada nos Laboratórios do IFGoiano. O delineamento experimental foi em blocos ao acaso com tipos de amostra e tempos de estocagem em arranjo fatorial 2 x 2. A comparação dos tipos de amostra e tempos de estocagem foi realizada por meio do teste F da análise de variância. Para atender as pressuposições da análise de variância os resultados da CCS, CBT, psicrotróficos, psicrotróficos proteolíticos e *Pseudomonas* spp., foram transformados em logaritmo na base 10. As análises estatísticas foram realizadas por meio do Software SISVAR. O leite cru refrigerado estocado em tanques de expansão por mais de 24 horas não atendeu aos requisitos microbiológicos mínimos necessários para o recebimento do leite pelos laticínios. Para que os produtores e laticínios do Sudoeste Goiano atendam às exigências

da Instrução Normativa Nº 51/2002 para o recebimento do leite cru refrigerado no período vigente e a partir de 2011, serão necessárias a implantação de medidas higiênico-sanitárias rigorosas para adequação da produção, especialmente quanto à temperatura e tempo de estocagem, limpeza e sanitização dos tanques de expansão. Nas indústrias a implantação dessas medidas deverá ser mais rigorosa, devido ao aumento significativo de microrganismos durante o transporte a granel do leite.

CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS

Em 2007 o Brasil foi o sexto maior produtor mundial de leite, com 26750 mil toneladas, sendo responsável por 5,39% da produção mundial. Os estados com maior produção foram Minas Gerais (5893045 mil litros), Rio Grande do Sul (2746710 mil litros) e Goiás com 2116159 mil litros de leite. Nesse mesmo período a média brasileira foi de 5,6 litros/cabeça/dia, sendo que no estado de Goiás a média foi de 4,7 litros/cabeça/dia. Enquanto no Brasil produz-se uma média de 1680 kg/vaca/ano, os Estados Unidos produzem o equivalente a 9191 kg/vaca/ano ANUALPEC (2008).

O Sudoeste Goiano produziu 285 milhões de litros de leite, ocupando o 11º lugar, enquanto o primeiro lugar, situado na região Sul, microrregião de Toledo no Paraná, produziu aproximadamente 425 milhões de litros de leite (EMBRAPA, 2006).

O processo de refrigeração do leite na propriedade rural e o transporte granelizado até a indústria, trouxeram vários benefícios à cadeia leiteira. A coleta geralmente é realizada em dias alternados, nos produtores em que a capacidade do tanque permite o armazenamento de duas ou mais ordenhas, no entanto é comum no Sudoeste Goiano a estocagem do leite na propriedade rural por períodos superiores a 48 horas resultando em leite de pelo menos quatro ordenhas. Após o resfriamento, o leite cru pode ficar armazenado por até 48 horas na propriedade rural (BRASIL, 2002).

Para o transporte a granel do leite é necessário a refrigeração na unidade de produção ou em tanque comunitário. O local do resfriador deve ter paredes, ser coberto, arejado, iluminado natural e artificialmente, pavimentado e de fácil acesso ao veículo coletor. Além disso, deve ser provido de água de boa qualidade e mantido limpo e higienizado (TEIXEIRA & RIBEIRO, 2006).

A legislação brasileira permite o armazenamento do leite *in natura* em tanques de expansão individuais e comunitários. Os tanques de expansão individuais armazenam o leite obtido em uma propriedade rural. Nos tanques comunitários pode ser armazenada a produção de mais de uma propriedade.

Durante a ordenha, a manipulação e o transporte até a indústria, o leite está sujeito às mais variadas fontes de contaminações (ar, solo, poeira,

fragmentos de ração, esterco, insetos, mãos do ordenhador, baldes, latões, filtros e outros utensílios usados na ordenha e transporte, etc.), devendo, logo após a obtenção, ser coado para eliminar esses contaminantes e, em seguida, ser refrigerado imediatamente.

A temperatura de refrigeração deve ser abaixo de 7ºC na fonte de produção (BRASIL, 2002). A falta de refrigeração logo após a ordenha favorece o crescimento de microrganismos indesejáveis, os quais são responsáveis pela deterioração do leite *in natura*. O resfriamento logo após a ordenha inibe substancialmente o crescimento bacteriano até o momento do processamento do leite pela indústria. Entretanto, NERO et al. (2005) relataram que o resfriamento nas propriedades e a granelização da coleta não são suficientes para a produção de leite de boa qualidade microbiológica, sendo de grande importância o desenvolvimento de programas regionais de assistência aos produtores leiteiros.

Com a criação da Instrução Normativa nº. 51 (IN 51) em 2002 iniciaram-se as exigências, junto a produtores e indústrias, visando melhorar a qualidade do leite produzido no Brasil. Nas regiões Sul, Sudeste e Centro-Oeste, a adequação às exigências impostas pela legislação começaram mais cedo. A partir de 2008 ficou estabelecida para o leite cru refrigerado obtido nessas regiões a contagem de células somáticas (CCS) máxima de 750 mil CS/mL e contagem bacteriana total (CBT) de no máximo 750 mil UFC/mL.

NERO et al. (2005) relataram uma alta freqüência de amostras de leite *in natura* com elevados níveis de contaminação por aeróbios mesófilos. Por outro lado ARCURI et al., (2006) verificaram que a adoção de procedimentos de limpeza completa dos equipamentos de ordenha e estocagem do leite contribuiu para a redução na contagem de mesófilos no leite, enquanto que PINTO et al. (2006) ressaltaram que a manutenção do leite cru refrigerado por períodos prolongados na fonte de produção ou na indústria pode comprometer a qualidade, considerando a possibilidade de seleção de bactérias psicrotróficas proteolíticas.

São necessários investimentos contínuos em boas práticas, visando prevenir a contaminação e o crescimento microbiano do leite para reduzir, consequentemente, problemas tecnológicos e econômicos na indústria de laticínios (PINTO et al., 2006).

Segundo o ICMSF (1980), os mesófilos são os microrganismos capazes

de se multiplicar em temperaturas ótimas na faixa de 30ºC a 45ºC e os psicrotróficos de 25 a 30ºC. Os psicrotróficos podem ser termodúricos, resistindo a pasteurização (FONSECA & SANTOS, 2000). A presença desse grupo de microrganismos no leite *in natura* é considerada o fator mais crítico que influencia a manutenção da qualidade do leite refrigerado e, por conseqüência, a qualidade dos produtos lácteos. Esses microrganismos estão amplamente distribuídos na natureza, podendo ser encontrados na água, no solo, nas plantas e nos animais. É necessário um programa de granelização com ações eficazes para evitar a contaminação do leite durante a produção, a estocagem em tanques de expansão, a coleta e o transporte a granel.

Em trabalho conduzido por KUMARESAN et al. (2007) ao abaixarem a temperatura de estocagem do leite de 7ºC para 2ºC, houve uma redução significativa no crescimento de psicrotróficos e nas atividades proteolítica e lipolítica. Após a adoção das técnicas profiláticas, verificaram-se reduções significativas na contagem total de bactérias psicrotróficas, comprovando a importância de práticas de higiene e limpeza sobre a qualidade microbiológica do leite (GUERREIRO et al., 2005).

A grande totalidade dos microrganismos psicrotróficos é destruída pela pasteurização, com exceção das poucas bactérias termodúricas. As espécies psicrotróficas apresentam capacidade de produção de enzimas proteolíticas e lipolíticas, muitas delas com elevada termorresistência, as quais mantêm sua atividade após a pasteurização ou mesmo tratamento de ultra alta temperatura (UAT) (CARVALHO, 2001).

Com relação à quantidade de bactérias psicrotróficas necessárias em um determinado produto para que possa haver alterações é citado que os problemas aparecem quando a contagem destes microrganismos atinge 10^7 UFC/mL (CROMIE, 1992).

As principais enzimas envolvidas na deterioração do produto são as proteases e lipases, glicosidases, fosfatases e esterases, embora nem todas essas sejam produzidas por bactérias. Outros fatores ambientais, como temperatura, pH e aeração, também podem influenciar a síntese e ação dessas enzimas (CHENG et al., 1995).

As proteases bacterianas atacam principalmente a κ e β-caseína,

sendo a κ-caseína atacada por estar mais exposta à protease, devido ao seu posicionamento na periferia da micela e a β-caseína, porque, na armazenagem refrigerada do leite, essa fração se dissocia e separa-se da micela, mostrando que a própria armazenagem refrigerada do leite pode tornar as frações de caseína mais susceptíveis à proteólise (SANTOS et al., 1999).

OLIVAL et al. (2004) relataram que a contaminação bacteriana ainda é o principal problema de qualidade do leite, destacando-se como uma das principais limitações para que os produtores da microrregião de Pirassununga se adequassem aos critérios de qualidade exigidos pela Instrução Normativa 51. Isto evidencia a necessidade de estudos para avaliar a qualidade do leite *in natura* recebido nas diversas regiões do país.

Os microrganismos do gênero *Pseudomonas* spp. são responsáveis por provocar alterações na qualidade do leite cru refrigerado. De acordo com FAGUNDES et al. (2006), o manejo sanitário pode reduzir efetivamente a contagem de *Pseudomonas* spp., sobretudo na superfície dos tetos, leite recém obtido e resfriado.

Ao avaliarem a qualidade microbiológica do leite refrigerado nas fazendas ARCURI et al. (2006) observaram que as contagens padrão em placas entre 101 mil e 500 mil UFC/mL estavam associadas ao uso de pelo menos dois produtos de higienização (detergente alcalino e ácido, detergente alcalino e sanitizante, detergente ácido e sanitizante) e as contagens acima de 500 mil UFC/mL estavam associadas ao emprego de apenas um ou nenhum desses produtos na higienização. Segundo GONZALEZ et al. (2004), é necessário maior monitoramento e cuidado com a água de limpeza dos equipamentos.

Além dos cuidados com a qualidade do leite após a ordenha o cuidado com o úbere e tetos dos animais deve ser observado de forma rigorosa. A mastite é a inflamação da glândula mamária, que pode ser causada por contusão ou pela ação de microrganismos invasores do úbere, a qual compromete a produção de leite tanto em quantidade como em qualidade. Devido à inflamação, a glândula produz menos e a composição do leite fica alterada, reduzindo o valor industrial e nutricional. A prevenção da mastite deve ser permanente, e envolve higiene e desinfecção para evitar a invasão da glândula pelas bactérias causadoras da doença. Os animais onde o manejo antes e após a ordenha não

foi realizado de forma adequada estão sujeitos ao ataque de microrganismos causadores da mastite.

BUENO et al. (2005) observaram que a elevação da CCS estava relacionada à redução das concentrações de proteína, lactose e sólidos totais e que, no estado de Goiás, o leite apresentou CCS mais elevada no período das secas.

De acordo com CUNHA et al. (2008) há grande variação na ocorrência de mastite subclínica entre os rebanhos leiteiros nas diferentes regiões de Minas Gerais, há correlação negativa entre CCS e produção de leite e positiva entre CCS e porcentagens de gordura e de proteína, animais com maior número de lactações apresentaram maior CCS, e com CCS acima de 100 mil CS/mL menor produção de leite

A média da CCS dos tanques de expansão de rebanhos brasileiros é 641 mil CS/mL com desvio padrão de 767 mil CS/mL. O alto desvio padrão, indica que existem grandes variações da CCS entre os rebanhos analisados (MACHADO et al., 2000).

Ao avaliarem a qualidade do leite produzido na bacia leiteira de Pelotas, RS, GONZALEZ et al. (2004) observaram que os meses do ano influenciaram na composição química do leite e na ocorrência de mastite, o que foi relacionado, às variações de disponibilidade e qualidade dos alimentos e às condições climáticas favoráveis aos microrganismos.

Conhecer as características do leite cru refrigerado produzido na região Sudoeste do estado de Goiás é de grande importância, pois o estado de Goiás tem se destacado como um dos maiores produtores de leite do Brasil e esses estudos são relevantes para conduzir melhorias na cadeia produtiva do leite.

Sabendo que a qualidade do leite pode ser afetada por inúmeros fatores o objetivo da pesquisa foi avaliar a influência dos tipos de ordenha, transporte e estocagem na qualidade do leite cru refrigerado obtido na região Sudoeste do estado de Goiás.

2 REFERÊNCIAS

ANUÁRIO DA PECUÁRIA BRASILEIRA - ANUALPEC 2008. São Paulo: **FNP Consultoria & Comércio**, 2008. 380 p.

ARCURI, E. F.; BRITO, M. A. V. P.; BRITO, J. R. F.; PINTO, S. M.; ÂNGELO, F. F.; SOUZA, G. N.. Qualidade microbiológica do leite refrigerado nas fazendas. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 58, n. 3, p. 440 – 446, 2006.

BRASIL. Instrução Normativa nº 51, de 20 de setembro de 2002. Aprova os regulamentos técnicos de produção, identidade e qualidade do leite tipo... **Diário Oficial da União**, Brasília, p.13, 21 set. 2002. Seção 1.

BUENO, V. F. F.; MESQUITA, A. J.; NICOLAU, E. S.; OLIVEIRA, A. N.; OLIVEIRA, J. P.; NEVES, R. B. S.; MANSUR, J. R. G.; THOMAZ, L. W. Contagem celular somática: relação com a composição centesimal do leite e período do ano no Estado de Goiás. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 35, n. 4, p. 848 – 854, 2005.

CARVALHO, E. P. **Microbiologia de alimentos**. Lavras, 2001. 128 p. (Curso de Pos Graduação 'Lato Sensu' (Especialização) a distancia. Processamento e Controle de Qualidade em Carne, Leite, Ovos e Pescado).

CHENG, C-M.; DOYLE. M. P.; LUCHANSKY, J. B. Identification of Pseudomonas fluorescens strains isolated from raw pork and chicken that produce siderophores antagonistic towards foodborne pathogens. **Journal of Food Protection**, Ames, v. 58, n. 12, p. 1340 – 1344, 1995.

CROMIE, S. Psichorotrophs and their enzyme residues in cheese milk. **Australian Journal of Dairy Techonology**, Victoria, v. 47, n. 2, p. 96 – 100, 1992.

CUNHA, R. P. L.; MOLINA, L. R.; CARVALHO, A. U.; FACURY FILHO, E. J.; FERREIRA, P. M.; GENTILINI, M. B. Mastite subclínica e relação da contagem de células somáticas com número de lactações, produção e composição química do leite em vacas da raça Holandesa. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 60, n. 1, p. 19 – 24, 2008.

EMBRAPA GADO DE LEITE. Principais microrregiões produtoras de leite no Brasil 2002/2006. Disponível no site: <http://www.cnpgl.embrapa.br/nova/informacoes/estatisticas/producao/tabela0244.php>. Acesso em: 15 set. 08. Fonte: IBGE – Pesquisa da Pecuária Municipal. Elaboração: R. ZOCCAL - Embrapa Gado de Leite. Atualizado em maio/ 2008.

FAGUNDES, C. M.; FISCHER, V.; SILVA, W. P.; CARBONERA, N.; ARAÚJO, M. R. Presença de Pseudomonas spp em função de diferentes etapas da ordenha com distintos manejos higiênicos e no leite refrigerado. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 36, n. 2, p. 568 – 572, 2006.

FONSECA, L. F. L.; SANTOS, M. V. **Qualidade do leite e controle de mastite**:

Lemos Editora, 2000. 175p.

GONZALEZ, H. L.; FISCHER, V.; RIBEIRO, M. E. R.; GOMES J. F.; STUMPF JR., W.; SILVA, M. A. Avaliação da qualidade do leite na bacia leiteira de Pelotas, RS. Efeito dos meses do ano. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 33, n. 6, p. 1531 – 1543, 2004.

GUERREIRO, P. K.; MACHADO, M. R. F.; BRAGA, G. C.; GASPARINO, E.; FRANZENER, A. S. M. Qualidade microbiológica de leite em função de técnicas profiláticas no manejo de produção. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 29, n. 1, p. 216 – 222, 2005.

International Commission on Microbiological Specifications for Foods (ICMSF). **Ecologia Microbiana de los Alimentos 1**: fatores que afectam a la supervivencia de los microrganismos en los alimentos, Zaragoza, Acribia, 1980, 332p.

KUMARESAN, G.; ANNALVILLI, R.; SIVAKUMAR, K. Psychrotrophic spoilage of raw milk at different temperatures of storage. **Journal of Applied Sciences Research**, v. 3, n. 11, p. 1383 – 1387, 2007.

MACHADO, P. F.; PEREIRA, A. R.; SILVA, L. F. P.; SARRIÉS, G. A. Células somáticas no leite em rebanhos brasileiros. **Scientia Agrícola**, v. 57, n. 2, p. 359 – 361, 2000.

NERO, L. A.; MATTOS, M. R.; BELOTI, V.; BARROS, M. A. F.; PINTO, J. P. A. N.; ANDRADE, N. J.; SILVA, W. P.; FRANCO, B. D. G. M. Leite cru de quatro regiões leiteiras brasileiras: perspectivas de atendimento dos requisitos microbiológicos estabelecidos pela Instrução Normativa 51. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 25 n. 1, p. 191 – 195, 2005.

OLIVAL, A. A.; SPEXOTO, A. A.; MANO, G. B.; SANTOS, M. V. Avaliação das **limitações** para melhoria da qualidade do leite na região de Pirassununga-SP. **Revista Ciência em Extensão**, Botucatu, v. 1, n. 2, p. 171 – 183, 2004.

PINTO, C. L. O.; MARTINS, M. L.; VANETTI, M. C. D. Qualidade microbiológica de leite cru refrigerado e isolamento de bactérias psicrotróficas proteolíticas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 26, n. 3, p. 645 – 651, 2006.

SANTOS, E. S.; CARVALHO, E. P.; ABREU, L. R.; Psicrotróficos: conseqüências de sua presença em leites e queijos. **Boletim Sociedade Brasileira Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 33, n. 22, p. 129 – 138, 1999.

TEIXEIRA, S. R.; RIBEIRO, M. T. **Instrução técnica para o produtor de leite**. Transporte do leite a granel. 2006. Disponível em: <http://www.cnpgl.embrapa.br/pastprod/22Instrucao.pdf>. Acesso em: 08 abr. 2008.

CAPÍTULO 2 – LEITE CRU REFRIGERADO ESTOCADO POR ATÉ 72 HORAS EM PROPRIEDADES RURAIS DO SUDOESTE GOIANO

RESUMO

O objetivo da pesquisa foi avaliar o leite cru refrigerado obtido em propriedades rurais do Cerrado Goiano nos períodos chuvoso e seco de 2008. As amostras foram coletadas de produtores individuais onde o armazenamento em tanques de expansão era realizado por até 72 horas, com intervalos de 24 horas. As análises eletrônicas (contagem de células somáticas, contagem bacteriana total e composição centesimal) foram realizadas no Laboratório de Qualidade do Leite do Centro de Pesquisa em Alimentos da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Goiás. As análises microbiológicas e de acidez titulável foram realizadas nos Laboratórios de Microbiologia e Processamento de Leite e Derivados da Unidade de Agroindústria do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – Campus Rio Verde – GO. Os dados foram submetidos à análise de variância, e os fatores analisados foram: período (chuvoso ou seco), tipo de ordenha (manual ou mecânica) e tempo de estocagem (zero, 24, 48 e 72 horas), em delineamento inteiramente casualizado e arranjo fatorial 2 x 2 x 4. A comparação do período e tipo de ordenha foi realizada por meio do teste F da análise de variância. Os tempos de estocagem foram analisados por meio de modelos de regressão. Para atender as pressuposições da análise de variância a contagem de psicrotróficos, psicrotróficos proteolíticos, *Pseudomonas* spp., CCS e CBT foram transformadas por meio do logaritmo na base 10. Foi utilizado o Software SISVAR para análise. A contagem bacteriana total do leite cru refrigerado às 24 horas de armazenamento ficou acima do limite exigido pela legislação. A contagem de psicrotróficos, psicrotróficos proteolíticos e *Pseudomonas* spp., foi maior no período chuvoso. Deverão ser alertados, produtores e indústrias para a obtenção e processamento de leite com qualidade higiênico-sanitária adequada.

Palavras-chave: higiene; leite refrigerado; mastite; tempo de estocagem.

CHAPTER 2 – COOLED RAW MILK STORAGED BY UNTIL 72 HOURS IN DAIRY PROPERTIES OF GOIANO SOUTHWEST

ABSTRACT

The objective of the research were evaluate cooled raw milk gotten in dairy properties of the Southwest Goiano in the periods rainy and dry of 2008. The samples were collected of individual producers where the storage in bulk tanks were carried for until 72 hours, with 24-hour intervals. Somatic cells count, total bacterial count and centesimal composition were carried in the Laboratório de Qualidade do Leite of the Centro de Pesquisa em Alimentos of the Escola de Veterinária of the Universidade Federal de Goiás. The microbiological analysis and titratable acidity were carried in the Laboratories of the Unidade de Agroindústria of the Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – Campus Rio Verde – GO. Data were submitted to the variance analysis and the analyzed factors were: period, type of milking and storage time, in entirely casualized delineation and factorial arrangement 2 x 2 x 4. The comparison of period and type of milking was carried through by means of test F of the variance analysis. The storage time was analyzed by means of regression models. Software SISVAR was used for analysis. The results of the physical-chemical composition were in accordance with the legislation. The total bacterial count of cooled raw milk to the 24 hours of storage was above of the limit of the legislation. The count of psychrotrophic, psychrotrophic proteolytic and *Pseudomonas* spp., was bigger in the rainy period.

Key-word: cooled raw milk; hygiene; mastitis; storage time.

1 INTRODUÇÃO

A composição físico-química e microbiológica do leite está relacionada a estação do ano, raça, nutrição e fisiologia do animal. O mês, idade ao parto e estágio da lactação são importantes quando se avaliam as variações na produção e composição química do leite (NORO et al., 2006).

GONZALEZ et al. (2004) observaram a influência dos meses do ano na composição química do leite e na incidência de mastite, o que foi relacionado, a disponibilidade e qualidade dos alimentos e às condições climáticas favoráveis aos microrganismos.

A Instrução Normativa nº. 51 (IN 51) que entrou em vigor em 2002 regulamentou a produção, identidade, qualidade, coleta e transporte do leite cru refrigerado no país. O principal desafio proposto foi a melhoria das condições higiênico-sanitárias de obtenção do leite, visando ofertar produtos de melhor qualidade aos consumidores. Ficou estabelecido o teor de gordura, proteína total e extrato seco desengordurado (ESD) mínimo de 3,0%, 2,9% e 8,4%, respectivamente. A contagem de células somáticas (CCS) e contagem bacteriana total (CBT) de no máximo 750 mil CS/mL e 750 mil UFC/mL, respectivamente, no período de julho de 2008 a julho de 2011.

A estocagem do leite *in natura* na propriedade rural deve ser abaixo de 7ºC por até 48 horas. Esses cuidados são necessários, pois no leite mantido sob refrigeração, ocorre o desenvolvimento de microrganismos psicrotróficos, capazes de produzir proteases e lipases termorresistentes.

O armazenamento do leite em tanques de expansão por mais de 48 horas tem sido observado em algumas propriedades da região Sudoeste do estado de Goiás, este fato está relacionado à capacidade de estocagem dos tanques que permite o acondicionamento do leite de quatro ordenhas pelo menos, reduzindo os custos com o transporte, tanto para os produtores, como para a indústria.

Diante do exposto o objetivo do presente estudo foi avaliar as características físico-químicas e microbiológicas do leite cru refrigerado remontado estocado por zero, 24, 48 e 72 horas em propriedades rurais do Sudoeste Goiano, nos períodos chuvoso e seco de 2008, e comparar os

resultados obtidos com os valores estabelecidos pela legislação brasileira.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Coleta das amostras

A pesquisa foi realizada durante dois períodos distintos do ano. No primeiro período, considerado como época das chuvas, as amostras de leite cru refrigerado foram coletadas de 17 de janeiro a 07 de fevereiro de 2008. Durante a época seca, as amostras foram coletadas de 09 a 24 de julho de 2008, sendo considerado o segundo período.

As amostras foram coletadas de produtores rurais fornecedores de leite cru refrigerado a uma indústria de laticínios localizada na região do Cerrado Goiano. A indústria recebia e processava aproximadamente, 50 mil litros/dia no período chuvoso e aproximadamente 30 mil litros/dia no período seco. A empresa possuía fornecedores de leite integrados a um programa de coleta granelizada. Os tanques de expansão possuíam capacidade de armazenamento de aproximadamente 1.000 litros cada.

As análises eletrônicas (CCS, CBT e composição centesimal) foram realizadas no Laboratório de Qualidade do Leite (LQL/EV/UFG) do Centro de Pesquisa em Alimentos da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Goiás. As análises microbiológicas e de acidez titulável foram realizadas nos Laboratórios da Unidade de Agroindústria do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – Campus Rio Verde – GO (IFET GOIANO – Campus Rio Verde).

As amostras de leite cru refrigerado foram coletadas de tanques de expansão de produtores individuais onde o leite cru refrigerado permanecia estocado por um período de até 72 horas na propriedade rural. Foram coletadas amostras em sete propriedades rurais nos períodos chuvoso e sete propriedades rurais no período seco, com zero, 24, 48 e 72 horas de armazenamento nos tanques de expansão, o que foi caracterizado como leite cru refrigerado composto de quatro ordenhas ou mais.

Das sete propriedades rurais, em cinco a ordenha era realizada manualmente e em duas a ordenha era mecânica. Não foi observado nenhum tipo de tratamento da água de abastecimento, e a pastagem era constituída de

Brachiaria.

A coleta das amostras de leite cru refrigerado era realizada após o resfriamento de pelo menos duas horas no tanque de expansão, perfazendo um total de 28 amostras por período. As propriedades que subsidiaram as coletas foram as mesmas nos dois períodos avaliados. Foram avaliadas propriedades consolidadas no programa de coleta granelizada para que não houvesse desistência dos produtores durante o período da pesquisa. A temperatura (ºC) do leite foi medida no momento da coleta das amostras.

Para a avaliação da contagem de microrganismos psicrotróficos e acidez titulável as amostras foram coletadas em condições assépticas, com o uso de coletor de aço inoxidável e armazenadas em frascos de cor âmbar (± 250 mL). Para a avaliação da CCS e composição centesimal as amostras foram coletadas diretamente em frascos contendo pastilha com conservante Bronopol. A coleta das amostras para a CBT foi realizada diretamente em frascos esterilizados contendo conservante Azidiol. Em seguida as amostras eram acondicionadas em caixa isotérmica contendo gelo e encaminhadas para serem analisadas (LQL/UFG e IFET GOIANO – Campus Rio Verde).

2.2 Contagem de microrganismos psicrotróficos

Para avaliar a qualidade microbiológica do leite cru refrigerado estocado por até 72 horas, em diferentes períodos do ano foram realizadas as análises de microrganismos psicrotróficos, psicrotróficos proteolíticos e *Pseudomonas* spp.

2.2.1 Contagem de microrganismos psicrotróficos

A diluição da amostra foi preparada pipetando-se, assepticamente, 25 mL da amostra, para um frasco tipo Erlenmeyer, contendo 225 mL de água peptonada 0,1% (diluição 10^{-1}). A partir desta diluição, foram preparadas diluições decimais até 10^{-6}, empregando-se o mesmo diluente. Foi adicionado 1 mL das diluições em placas de Petri (15x100) esterilizadas, em duplicata, e adicionados de 15 a 17 mL de ágar padrão para contagem fundido e resfriado a 45ºC e homogeneizada (APHA, 2001). Após a solidificação do ágar em temperatura

ambiente, as placas foram incubadas invertidas a 7ºC/10 dias (MARSHALL,1992). As contagens foram realizadas em contador de colônias, em placas que continham entre 25 a 250 colônias. Para calcular o número de unidades formadores de colônia (UFC)/mL, foi multiplicado o número de colônias, em cada placa, pelo inverso da diluição inoculada.

2.2.2 Contagem de microrganismos psicrotróficos proteolíticos

As diluições decimais foram preparadas conforme o descrito para a contagem de microrganismos psicrotróficos (2.2.1). Após as diluições decimais, foi adicionado 1 mL de cada diluição em placas de Petri esterilizadas e adicionados de 15 a 17 mL de ágar leite (agar padrão acrescido de 10% de leite em pó desnatado reconstituído a 10%) preparado recentemente, fundido e resfriado a 45ºC. As placas foram incubadas a 21ºC/72 horas (MARSHALL, 1992).

As colônias de microrganismos psicrotróficos proteolíticos apresentaram-se rodeadas por uma zona clara como resultado da conversão da caseína em compostos nitrogenados solúveis. Como o meio é opaco, utilizou-se um precipitante químico (ácido acético a 10%) para detectar a proteólise, e assim confirmar se as zonas claras eram causadas por proteólise ou pela formação de ácidos devido à fermentação de carboidratos. Efetuou-se a contagem de colônias que possuíam halo transparente ao redor e calculou-se o número de UFC/mL.

2.2.3 Contagem de *Pseudomonas* spp.

As diluições decimais foram preparadas conforme o descrito para a contagem de microrganismos psicrotróficos (2.2.1).

Após a realização das diluições decimais, foi adicionado 0,1 mL das diluições em placas de Petri esterilizadas e adicionados de 15 a 17 mL de *Pseudomonas* Agar Base com 5 mL de glicerol. As amostras foram inoculadas no meio de cultura, espalhadas com alça de Drigalski, sendo imediatamente incubadas a temperatura de 28ºC por 48 horas. Ao fim desse período, realizou-se a leitura e interpretação (KING et al., 1954). Os resultados foram expressos em

UFC/mL.

2.3 Análises físico-químicas

2.3.1 Acidez titulável

Foram transferidos 10 mL de leite para um béquer de 250 mL. Em seguida foram adicionadas três gotas de solução de fenolftaleína a 1%. A titulação foi realizada com solução de hidróxido de sódio 0,1 N, até aparecimento de coloração rósea persistente por aproximadamente 30 segundos (BRASIL, 2006). Os resultados foram expressos em gramas (g) de ácido lático/100 mL.

2.3.2 Composição centesimal

Os teores de gordura, proteína, lactose, extrato seco total (EST) e (ESD) foram determinados através do princípio analítico que baseia-se 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 40ºC por 15 minutos para dissolução da gordura. Os resultados foram expressos em porcentagem (%).

2.4 Contagem de células somáticas

A análise de células somáticas (CS), cujo princípio analítico baseia-se na citometria de fluxo foi realizada através do equipamento Fossomatic 5000 Basic (Foss Electric A/S. Hillerod, Denmark). Antes da análise, as amostras foram previamente aquecidas em banho-maria à temperatura de 40ºC por 15 minutos para dissolução da gordura. O resultado foi expresso em CS/mL.

2.5 Contagem bacteriana total

A contagem bacteriana total (CBT) foi realizada por meio do

equipamento Bactoscan FC (Foss Eletric A/S. Hillerod, Denmark), cujo princípio de análise baseia-se 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.

2.6 Análises Estatísticas

Os dados foram submetidos à análise de variância, sendo os fatores analisados: período (chuvoso ou seco), tipo de ordenha (manual ou mecânica) e tempo de estocagem (zero, 24, 48 e 72 horas). O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado com período, tipo de ordenha e tempo de estocagem em arranjo fatorial 2 x 2 x 4.

Cada variável foi modelada conforme a seguir: $Y_{ijkl} = \mu + P_i + O_j + T_k + PO_{ij} + PT_{ik} + OT_{jk} + POT_{ijk} + e_{ijkl}$. Onde Y_{ijkl} é o valor das variáveis estudadas no período P_i na ordenha O_j no tempo T_k e na repetição l. O símbolo μ é a média geral, e_{ijkl} é o erro associado a média Y_{ijkl}. A comparação do período e do tipo de ordenha foi realizada por meio do teste F da análise de variância, pois estes fatores eram constituídos de dois níveis (Período = Seco ou Chuvoso, Ordenha = Manual ou Mecânica). Os tempos de estocagem foram analisados por meio de modelos de regressão. Para atender as pressuposições da análise de variância a contagem de psicrotróficos, psicrotróficos proteolíticos, *Pseudomonas* spp., CCS e CBT foram transformadas por meio do logaritmo na base 10. As análises estatísticas foram realizadas por meio do Software SISVAR (FERREIRA, 2003).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 1 podem ser vistos os resultados médios da temperatura, acidez titulável, gordura, proteína, lactose, EST, ESD, CCS, CBT, psicrotróficos, psicrotróficos proteolíticos, *Pseudomonas* spp., e análise de contraste do leite cru refrigerado obtido na região Sudoeste do estado de Goiás, durante os períodos chuvoso e seco de 2008.

Na Tabela 2 são apresentados os resultados da composição físico-química e microbiológica do leite cru refrigerado obtido em propriedades rurais do Sudoeste Goiano nos períodos chuvoso e seco de 2008.

Na Tabela 3 são apresentados os resultados das variáveis distribuídas entre os períodos do ano e tipos de ordenha.

Os valores médios da temperatura do leite cru refrigerado não diferiram ($p>0,05$) na interação entre o período do ano com o tipo de ordenha (Tabela 2). Os resultados diferiram durante os períodos do ano ($p=0,05$) e tempo de estocagem ($p\leq0,05$). No período chuvoso (Tabela 3) a temperatura foi mais elevada (8,71ºC), que no período seco (4,21ºC), para os tipos de ordenha as temperaturas não diferiram ($p>0,05$).

A temperatura de estocagem do leite cru refrigerado foi mais elevada no período chuvoso. Como nesse período o volume de leite era maior, conseqüentemente, foram registradas temperaturas mais elevadas no momento da coleta das amostras, devido à necessidade de maior tempo para a refrigeração do leite. Entretanto BRASIL (2002) recomenda que a temperatura de armazenamento do leite seja abaixo de 7ºC, dentro de três horas após a ordenha, independente do volume de leite ordenhado, desta forma os laticínios deverão ter atenção especial neste período, afim de que o resfriamento ocorra o mais rápido possível.

Embora a temperatura adequada para a refrigeração do leite *in natura* seja abaixo de 7ºC, a mesma legislação (BRASIL, 2002) recomenda como ideal a temperatura de 4ºC. FONSECA & SANTOS (2000) relataram que a temperatura de refrigeração de cinco a 10ºC, contribui para a multiplicação de microrganismos psicrotróficos.

TABELA 1 – Resultados médios da temperatura (temp.), acidez titulável* (ac.), gordura (gord.), proteína (prot.), lactose (lac.), EST, ESD, CCS**, CBT***, psicrotróficos*** (psicro.), psicrotróficos proteolíticos*** (proteo.), *Pseudomonas* spp.***, e análise de contraste do leite cru refrigerado obtido no Sudoeste Goiano.

Fonte de Variação		Temp. (ºC)	Ac.	Gord. (%)	Prot. (%)	Lac. (%)	EST (%)	ESD (%)	CCS	CBT	Psicro.	Proteo.	Pseudo.
Período	Chuvoso	8,71	0,159	3,67	3,25	4,46	12,39	8,72	$2,9x10^5$	$2,3x10^5$	$3,0x10^5$	$1,5x10^5$	$4,7x10^4$
	Seco	4,21	0,169	4,05	3,32	4,61	12,98	8,93	$4,9x10^5$	$1,9x10^6$	$2,7x10^5$	$6,7x10^4$	$6,8x10^3$
Tempo de estocagem (horas)	0	13,33	0,160	3,96	3,27	4,52	12,75	8,79	$3,9x10^5$	$2,4x10^5$	$4,5x10^4$	$3,7x10^4$	$1,8x10^4$
	24	4,21	0,170	3,82	3,30	4,57	12,69	8,87	$3,8x10^5$	$1,0x10^6$	$3,1x10^5$	$5,5x10^4$	$2,6x10^4$
	48	4,97	0,160	3,82	3,30	4,55	12,68	8,85	$3,8x10^5$	$1,8x10^6$	$3,6x10^5$	$1,1x10^5$	$1,1x10^4$
	72	3,33	0,160	3,85	3,27	4,50	12,61	8,77	$3,9x10^5$	$1,1x10^6$	$4,1x10^5$	$2,2x10^5$	$5,0x10^4$
Ordenha	Manual	6,26	0,166	4,00	3,27	4,57	12,84	8,84	$2,9x10^5$	$2,9x10^5$	$3,1x10^5$	$1,2x10^5$	$1,9x10^4$
	Mecânica	6,98	0,161	3,52	3,35	4,45	12,29	8,77	$6,6x10^5$	$3,0x10^6$	$2,2x10^5$	$8,3x10^4$	$4,6x10^4$
CV (%)		**114,10**	**7,59**	**13,26**	**7,10**	**2,63**	**5,40**	**3,27**	**4,41**	**13,93**	**20,23**	**14,24**	**84,53**

Análise de Contraste

Fonte de Variação	Temp.	Ac.	Gord.	Prot.	Lac.	EST	ESD	CCS	CBT	Psicro.	Proteo.	Pseudo.
Período x tempo	Ns	Ns	Ns	Ns	Ns	Ns	Ns	Ns	Ns	Ns	Ns	Ns
Tempo x ordenha	Ns	Ns	Ns	Ns	0,0007	Ns	Ns	0,0426	0,0215	Ns	Ns	Ns
Período x ordenha	Ns	Ns	Ns	Ns	Ns	Ns	Ns	Ns	Ns	Ns	Ns	Ns
Período x tempo x ordenha	Ns	Ns	Ns	Ns	Ns	Ns	Ns	Ns	Ns	Ns	Ns	Ns

* Resultados expressos em g de ácido lático/100 mL de leite, ** Resultados expressos em CS/mL *** Resultados expressos em UFC/mL.

TABELA 2 – Valores médios da temperatura, acidez titulável, gordura, proteína, lactose, EST, ESD, CCS, CBT, psicrotróficos, psicrotróficos proteolíticos e *Pseudomonas* spp., do leite cru refrigerado obtido no Sudoeste Goiano nos períodos chuvoso e seco de 2008.

Parâmetros	Tipo de ordenha	Período do ano	
		Chuvoso	Seco
Temperatura (ºC)	Manual	7,75 ns	4,76 ns
	Mecânica	11,13 ns	2,83 ns
Acidez titulável (g de ácido lático/100 mL)	Manual	0,161 ns	0,168 ns
	Mecânica	0,156 ns	0,162 ns
Gordura (%)	Manual	3,84 ns	4,16 ns
	Mecânica	3,26 ns	3,78 ns
Proteína (%)	Manual	3,24 ns	3,29 ns
	Mecânica	3,29 ns	3,40 ns
Lactose (%)	Manual	4,53 Ba	4,61 Aa
	Mecânica	4,28 Bb	4,62 Aa
EST (%)	Manual	12,63 ns	13,06 ns
	Mecânica	11,80 ns	12,77 ns
ESD (%)	Manual	8,79 ns	8,90 ns
	Mecânica	8,55 ns	8,99 ns
CCS (CS/mL)	Manual	$1,7 \times 10^5$ Bb	$4,0 \times 10^5$ Ab
	Mecânica	$6,1 \times 10^5$ Aa	$7,0 \times 10^5$ Aa
CBT (UFC/mL)	Manual	$2,4 \times 10^5$ Aa	$3,4 \times 10^5$ Ab
	Mecânica	$1,9 \times 10^5$ Ba	$5,8 \times 10^6$ Aa
Psicrotróficos (UFC/mL)	Manual	$3,9 \times 10^5$ ns	$2,3 \times 10^5$ ns
	Mecânica	$6,8 \times 10^4$ ns	$3,6 \times 10^5$ ns
Proteolíticos (UFC/mL)	Manual	$1,7 \times 10^5$ ns	$6,6 \times 10^4$ ns
	Mecânica	$9,8 \times 10^4$ ns	$6,9 \times 10^4$ ns
Pseudomonas spp. (UFC/mL)	Manual	$3,7 \times 10^4$ ns	$1,5 \times 10^3$ ns
	Mecânica	$7,2 \times 10^4$ ns	$2,0 \times 10^4$ ns

Médias seguidas de letras distintas, maiúsculas na linha e minúsculas na coluna, diferem entre si pelo teste de Tukey ($p<0,05$).

O resfriamento imediatamente após a ordenha é determinante para a obtenção de leite com baixa CBT, pois a falta de refrigeração favorecerá o crescimento de microrganismos mesofílicos, enquanto que sob refrigeração adequada poderá ocorrer o desenvolvimento de microrganismos psicrotróficos. Esse grupo de microrganismos é formado por diversos gêneros bacterianos, com predominância do gênero *Pseudomonas*, que em sua maioria produz proteases e/ou lipases a temperaturas de refrigeração (ARCURI et al., 2008). MARTINS et

al. (2004) afirmaram que mesmo nas temperaturas de refrigeração propostas pela legislação para a conservação do leite pode ocorrer perda de qualidade da matéria-prima se um controle efetivo da contaminação inicial não for realizado.

TABELA 3 – Valores médios dos parâmetros de qualidade do leite cru refrigerado obtido no Sudoeste Goiano nos períodos chuvoso e seco de 2008, através de ordenha manual e mecânica.

Parâmetros	Período do ano		Tipo de ordenha	
	Chuvoso	Seco	Manual	Mecânica
Temperatura (ºC)	8,71 A	4,21 B	6,26 ns	6,98 ns
Acidez titulável (g ácido lático/100 mL)	0,159 ns	0,169 ns	0,166 ns	0,161 ns
Gordura (%)	3,67 B	4,05 A	4,00 a	3,52 b
Proteína (%)	3,25 ns	3,32 ns	3,27 ns	3,35 ns
Lactose (%)	4,46 B	4,61 A	4,57 a	4,45 b
EST (%)	12,39 B	12,98 A	12,84 a	12,29 b
ESD (%)	8,72 B	8,93 A	8,84 ns	8,77 ns
CCS (CS/mL)	$2,9 \times 10^5$ B	$4,9 \times 10^5$ A	$2,9 \times 10^5$ b	$6,6 \times 10^5$ a
CBT (UFC/mL)	$2,3 \times 10^5$ ns	$1,9 \times 10^6$ ns	$2,9 \times 10^5$ b	$3,0 \times 10^6$ a
Psicrotróficos (UFC/mL)	$3,0 \times 10^5$ A	$2,7 \times 10^5$ B	$3,1 \times 10^5$ ns	$2,2 \times 10^5$ ns
Proteolíticos (UFC/mL)	$1,5 \times 10^5$ ns	$6,7 \times 10^4$ ns	$1,2 \times 10^5$ ns	$8,3 \times 10^4$ ns
Pseudomonas spp. (UFC/mL)	$4,7 \times 10^4$ A	$6,8 \times 10^3$ B	$1,9 \times 10^4$ b	$4,6 \times 10^4$ a

Médias seguidas de letras distintas, maiúsculas (período do ano) ou minúsculas (tipo de ordenha) na linha diferem entre si pelo teste de Tukey ($p<0,05$). ns = não significativo.

Os tanques de expansão avaliados no presente estudo eram individuais. Os tanques coletivos são mais preocupantes, pois no estudo realizado por PINTO et al. (2006) foi observado que a temperatura de refrigeração abaixo de 4ºC foi registrada principalmente em tanques individuais (39,4%). Em 58,3% das amostras coletadas em tanques coletivos, foram observadas temperaturas entre 4ºC e 7ºC e, em 16,7% das amostras, a temperatura foi superior a 10ºC.

Na Figura 1, podem ser observadas as curvas de regressão e as equações da temperatura do leite cru refrigerado em função do tempo de armazenamento.

Houve uma diminuição da temperatura de estocagem do leite cru refrigerado à medida que o tempo de armazenamento avançou de zero para 72 horas, tanto no período chuvoso (R^2 = 92,24%) quanto no período seco (R^2 = 80,43%). LORENZETTI (2006), observou que durante a estocagem do leite, a

contagem de microrganismos psicrotróficos aumentou mesmo com o leite sob temperatura de refrigeração, recomendando-se o menor tempo possível de estocagem para a matéria-prima.

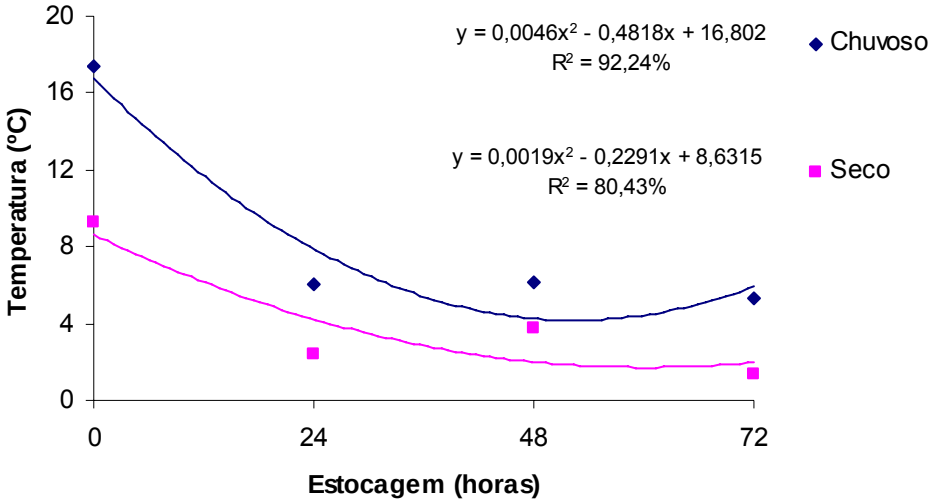


FIGURA 1 – Curvas de regressão da temperatura do leite cru refrigerado em função do tempo de estocagem.

Os resultados médios da acidez titulável (Tabela 2) não diferiram ($p>0,05$) entre a interação período do ano e tipo de ordenha. Nos períodos chuvoso e seco (Tabela 3) os resultados médios da acidez titulável foram de 0,159 e 0,169 g de ácido lático/100 mL de leite. Quanto aos tipos de ordenha (Tabela 2) os resultados foram de 0,166 e 0,161 g de ácido lático/100 mL de leite, para ordenha manual e mecânica, respectivamente.

Embora os resultados da acidez titulável não tenham apresentado diferença significativa ($p>0,05$), foi observado no período seco um valor médio de 0,169 g de ácido lático/100 mL, resultado esse muito próximo ao limite máximo estabelecido por BRASIL (2002), para o recebimento do leite cru refrigerado.

Os resultados da acidez titulável demonstraram-se de acordo com a legislação brasileira que recomenda o recebimento de leite cru refrigerado com acidez variando de 0,14 a 0,18 g de ácido lático/100 mL de leite. Resultados semelhantes foram observados por MARTINS et al. (2006), que obtiveram média de 16ºD para o mês de março (período chuvoso) e 15,5ºD para o mês de julho (período seco), entretanto, esses resultados foram obtidos em pesquisa realizada no sul do país.

O teor de gordura do leite cru refrigerado não diferiu ($p>0,05$) entre a

interação do período do ano com o tipo de ordenha (Tabela 2). Os resultados diferiram entre os períodos do ano ($p \leq 0,05$) e tipos de ordenha ($p \leq 0,05$). No período seco o teor de gordura foi de 4,05%, no período chuvoso a média obtida foi de 3,67%. Quando a ordenha foi realizada manualmente o teor de gordura foi de 4,0% e 3,52% para o leite ordenhado mecanicamente. Os resultados obtidos no presente estudo estão acima do valor recomendado por BRASIL (2002) que admite o recebimento de leite cru refrigerado com o mínimo de 3,0% de gordura.

A elevação do teor de gordura no período seco foi relacionado ao maior fornecimento de fibra ao gado de leite, a dieta nesse período era constituída de pastagens de *Brachiaria* e em alguns casos os animais eram suplementados com cana de açúcar triturada. LAMMERS et al. (1996) observaram que a redução do teor de fibra na dieta diminuiu o teor de gordura do leite.

O maior teor de gordura no período seco também pode ser relacionado à incidência de mastite no rebanho, visto que nesse período houve uma maior CCS (Tabela 3). PEREIRA et al. (1999) observaram maior concentração de gordura no leite de vacas com mastite. BUENO et al (2005) 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 conseqüência da inibição da síntese na glândula mamária.

No presente estudo a porcentagem de gordura foi mais elevada no leite ordenhado manualmente, entretanto, REIS et al. (2007) encontraram menor teor de gordura no leite submetido ao método de coleta manual em relação ao obtido por ordenha mecânica. Porém, esses pesquisadores informaram que este resultado pode ser relacionado ao fato de que, na coleta manual, coletou-se somente amostra da porção inicial da ordenha, logo, os percentuais de gordura do leite foram menores em relação aos percentuais do leite oriundo de ordenha completa, como é o caso do presente estudo. Já MARGERISON et al. (2002) observaram uma menor concentração de gordura no leite ordenhado de vacas na presença dos bezerros, quando comparado ao leite das vacas ordenhadas sem a presença destes. O menor teor de gordura observado nas amostras da ordenha mecânica, pode ser relacionado a genética do rebanho, pois os animais com sangue predominantemente holandês produzem menor teor de gordura quando comparado às demais raças.

Os resultados da porcentagem de gordura (Tabelas 2 e 3) estão próximos ao valor observado por SANTOS (2008), que obteve média de 3,87% durante o armazenamento do leite cru refrigerado em tanques de expansão por até 72 horas na região Sudoeste do Estado de Goiás.

O teor de proteína total (Tabelas 2 e 3) do leite não diferiu ($p>0,05$) entre os períodos do ano, tipos de ordenha e na interação destes fatores. Os resultados obtidos (Tabela 3) foram de 3,25% e 3,32% no período chuvoso e seco respectivamente. Para o leite ordenhado manualmente o teor médio de proteína foi de 3,27%. Para o leite obtido através de ordenha mecânica o resultado médio foi de 3,35%. BRASIL (2002) recomenda o teor mínimo de 2,9% de proteína total para o recebimento do leite cru refrigerado pelas indústrias de laticínios.

Os resultados da proteína do presente estudo foram compatíveis com os valores observados por SANTOS (2008), que encontrou 3,23% de proteína em amostras de leite cru refrigerado. Esses resultados diferem do relatado por BUENO et al. (2005) que observaram uma diminuição do teor de proteína do leite cru refrigerado, quando a CCS aumentou de menos de 200 mil CS/mL para mais de 1 milhão de CS/mL.

O teor de lactose (Tabelas 2 e 3) diferiu entre os períodos do ano ($p\leq0,05$), tipo de ordenha ($p\leq0,05$) e na interação entre período do ano versus tipo de ordenha ($p=0,0007$). No período chuvoso foram observados valores médios de lactose de 4,53% e 4,28%, para ordenha manual e mecânica respectivamente. No período seco os resultados não diferiram ($p>0,05$) entre a ordenha manual (4,61%) e mecânica (4,62%). Na Tabela 3 pode ser observado que o teor de lactose foi mais elevado durante o período seco e no leite ordenhado manualmente do que o leite obtido no período chuvoso e ordenhado através de ordenha mecânica.

Os resultados médios de lactose da presente pesquisa ficaram próximos do valor obtido por SANTOS (2008), que foi de 4,40% de lactose e NORO et al. (2006) relataram média de 4,46% (período chuvoso) e 4,55% (período seco). Os resultados de lactose do presente estudo foram mais elevados no período seco, quando foi observada uma maior CCS, entretanto, resultados diferentes foram verificados por BUENO et al. (2005) que informaram uma redução do teor de lactose de 4,60% para 4,36% a medida que a CCS aumentou.

Os resultados do EST diferiram entre os períodos do ano (p=0,0028) e tipo de ordenha (p≤0,05). No período seco (12,98%) o EST foi mais elevado que no período chuvoso (12,39%). Entre as ordenhas manual e mecânica os resultados foram de 12,84% e 12,29% respectivamente. A maior porcentagem de gordura e lactose do período seco no leite obtido manualmente foi responsável por essas diferenças significativas.

A maior CCS observada no período seco (Tabela 3) não influenciou os resultados dos sólidos totais e BUENO et al. (2005), observaram uma diminuição no EST do leite cru refrigerado em função do aumento da CCS, houve uma redução de 12,61% para 12,20%.

Os resultados do EST observados nesta pesquisa foram maiores que os resultados obtidos por GONZALEZ et al. (2004), que relataram média de 12,08% no período chuvoso e 12,04% no período seco e MARTINS et al. (2006), que obtiveram média de 11,41% no período chuvoso e 11,24% no período seco, entretanto esses pesquisadores observaram maior EST no período chuvoso.

Os valores do ESD diferiram entre os períodos do ano (p≤0,05). Pode se observar na Tabela 2 que no período seco (8,93%) o ESD foi maior que no período chuvoso (8,72%). O maior teor de lactose do período seco e o teor de proteína ligeiramente maior foram responsáveis pelo aumento do ESD nesse período.

Os resultados do ESD observados nos períodos chuvoso e seco de 2008 foram maiores do que o valor de 8,63% relatado por SANTOS (2008) e maiores que os resultados amostrados por GONZALEZ et al. (2004), que foram de 8,39% (período chuvoso) e 8,42% (período seco) e MARTINS et al. (2006) que obtiveram média de 8,3% (período chuvoso) e 8,0% (período seco).

Em 100% das amostras avaliadas nos dois períodos do ano, os resultados da composição físico-química ficaram dentro dos limites estabelecidos por BRASIL (2002) para o recebimento do leite cru refrigerado. Resultados diferentes dos obtidos nesta pesquisa foram observados em sistemas de produção na região Sul do Rio Grande do Sul, ZANELA et al. (2006) relataram que apenas 41,8% das amostras de leite se enquadraram nos limites estabelecidos pela IN 51, e que os padrões de composição química do leite estabelecidos por esta Instrução Normativa deveriam ser revistos, considerando-

se as variações regionais.

Vale ressaltar que não houve diferença significativa ($p>0,05$) dos parâmetros físico-químicos do leite cru refrigerado durante o tempo de armazenamento por até 72 horas, ou seja, não ocorreu alteração dos parâmetros avaliados em função do tempo de estocagem. Esses resultados são conflitantes, pois a legislação brasileira permite a coleta de leite cru refrigerado com no máximo 48 horas de armazenamento nos tanques de expansão. Entretanto, devem ser vistos os resultados da CBT para que se possa afirmar que o leite pode permanecer na propriedade rural por até 72 horas.

Não é recomendado pela legislação brasileira o armazenamento do leite cru refrigerado por um período maior que 48 horas, entretanto, observou-se no presente estudo que tanto pequenas indústrias, quanto indústrias de maior porte coletavam o leite cru refrigerado com mais de 48 horas de armazenamento no tanque de expansão. Essa prática ocorre devido à redução dos custos com transporte, tanto para a indústria, como para o produtor, pois permite a coleta de maior volume de leite na propriedade rural devido ao maior tempo de armazenamento.

Os valores da CCS diferiram na interação (Tabela 2) entre os períodos do ano *versus* o tipo de ordenha ($p<0,05$) e durante o período do ano ($p<0,05$) e tipo de ordenha ($p<0,05$) isoladamente. De acordo com a Tabela 3, os resultados médios da CCS foram mais elevados no período seco ($4,89 \times 10^5$ CS/mL), sendo que no período chuvoso a CCS foi de $2,94 \times 10^5$ CS/mL. No leite ordenhado mecanicamente ($6,58 \times 10^5$ CS/mL) os resultados médios da CCS foram maiores que no leite obtido através da ordenha manual ($2,85 \times 10^5$ CS/mL).

Nas amostras avaliadas por BUENO et al. (2005) observou-se que a CCS foi maior no período seco, o que corrobora com os resultados obtidos no presente estudo. A maior CCS no leite obtido através de ordenha mecânica pode estar relacionada ao mau uso dos utensílios e equipamentos de ordenha e à falta de higienização dos tetos antes e após a ordenha, refletindo de maneira expressiva na ocorrência de mastite nos rebanhos.

A CCS do presente estudo está abaixo do limite estabelecido por BRASIL (2002) para o recebimento do leite cru refrigerado que é de 750 mil CS/mL, entretanto os resultados são preocupantes, pois evidenciaram uma alta

incidência de mastite sub-clínica nos rebanhos avaliados. A elevada CCS no tanque de expansão pode sinalizar perda de produção de leite, sendo que a baixa CCS no tanque de expansão é um indicativo de bom estado sanitário da glândula mamária. De acordo com MACHADO et al. (2000), as células somáticas são células de defesa do organismo, que migram do sangue para o interior da glândula mamária com o objetivo de combater agentes agressores, mas podem ser células secretoras descamadas.

Os resultados da CCS obtidos no presente estudo foram semelhantes aos valores descritos por MACHADO et al. (2000) ao avaliarem a qualidade do leite estocado em tanques de expansão em algumas regiões do país, esses pesquisadores obtiveram média de 641 mil CS/mL.

A maior CCS obtida no período seco pode estar relacionada às observações realizadas por HARMON (1994) e PHILPOT & NICKERSON (2002), que relataram que a CCS pode aumentar nos meses mais quentes do ano em decorrência da menor produção de leite e conseqüente concentração das células somáticas.

Das sete propriedades avaliadas nesta pesquisa cinco ordenhavam o leite manualmente e apenas duas realizavam a ordenha mecanicamente. De acordo com ZANELA et al. (2006), a maior especialização dos sistemas resulta em maior produção de leite por animal e menor CCS, entretanto, no presente estudo quando o leite foi ordenhado mecanicamente os resultados da CCS foram mais elevados.

A CBT diferiu entre os tipos de ordenha ($p \leq 0,05$) e na interação entre os períodos do ano versus os tipos de ordenha ($p \leq 0,05$). No período chuvoso e seco a CBT não diferiu ($p > 0,05$) quando a ordenha era realizada manualmente, no entanto, para o leite ordenhado mecanicamente a CBT foi mais elevada no período seco ($5,8 \times 10^6$ UFC/mL) do que no período chuvoso ($1,9 \times 10^5$ UFC/mL). No período chuvoso os valores da CBT não diferiram ($p > 0,05$) entre os tipos de ordenha, no período seco a CBT foi maior no leite ordenhado mecanicamente ($5,8 \times 10^6$ UFC/mL), no leite ordenhado manualmente a CBT foi de $3,4 \times 10^5$ UFC/mL. Para os tipos de ordenha os resultados foram de 3×10^6 UFC/mL no leite obtido através de ordenha mecânica e $2,9 \times 10^5$ UFC/mL no leite ordenhado manualmente.

A legislação brasileira estabelece através da IN 51 que o leite cru refrigerado não deve exceder o limite de 750 mil UFC/mL, no período entre julho de 2008 a julho de 2011, nas regiões Centro-Oeste, Sudeste e Sul. Os resultados da CBT obtidos no presente estudo ficaram acima do permitido pela IN 51 no leite ordenhado mecanicamente durante o período seco de 2008, isso pode ser relacionado a falta de higiene por parte dos manipuladores.

Os resultados da CBT não diferiram ($p>0,05$) durante o tempo de estocagem do leite cru refrigerado, porém vale ressaltar a importância desses valores no estabelecimento do tempo de estocagem do leite na fonte de produção. No período chuvoso, durante a estocagem do leite por até 72 horas os valores da CBT não ultrapassaram o limite estabelecido pela IN 51, foi possível observar uma contagem de $4,2 \times 10^5$ UFC/mL, no período seco a partir das 24 horas de armazenamento, o leite cru refrigerado já apresentava uma CBT de $2,0 \times 10^6$ UFC/mL. Os resultados, indicam que dependendo das condições de obtenção e manutenção do leite cru refrigerado na propriedade rural, a coleta a granel deveria ser realizada diariamente, enquanto que a legislação brasileira estabelece o armazenamento de até 48 horas.

Os valores médios da CBT do presente estudo estão de acordo com SANTOS (2008), que observou uma CBT de $4,3 \times 10^6$ UFC/mL às 72 horas de estocagem, entretanto, os resultados obtidos por essa pesquisadora evidenciaram que nas primeiras horas de estocagem do leite cru refrigerado a CBT ultrapassava o limite máximo estabelecido pela IN 51.

Os valores da CBT obtidos nesta pesquisa estão relacionados ao estudo realizado por SILVEIRA et al. (2000), que relataram que a carga microbiana presente no leite *in natura* tem influência das estações do ano, das práticas de produção e manuseio na propriedade rural, localização geográfica, temperatura de permanência do leite e distância do transporte entre a propriedade rural e o local de beneficiamento.

A avaliação da CBT no estado de Goiás merece atenção por parte dos órgãos responsáveis pela fiscalização do leite cru refrigerado. MESQUITA et al. (2006) observaram na região Centro-Oeste que 40% das amostras analisadas apresentaram valores inferiores a 100 mil UFC/mL, 71% abaixo de 750 mil UFC/mL e 25% acima de 1 milhão UFC/mL e relataram que o ESD e a CBT

merecem maior atenção por parte da cadeia produtiva do leite.

A contagem de psicrotróficos diferiu entre os períodos do ano ($p \leq 0,05$). No período chuvoso a contagem de psicrotróficos foi de 3,0 x 10^5 UFC/mL, enquanto no período seco a contagem foi de 2,7 x 10^5 UFC/mL. Os resultados do presente estudo ficaram abaixo dos valores encontrados por SANTOS (2008), que foram de 2,1 x 10^6 UFC/mL às 72 horas de estocagem. Resultados maiores também foram obtidos por PINTO et al. (2006), que relataram contagem de bactérias psicrotróficas variando de 2,0 x 10^2 UFC/mL a 1,0 x 10^7 UFC/mL.

Embora no período seco a CBT tenha sido mais elevada, a maior contagem de psicrotróficos foi observada no período chuvoso, demonstrando que esses microrganismos não têm uma relação direta com a microbiota total e o número de microrganismos psicrotróficos e sim com o meio ambiente.

No período chuvoso observou-se uma temperatura média de 8,71ºC, e uma contagem de Pseudomonas spp., maior que no período seco, deixando evidente que esse grupo de microrganismos se desenvolve bem em ambientes com condições higiênico-sanitárias inadequadas. Na época das chuvas a qualidade da água, as condições de higiene dos estábulos, utensílios e ordenhadores, a sanidade do rebanho, contribuíram de modo decisivo, para a maior contagem de psicrotróficos.

De acordo com FOX (1989), as bactérias psicrotróficas, não são significativas quanto à proteólise a menos que a população exceda 10^6 UFC/mL, entretanto, CROMIE (1992) relatou que os problemas aparecem quando a contagem atinge 10^7 UFC/mL. Para COUSIN (1982), os microrganismos psicrotróficos evidenciaram atividades bioquímicas mesmo em temperaturas próximas a 0ºC.

Na Figura 2, observa-se a evolução dos microrganismos psicrotróficos proteolíticos durante o tempo de estocagem do leite cru refrigerado.

Verifica-se que os microrganismos psicrotróficos proteolíticos diferiram durante o tempo de estocagem ($p \leq 0,05$). A contagem foi mais elevada durante o período chuvoso. Os resultados demonstraram um aumento significativo até as 72 horas de estocagem, tanto no período chuvoso, quanto no período seco.

Durante o período chuvoso até as 72 horas de estocagem a contagem de psicrotróficos proteolíticos foi de 4,0 x 10^5 UFC/mL, enquanto que no período

seco a contagem foi de 5,3 x 10^4 UFC/mL. As contagens maiores foram observadas a partir das 24 horas de estocagem (Figura 2).

O aumento da contagem de bactérias psicrotróficas proteolíticas observadas neste estudo pode levar ao aumento da proteólise no leite e derivados. Segundo VIDAL-MARTINS et al. (2005), durante o armazenamento do leite UAT houve aumento do índice proteolítico e da viscosidade aparente durante a estocagem, relacionado à presença de proteases produzidas por bactérias psicrotróficas contaminantes no leite cru.

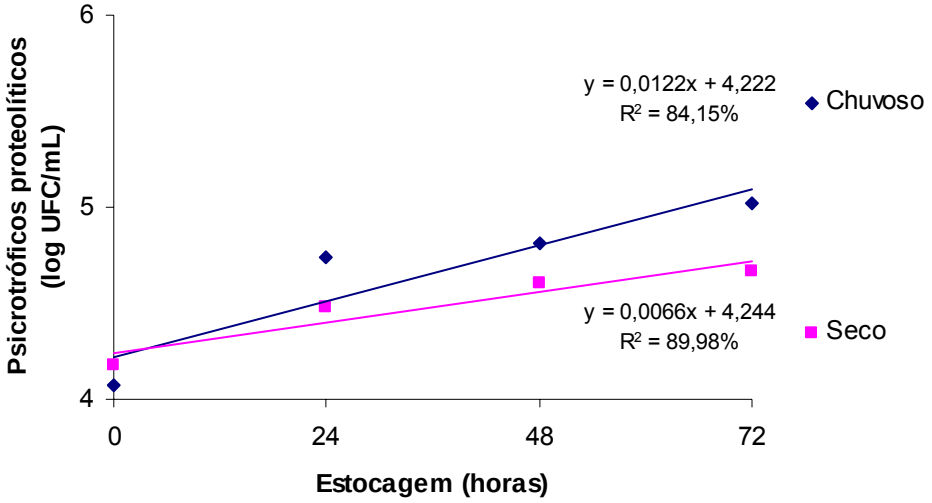


FIGURA 2 – Evolução dos microrganismos psicrotróficos proteolíticos durante o tempo de estocagem do leite cru refrigerado obtido em propriedades do Sudoeste Goiano durante os períodos chuvoso e seco de 2008.

A contagem de *Pseudomonas* spp., diferiu entre os períodos do ano ($p<0,05$) e entre os tipos de ordenha ($p\leq0,05$). No período chuvoso e seco a contagem de *Pseudomonas* spp., foi de 4,7 x 10^4 UFC/mL e 6,8 x 10^3 UFC/mL respectivamente. Quanto à ordenha mecânica e manual os resultados foram de 4,6 x 10^4 UFC/mL a 1,9 x 10^4 UFC/mL respectivamente.

Os resultados da contagem de *Pseudomonas* spp., do presente estudo foram menores que os valores obtidos por PINTO et al. (2006), que relataram uma contagem de Pseudomonas spp. variando de 1,0 x 10^1 UFC/mL a 3,8 x 10^6 UFC/mL.

Dentre os microrganismos psicrotróficos, o gênero *Pseudomonas* spp., representa o grupo de microrganismos deterioradores predominantes no leite cru refrigerado, particularmente as *Pseudomonas fluorescens*. COSTA et al. (2002)

observaram que as *Pseudomonas fluorescens* presentes no leite *in natura* armazenado a 6ºC, produziram enzimas com elevada atividade proteolítica, a partir das 72 horas de incubação e quando a contagem atingia ao redor de 10^7 UFC/mL. As proteases liberadas por bactérias proteolíticas causam impacto econômico negativo na industrialização do leite, pois atuam diretamente sobre a caseína, causando sabor amargo no leite e derivados lácteos. Já, a lipase, é responsável pelo sabor rançoso do leite devido a liberação de ácidos graxos de cadeia curta (BRITO & BRITO, 1998).

4 CONCLUSÕES

A acidez titulável e os teores de gordura, proteína, lactose, extrato seco total e extrato seco desengordurado não sofreram alterações, após a estocagem do leite cru refrigerado em tanques de expansão por até 72 horas, e os resultados obtidos ficaram dentro dos limites exigidos pela legislação brasileira. A coleta granelizada do leite cru refrigerado obtido no período seco deveria ser diária, pois a contagem bacteriana total às 24 horas de armazenamento ficou acima do limite máximo permitido pela Instrução Normativa Nº 51/2002. A maior ocorrência dos microrganismos psicrotróficos, psicrotróficos proteolíticos e *Pseudomonas* spp., durante o período chuvoso pode ser relacionada à falta de higiene na ordenha. Para que o leite cru refrigerado obtido no Sudoeste Goiano, possa atender às exigências da legislação (atual e a partir de 2011) quanto à contagem de células somáticas e contagem bacteriana total, deverão ser adotadas medidas que visem o esclarecimento dos elos da cadeia produtiva do leite sob a necessidade de produzir leite de qualidade higiênico-sanitária adequada.

5 REFERÊNCIAS

APHA – AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 4. ed. Washington: APHA, 2001, 676 p.

ARCURI, E. F.; SILVA, P. D. L.; BRITO, M. A. V. P.; BRITO, J. R. F.; LANGE, C. C.; MAGALHÃES, M. M. A. Contagem, isolamento e caracterização de bactérias psicrotróficas contaminantes de leite cru refrigerado. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 38, n. 8, 2008.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal. Instrução Normativa no 51, de 18 de setembro de 2002. Aprova e Oficializa o Regulamento técnico de identidade e qualidade de leite cru refrigerado. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, n. 172, p. 13-22, 20 set. 2002. Seção I.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Instrução Normativa nº 68, de 12 de dezembro de 2006. Oficializa os Métodos Analíticos Oficiais Físico-Químicos, para Controle de Leite e Produtos Lácteos. **Diário Oficial da União de 14/12/2006**, Seção 1, Página 8 Brasília, DF, 2006.

BRITO, J. R. F. B.; BRITO, M. A. V. P. Qualidade higiênica do leite. Juiz de Fora: **Embrapa-CNPGL-ADT**, 1998. 17p. (Documentos, 62).

BUENO, V. F. F.; MESQUITA, A. J.; NICOLAU, E. S. OLIVEIRA, A. N.; OLIVEIRA, J. P.; NEVES, R. B. S.; MANSUR, J. R. G.; THOMAZ, L. W. Contagem celular somática: relação com a composição centesimal do leite e período do ano no Estado de Goiás. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 35, n. 4, p. 848 – 854, 2005.

COSTA, L. M.; GÓMEZ, M. F.; MOLINA, L. H.; ROMERO, A. Purificación y caracterización de proteasas de Pseudomonas fluorescens y sus efectos sobre las proteínas de la leche. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, v. 52, n. 2, p. 1 – 13, 2002.

COUSIN, M. A. Presence and activity of Psychrotrophic bacteria in South East Queensland dairy produts. **The Australian Journal of Dairy Techonology**. v. 37, p. 147, 1982.

CROMIE, S. Psichorotrophs and their enzyme residues in cheese milk. **Australian Journal of Dairy Techonology**, Victoria, v. 47, n. 2, p. 96 – 100, 1992.

FERREIRA, D. F. **Sisvar**: versão 4.3 (Build 43). Lavras: Departamento de Ciências Exatas, Universidade Federal de Lavras, 2003.

FONSECA, L. F. L.; SANTOS, M. V. **Qualidade do leite e controle de mastite**: Lemos Editora, 2000. 175p.

FOX, P. F. (ed.). Developments in Dairy Chemistry – 4. Functional Milk Proteins. **Elsevier Applied Science**, Elsevier Science Publisher Ltd. London and New York, 1989.

GONZALEZ, H. L.; FISCHER, V.; RIBEIRO, M. E. R.; GOMES J. F.; STUMPF JR., W.; SILVA, M. A. Avaliação da qualidade do leite na bacia leiteira de Pelotas, RS. Efeito dos meses do ano. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 33, n. 6, p. 1531 – 1543, 2004.

HARMON, R.J. Physiology of mastitis and factors affecting somatic cell counts. **Journal of Dairy Science,** Champaign, v. 77, n. 7, p. 2103 – 2112, 1994.

KING, E. O.; WARD, M. K.; RANEY, D. E. Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorescin. **Journal of Laboratory and Clinical Medicine**, v. 44, p. 301 – 307, 1954.

LAMMERS, B. P.; BUCKMASTER, D. R.; HEINRICHS, A. J. A simple method for the analysis of particle sizes of forage and total mixed rations. **Journal of Dairy Science**, v. 79, n. 5, p. 922 – 928, 1996.

LORENZETTI, D. K. **Influência do tempo e da temperatura no desenvolvimento de microrganismos psicrotróficos no leite cru de dois estados da região sul**. 2006. 71 p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2006.

MACHADO, P. F.; PEREIRA, A. R.; SILVA, L. F. P.; SARRIÉS, G. A. Células somáticas no leite em rebanhos brasileiros. **Scientia Agrícola**, v. 57, n. 2, p. 359 – 361, 2000.

MARGERISON, J. K.; PRESTON, T. R.; PHILLIPS, C. J. C. Restricted suckling of tropical dairy cows by their own calf or others cows calves. **Journal Animal Science**, v. 80, n. 6, p. 1663 – 1670, 2002.

MARSHALL, R. T. Standard Methods for the Examination of Dairy Products. **American Public Health Association**, 16 ed, 1992.

MARTINS, M. L.; PINTO, C. L. O.; VANETTI, M. C. D.; MEZÊNCIO, J. M. S.; Detecção de Proteases Bacterianas em Leite por Métodos Imunológicos. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 59, n. 339, p. 61, 2004.

MARTINS, P. R. G.; SILVA, C. A.; FISCHER, V.; RIBEIRO, M. E. R.; STUMPF JÚNIOR, W.; ZANELA, M. B. Produção e qualidade do leite na bacia leiteira de Pelotas-RS em diferentes meses do ano. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 36, n. 1, p. 209 – 214, 2006.

MESQUITA, A. J.; NEVES, R. B. S.; COELHO, K. O.; BUENO, V. F. F.; MESQUITA, A. Q. **A qualidade do leite na região centro-oeste**. In: MESQUITA,

A. J.; DÜRR, J. W.; COELHO, K. O. Perspectivas e avanços da qualidade do leite no Brasil. Goiânia, Talento, 2006, 352 p.

NORO, G.; GONZALEZ, F. H. D.; CAMPOS, R.; DURR, J. W. Fatores ambientais que afetam a produção e a composição do leite em rebanhos assistidos por cooperativas no Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 35, n. 3, p. 1129 – 1135, 2006.

PEREIRA, A. R.; SILVA, L. F. P.; MOLON, L. K.; MACHADO, P. F.; BARANCELLI, G. Efeito do nível de células somáticas sobre os constituintes do leite I – gordura e proteína. **Brazilian Journal Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 36, n. 3, p. 429 – 433, 1999.

PHILPOT, N. W.; NICKERSON, S. C. **Vencendo a luta contra a mastite**. Piracicaba : Westfalia Surge/Westfalia Landtechnik do Brasil, 2002. 192p.

PINTO, C. L. O.; MARTINS, M. L.; VANETTI, M. C. D. Qualidade microbiológica de leite cru refrigerado e isolamento de bactérias psicrotróficas proteolíticas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 26, n. 3, p. 645 – 651, 2006.

REIS, G. L.; ALVES, A. A.; LANA, A. M. Q.; COELHO, S. G.; SOUZA, M. R.; CERQUEIRA, M. M. O. P.; PENNA, C. F. A. M.; MENDES, E. D. M. Procedimentos de coleta de leite cru individual e sua relação com a composição físico-química e a contagem de células somáticas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 37, n. 4, 2007.

SANTOS, P. A. **Avaliação do leite cru refrigerado produzido na região sudoeste do estado de Goiás estocado por diferentes períodos**. 2008. 50 p. Tese (Doutorado em Ciência Animal) – Universidade Federal de Goiás, Goiânia – GO, 2008.

SILVEIRA, I. A.; CARVALHO, E. P.; TEIXEIRA, D. Influência de microrganismos psicrotróficos sobre a qualidade do leite cru refrigerado. Uma revisão. **Higiene Alimentar**, v. 12, n. 55, p. 21 – 27, 2000.

VIDAL-MARTINS, A. M. C.; SALOTTI, B. M.; ROSSI JUNIOR, O. D.; PENNA, A. L. B. Evolução do índice proteolítico e do comportamento reológico durante a vida de prateleira de leite UAT/UHT. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 25, n. 4, p. 698 – 704, 2005.

ZANELA, M. B.; FISCHER, V.; RIBEIRO, M. E. R.; STUMPF JUNIOR, W.; ZANELA, C.; MARQUES, L. T.; MARTINS, P. R. G. Qualidade do leite em sistemas de produção na região Sul do Rio Grande do Sul. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, 2006, v. 41, n. 1, p. 153 – 159, 2006.

CAPÍTULO 3 – INFLUÊNCIA DO TRANSPORTE NA COMPOSIÇÃO CENTESIMAL, CONTAGEM DE CÉLULAS SOMÁTICAS E CONTAGEM BACTERIANA TOTAL DO LEITE CRU REFRIGERADO OBTIDO NO SUDOESTE GOIANO

RESUMO

O estudo objetivou avaliar a influência do transporte granelizado sobre a composição centesimal, contagem de células somáticas (CCS) e contagem bacteriana total (CBT) do leite cru refrigerado, obtido no Sudoeste Goiano nos períodos chuvoso e seco de 2008. Foram coletadas amostras de leite armazenadas nos tanques de expansão e tanques isotérmicos. As análises eletrônicas executadas para avaliação da composição centesimal, CCS e CBT foram realizadas no Laboratório de Qualidade do Leite do Centro de Pesquisa em Alimentos da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Goiás. Os dados foram submetidos à análise de variância, com as coletas constituindo os blocos, enquanto que o período de coleta e tipos de amostra foram os fatores avaliados. O delineamento experimental foi em blocos ao acaso com tipos e tempos de estocagem em arranjo fatorial 2 x 2. A comparação dos tipos de amostra e período de coleta foi realizada por meio do teste F da análise de variância. As análises estatísticas foram realizadas por meio do Software Sisvar. A composição centesimal e a CCS não se alteraram durante o transporte do leite da propriedade rural até o laticínio. A maior CBT do leite durante o período chuvoso resultou em redução do teor de lactose. A CBT do leite obtido na propriedade rural e transportado a granel até o laticínio, não atendeu às especificações da legislação brasileira. Houve um aumento da CBT durante o transporte granelizado do leite cru refrigerado independente do período do ano.

Palavras-chave: estação do ano; higiene; leite resfriado; transporte a granel.

CHAPTER 3 – INFLUENCE OF THE TRANSPORT IN CENTESIMAL COMPOSITION, SOMATIC CELLS COUNT AND TOTAL BACTERIAL COUNT OF COOLED RAW MILK GOTTEN IN GOIANO SOUTHWEST

ABSTRACT

The objective of the research were evaluate the influence of the bulk milk transport on the centesimal composition, somatic cells count (SCC) and total bacterial count (TBC) of cooled raw milk, gotten in the Southwest Goiano in the periods rainy and dry of 2008. Were collected samples of bulk tank milk and isothermal tanks. The electronic analyses (centesimal composition, SCC and TBC) were carried in the Laboratório de Qualidade do Leite of the Centro de Pesquisa em alimentos of the Escola de Veterinária of the Universidade Federal de Goiás. The data were submitted to the variance analysis, with the collects constituting the blocks, while the period of collect and types of sample were the evaluated factors. The experimental delineation was block-type to perhaps with types and times of storage in factorial arrangement 2 x 2. The comparison of the types of sample and period of collect was carried through by mean of test F of the variance analysis. The statistical analyses was carried through by mean of Sisvar Software. Have not changes in centesimal composition and SCC during the transport of milk until dairy industry. Had an increase of the CBT during the bulk milk transport of the cooled raw milk independent of the period of the year. The results of the CBT are above of the value demanded for the legislation.

Key-word: cooled raw milk; hygiene; station of the year; transport in bulk.

1 INTRODUÇÃO

O resfriamento do leite logo após a ordenha, e a coleta granelizada, são importantes medidas para garantir a qualidade microbiológica do leite (NERO et al., 2005). No entanto, a aplicação isolada dessas medidas, não é suficiente, faz-se necessário o uso de práticas higiênicas, durante toda a etapa produtiva para que a indústria possa receber o leite granelizado com uma baixa contagem bacteriana total (CBT). LORENZETTI (2006) verificou uma alta contagem inicial de microrganismos psicrotróficos, após a chegada da matéria-prima na indústria, podendo resultar em sérios problemas na produção de lácteos.

BRASIL (2002) recomenda uma CBT abaixo de 750 mil UFC/mL e contagem de células somáticas (CCS) abaixo de 750 mil CS/mL a partir de julho de 2008, além da manutenção do leite na propriedade rural em tanques de expansão em temperatura máxima de 7ºC e após a chegada à indústria em carro tanque isotérmico com o máximo de 10ºC.

O transporte do leite a granel, beneficia os produtores, com a redução dos custos com o frete, flexibilidade nos horários de ordenha e aumento de produtividade; as indústrias, com a redução dos custos com insumos e mão de obra para limpeza dos latões; e os consumidores, com a melhoria do produto (RIBEIRO & TEIXEIRA, 2000).

Conhecer as alterações que ocorrem durante o transporte granelizado e as características do leite cru refrigerado após o recebimento pela indústria, são medidas importantes no monitoramento da qualidade do leite cru refrigerado.

O objetivo do presente estudo foi averiguar as possíveis alterações na composição centesimal, CCS e CBT do leite cru refrigerado após a chegada à indústria.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Amostragem

A pesquisa foi realizada no período de 30 de março a 25 de abril de 2008 (período chuvoso) e de 02 de maio a 11 de julho de 2008 (período seco). Foram coletadas amostras de leite, armazenadas em tanques de expansão de propriedades rurais do Sudoeste Goiano e amostras de leite após o transporte granelizado.

O laticínio responsável pela coleta granelizada recebia e processava aproximadamente, 50 mil L/dia no período chuvoso e aproximadamente 30 mil L/dia no período seco. Eram fabricados queijo mussarela, prato, ricota e manteiga.

O laticínio devidamente registrado no Serviço de Inspeção Federal (SIF) possuía fornecedores de leite integrados a um programa de coleta granelizada. Os tanques de expansão instalados nas propriedades rurais possuíam capacidade de armazenamento de aproximadamente 1.000 L e os caminhões que realizavam a coleta granelizada possuíam tanques isotérmicos de capacidade de aproximadamente 8.500 L.

Foram realizadas 20 viagens durante o período experimental totalizando 143 amostras de leite cru refrigerado e 38 amostras de leite granelizado. No período chuvoso foram feitas oito, totalizando 62 amostras de leite cru refrigerado de tanques de expansão e 16 de leite cru refrigerado obtido do tanque isotérmico. No período seco foram realizadas 12 viagens, sendo 81 amostras de leite cru refrigerado obtidas de tanques de expansão e 22 do tanque isotérmico.

As viagens eram compostas da amostragem de vários produtores e de uma amostra de cada compartimento do tanque isotérmico. Os tanques isotérmicos eram constituídos de dois compartimentos para armazenamento e transporte do leite da propriedade rural até o laticínio.

As amostras foram coletadas após a agitação mecânica programada no próprio tanque de expansão, logo após a chegada do carro tanque isotérmico à propriedade rural. As coletas foram realizadas em condições assépticas e o leite

armazenado em frascos contendo conservante bronopol para análise da CCS e composição centesimal e azidiol para análise da CBT, acondicionadas em caixa isotérmica contendo gelo e encaminhadas para realização das análises no Laboratório de Qualidade do Leite do Centro de Pesquisa em Alimentos da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Goiás. Ao chegar à indústria, coletavam-se as amostras do tanque isotérmico após a agitação mecânica do leite por aproximadamente 5 minutos.

No momento da coleta media-se a temperatura (ºC) de estocagem do leite na fonte de produção e após a chegada a indústria, anotando-se ainda o tempo de estocagem do leite na propriedade rural e o percurso da rota de coleta granelizada (km).

2.2 Análises laboratoriais

2.2.1 Composição centesimal

Os teores de gordura, proteína, lactose, extrato seco total (EST) e extrato seco desengordurado (ESD) foram determinados através do princípio analítico que baseia-se 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 40ºC por 15 minutos para dissolução da gordura. Os resultados foram expressos em porcentagem (%).

2.2.2 Contagem de células somáticas

A análise de células somáticas (CS), cujo princípio analítico baseia-se na citometria de fluxo foi realizada através do equipamento Fossomatic 5000 Basic (Foss Electric A/S. Hillerod, Denmark). Antes da análise, as amostras foram previamente aquecidas em banho-maria à temperatura de 40ºC por 15 minutos para dissolução da gordura. O resultado foi expresso em CS/mL.

2.2.3 Contagem bacteriana total

A contagem bacteriana total (CBT) foi realizada por meio do equipamento Bactoscan FC (Foss Eletric A/S. Hillerod, Denmark), cujo princípio de análise baseia-se 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.

2.3 Análises Estatísticas

Os dados foram submetidos à análise de variância, com as coletas constituindo os blocos, enquanto que o período de coleta e tipos de amostra foram os fatores avaliados. O delineamento experimental foi em blocos ao acaso com tipos e tempos de estocagem em arranjo fatorial 2 x 2. A comparação dos tipos de amostra e período de coleta foi realizada por meio do teste F da análise de variância.

Para atender as pressuposições da análise de variância a CCS e CBT foram transformadas por meio do logaritmo na base 10. As análises estatísticas foram realizadas por meio do Software Sisvar (FERREIRA, 2003).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 1 estão os resultados médios do tempo e temperatura de estocagem das amostras de leite cru refrigerado e distância da rota de coleta.

TABELA 1 – Valores médios do tempo de estocagem, temperatura de estocagem e distância da rota de coleta das amostras de leite cru refrigerado.

Período	Estocagem (horas)	Temperatura (ºC)		Distância (km)
		Tanque de expansão	Tanque isotérmico	
Chuvoso	46	9,7	11,0	138
Seco	49	6,8	8,5	137

No período chuvoso foi possível observar que a temperatura média das amostras mantidas em tanques de expansão em propriedades rurais do Sudoeste Goiano foi de 9,7ºC, na chegada à indústria a temperatura média foi de 11ºC. O tempo médio de armazenamento do leite cru refrigerado na propriedade rural até o momento da coleta foi de 46 horas. A distância média percorrida para a coleta granelizada do leite foi de 138 km.

Os resultados evidenciaram que no período chuvoso a temperatura do leite mantido nos tanques de expansão ficou acima da máxima permitida por BRASIL (2002) que é de 7ºC. A temperatura média exigida para o recebimento do leite na indústria de laticínios, também ficou acima do permitido pela legislação que é de 10ºC. Entretanto o tempo de armazenamento do leite na propriedade ficou dentro do tempo máximo permitido pela legislação que é de 48 horas, sendo que foram encontradas amostras com até 72 horas de armazenamento na fonte de produção. Entretanto, a legislação brasileira recomenda 24 horas como o tempo ideal para a estocagem do leite cru na fonte de produção.

No período seco foi possível observar uma temperatura média de 6,8ºC no leite coletado em tanques de expansão, ao chegar à indústria de beneficiamento a temperatura foi de 8,5ºC. O tempo médio de estocagem do leite na propriedade rural foi de 49 horas e a distância percorrida para a coleta granelizada do leite foi de 137 km.

Para o período seco a temperatura média permitida para o armazenamento do leite em tanques de expansão na propriedade rural e tanque

isotérmico ficou dentro do proposto pela legislação, porém, o tempo médio de estocagem do leite na fonte de produção foi acima de 48 horas, sendo que foram encontradas amostras com até 72 horas de estocagem na propriedade rural.

Temperatura de estocagem acima do limite permitido pela legislação foi relatada por PINTO et al. (2006) que observaram em 16,7% das amostras, a temperatura acima de 10ºC. O tempo e a temperatura de armazenamento do leite na propriedade rural, são fatores que influenciam na qualidade do leite ao chegar à indústria de laticínios, além disso, MOURA (2008) e PINTO et al. (2006) relataram que o manejo sanitário do rebanho, a manipulação do leite, incluindo a ordenha e o transporte das propriedades rurais até os laticínios, são responsáveis por alterações na qualidade do leite.

Na Tabela 2 encontram-se os resultados da composição centesimal, CCS e CBT das amostras de leite cru refrigerado obtidas de tanques de expansão e tanques isotérmicos durante os períodos chuvoso e seco de 2008.

Os resultados obtidos para a composição centesimal do leite transportado a granel da propriedade rural até a indústria, não diferiram significativamente ($p>0,05$), ou seja, o transporte granelizado não alterou as características iniciais do leite cru refrigerado.

BRASIL (2002) recomenda para os teores de gordura, proteína, ESD e EST os valores mínimos de 3,0%; 2,9%, 8,4% e 11,4% respectivamente. Os resultados desta pesquisa estão próximos aos valores médios obtidos por DERESZ (2001), que encontrou para o teor de gordura, proteína e EST, 3,7%; 3,2% e 12,4% respectivamente. Valores de composição centesimal abaixo dos resultados encontrados no presente estudo foram obtidos por TEIXEIRA et al. (2003), que relataram 3,57%; 3,14% e 12,16% para os teores de gordura, proteína total e EST em vacas da raça holandesa e MARTINS et al. (2006), que obtiveram média de 2,82% de proteína, 3,23% de gordura, 4,16% de lactose, 11,24% de EST e 8,0% de ESD.

Houve diferença significativa ($p<0,05$) para o teor de lactose entre os períodos do ano, sendo que no período seco o teor de lactose foi mais elevado que no período chuvoso, os demais parâmetros avaliados não foram influenciados pelos períodos do ano (chuvoso e seco).

TABELA 2 – Valores médios da composição centesimal, CCS e CBT do leite cru refrigerado obtido de tanques de expansão e tanques isotérmicos no período chuvoso e seco de 2008.

Parâmetros avaliados	Períodos do ano					
	Chuvoso			Seco		
	Tipo de tanque		Média	Tipo de tanque		Média
	Expansão n = 62	Isotérmico n = 16		Expansão n = 81	Isotérmico n = 22	
Gordura (%)	3,87	3,8	3,84a	3,89	3,82	3,86a
Proteína (%)	3,32	3,32	3,32a	3,29	3,27	3,28a
Lactose (%)	4,41	4,41	4,41b	4,49	4,49	4,49a
EST (%)	12,52	12,45	12,49a	12,62	12,52	12,57a
ESD (%)	8,65	8,65	8,65a	8,72	8,71	8,72a
CCS (CS/mL)	$5,27 \times 10^5$	$5,22 \times 10^5$	$5,24 \times 10^5$a	$5,37 \times 10^5$	$5,21 \times 10^5$	$5,29 \times 10^5$a
CBT (UFC/mL)	$7,61 \times 10^6$	$11,66 \times 10^7$	$9,64 \times 10^6$a	$3,50 \times 10^6$	$6,19 \times 10^6$	$4,84 \times 10^6$b

Médias seguidas de letras distintas na linha diferem entre si pelo teste de Tukey ($p<0,05$).

Os valores de lactose do presente estudo, ficaram abaixo do resultado obtido por TEIXEIRA et al. (2003), que foi de 4,66% ao estudarem a lactação de vacas da raça holandesa. Resultado próximo ao da presente pesquisa foi obtido por MACHADO et al. (2000) que obtiveram média de lactose de 4,51% em amostras de leite de tanques de expansão.

A CCS não diferiu ($p>0,05$) entre os períodos do ano e tipos de amostra, ou seja, o transporte a granel do leite cru refrigerado obtido na propriedade rural até o laticínio não afetou a CCS do leite.

Os resultados da CCS ficaram abaixo do limite máximo previsto pela Instrução Normativa nº 51 (BRASIL, 2002). A contagem máxima permitida para as regiões Centro-Oeste, Sul e Sudeste para o período que vai de julho de 2008 a julho de 2011 é de 750 mil CS/mL. CASURA et al. (1995) informaram que o limite de 500 mil células/mL pode ser utilizado para dividir os animais não infectados dos infectados. Desta forma, os valores obtidos para a CCS sinalizaram para uma incidência de mastite no rebanho, o que pode resultar em prejuízos para os produtores rurais e principalmente para as indústrias, devido a alterações nas características sensoriais e a redução no rendimento industrial de queijos.

Os resultados da CCS obtidos por MARTINS et al. (2006) foram de 334 mil CS/mL e 332 mil CS/mL, respectivamente, para os períodos chuvoso e seco, sendo que os valores do presente estudo foram maiores.

A CBT no período chuvoso diferiu significativamente ($p<0,05$) dos resultados obtidos no período seco. Os valores da CBT do leite cru refrigerado ficaram acima dos padrões exigidos por BRASIL (2002), tanto nos períodos chuvoso e seco, quanto nas amostras obtidas na propriedade rural e tanques isotérmicos. O limite máximo para a CBT do leite cru refrigerado é de 750 mil UFC/mL até 2011, a partir dessa data para o leite de conjunto será permitido o máximo de 300 mil UFC/mL, e para o leite individual o máximo de 100 mil UFC/mL.

Pode ser observado mediante os resultados da CBT que no período chuvoso a contagem de microrganismos foi mais elevada que no período seco. Os fatores que influenciaram a contagem elevada foram a falta de higiene dos utensílios e equipamentos utilizados na ordenha e transporte do leite, a temperatura de estocagem ao redor de 10ºC e o tempo de estocagem próximo a

48 horas.

A qualidade do leite está relacionada com o grau de contaminação inicial e com o binômio tempo/temperatura, em que o leite permanece desde a ordenha até o processamento (SILVEIRA et al., 2000). De acordo com BRASIL (2002), a coleta granelizada do leite deve ser realizada por pessoal treinado, sendo fundamental, no momento da coleta na propriedade rural, a avaliação da estabilidade do leite através da prova do alizarol a 72%, o que não foi observado em nenhuma das propriedades avaliadas. A prova do alizarol no momento da coleta estabelece o padrão de qualidade do leite a ser recebido pela indústria de laticínios, o leite que não resistir à prova e coagular, não estará apto ao processamento térmico, devido a provável coagulação na tubulação durante a pasteurização do leite, o que poderia gerar sérios prejuízos a indústria de laticínios.

No presente estudo os responsáveis pelo transporte do leite cru refrigerado, não possuíam o conhecimento necessário para a coleta granelizada do leite. Durante a coleta deveriam ser retiradas amostras de leite cru refrigerado de aproximadamente 250 mL, armazenadas em caixa isotérmica contendo gelo, para serem encaminhadas ao laboratório do laticínio, a fim de monitorar a qualidade do leite recebido pela indústria, entretanto, esse procedimento não era realizado. Como o tanque isotérmico possuía dois compartimentos para o armazenamento do leite, a falta de frascos contendo amostras de leite que identificassem individualmente as propriedades coletadas, impedia o monitoramento da qualidade do leite recebido pela indústria de laticínios. Em caso de fraudes como a adição de água que é muito comum, seria difícil para que o laticínio pudesse identificar o produtor responsável pela adulteração.

Embora não tenha ocorrido diferença ($p>0,05$) na interação entre os tipos de amostra em função dos períodos do ano, foi possível observar diferença significativa ($p<0,05$) entre os tipos de amostra, quando avaliados durante todo o período experimental. Ou seja, os resultados médios da CBT das amostras de leite cru refrigerado, após o transporte granelizado, foram maiores que os valores obtidos para as amostras armazenadas em tanques de expansão.

Os resultados médios da CBT foram de $5,2 \times 10^6$ UFC/mL e $8,4 \times 10^6$ UFC/mL para as amostras dos tanques de expansão e tanques isotérmicos,

respectivamente. Esses valores estão acima da recomendação feita por BRASIL (2002), para o recebimento de leite cru refrigerado pelas indústrias de laticínios e indicaram que houve um aumento na contagem de microrganismos de 61,54% (UFC/mL) após a retirada do leite dos tanques de expansão até a chegada no laticínio.

Durante a coleta granelizada e até a chegada ao laticínio, vários fatores podem ter interferido na qualidade do leite cru refrigerado. Uma fonte potencial de contaminação era o registro de saída do leite, localizado na parte inferior do tanque de expansão. O acúmulo de sujidades nesse ponto pode ter provocado uma elevação da CBT. O mangote flexível por onde o leite era transportado até o tanque isotérmico, possuía uma proteção para evitar o acúmulo de sujidades, porém entre uma propriedade e outra não era realizada higienização, servindo de fonte para a multiplicação dos microrganismos. Porém, os maiores responsáveis pelo aumento da CBT foram a temperatura e o tanque isotérmico.

Ao transferir o leite cru refrigerado do tanque de expansão, para o tanque isotérmico (Tabela 1) pode ser observado um ligeiro aumento da temperatura tanto no período chuvoso quanto no seco, que possivelmente influenciaram o aumento da CBT, além disso como o tanque era isotérmico o leite não passava por refrigeração até a chegada ao laticínio.

Como a limpeza e sanitização dos tanques isotérmicos era realizada após a estocagem do leite granelizado, ou em alguns casos somente no dia seguinte, pode ter ocorrido a formação de biofilmes, também responsáveis pelo aumento da CBT, portanto o transporte do leite cru refrigerado da propriedade rural até o laticínio exerceu uma forte influência na qualidade do leite recebido pela indústria de laticínios. PINTO et al. (2006) relataram que o leite mantido no silo industrial não atendeu ao padrão microbiológico e apresentou contagens microbianas maiores do que as do leite mantido em tanques individuais ou coletivos.

Os valores médios da CBT são preocupantes, pois segundo FOX (1989), as bactérias psicrotróficas causaram proteólise quando a população excedeu 10^6 UFC/mL, entretanto, CROMIE (1992) relatou que os problemas apareceram quando a contagem atingiu 10^7 UFC/mL. Como os resultados do presente estudo ficaram acima do valor relatado por FOX (1989), deverão ser

tomadas medidas com o objetivo de minimizar ou prevenir o crescimento microbiano do leite da propriedade rural até a chegada ao laticínio. Os psicrotróficos são microrganismos predominantes do leite cru refrigerado e são formados por diversos gêneros bacterianos, com predominância do gênero *Pseudomonas*, que em sua maioria produz proteases e/ou lipases a temperaturas de refrigeração (ARCURI et al., 2008). Essas enzimas são preocupantes pois de acordo com SØRHAUG & STEPANIAK (1997) as bactérias psicrotróficas proteolíticas constituem a maior causa de deterioração de amostras de leite cru refrigerado devido a termorresistência.

Para corrigir os problemas relacionados a elevada CBT do leite cru refrigerado deverão ser realizados o monitoramento da temperatura de estocagem, a higiene e sanitização dos tanques de expansão, mangotes, tanques isotérmicos, utensílios e equipamentos, que entrem em contato com o leite cru refrigerado. O Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento e órgãos responsáveis pela fiscalização do leite, deverão atuar no monitoramento da qualidade do leite cru refrigerado obtido no Sudoeste Goiano, para que a região possa atender as exigências da Instrução Normativa nº. para 2011.

4 CONCLUSÕES

A composição centesimal e a CCS não alteraram durante o transporte do leite da propriedade rural até o laticínio. A maior CBT do leite durante o período chuvoso resultou em redução do teor de lactose. A CBT do leite obtido na propriedade rural e transportado a granel até o laticínio, não atendeu às especificações da legislação brasileira. Houve um aumento da CBT durante o transporte granelizado do leite cru refrigerado independente do período do ano.

5 REFERÊNCIAS

ARCURI, E. F.; SILVA, P. D. L.; BRITO, M. A. V. P.; BRITO, J. R. F.; LANGE, C. C.; MAGALHÃES, M. M. A. Contagem, isolamento e caracterização de bactérias psicrotróficas contaminantes de leite cru refrigerado. **Ciência Rural**, v. 38, n. 8, p. 2250 – 2255, 2008.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal. Instrução Normativa no 51, de 18 de setembro de 2002. Aprova e Oficializa o Regulamento técnico de identidade e qualidade de leite cru refrigerado. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, n. 172, p. 13-22, 20 set. 2002. Seção I.

CASURA, C.; SCHUKKEN, Y. H.; RÜSCH, P. Quality assessment of California mastitis test as a diagnostic tool in quarter somatic cell count estimation. **Proc. IDF Int. Mastitis Seminar**, Tel Aviv, p. 357 – 358, 1995.

CROMIE, S. Psichorotrophs and their enzyme residues in cheese milk. **Australian Journal of Dairy Techonology**, Victoria, v. 47, n. 2, p. 96 – 100, 1992.

DERESZ, F. Produção de leite de vacas mestiças Holandês x Zebu em pastagem de capim-elefante, manejada em sistema rotativo com e sem suplementação durante a época das chuvas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 30, n. 1, pp. 197 – 204, 2001.

FERREIRA, D.F. Sisvar: versão 4.3 (Build 43). Lavras:Departamento de Ciências Exatas, Universidade Federal de Lavras, 2003.

FOX, P. F. (ed.). Developments in Dairy Chemistry – 4. Functional Milk Proteins. **Elsevier Applied Science**, Elsevier Science Publisher Ltd. London and New York, 1989.

LORENZETTI, D. K. **Influência do tempo e da temperatura no desenvolvimento de microrganismos psicrotróficos no leite cru de dois estados da região sul**. 2006. 71 p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2006.

MACHADO, P. F.; PEREIRA, A. R.; SARRIES, G. A. Composição do leite de tanques de rebanhos brasileiros distribuídos segundo sua contagem de células somáticas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 29, n. 6, p. 1883 – 1886, 2000.

MARTINS, P. R. G.; SILVA, C. A.; FISCHER, V.; RIBEIRO, M. E. R.; STUMPF JÚNIOR, W.; ZANELA, M. B. Produção e qualidade do leite na bacia leiteira de Pelotas-RS em diferentes meses do ano. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 36, n. 1, p. 209 – 214, 2006.

MOURA, A. C. S. **Caracterização da qualidade do leite cru refrigerado produzido em municípios do estado de Alagoas, Brasil**. 2008. 63 p.

Dissertação (Doutorado em Ciência Veterinária) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife – PE, 2008.

NERO, L, A.; MATTOS, M. R.; BELOTI, V.; BARROS, M. A. F.; PINTO, J. P. A. Leite e cru de quatro regiões leiteiras brasileiras: perspectivas de atendimento dos requisitos microbiológicos estabelecidos pela Instrução Normativa 51. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 25, n. 1, p. 191 – 195, 2005.

PINTO, C. L. O.; MARTINS, M. L.; VANETTI, M. C. D. Qualidade microbiológica de leite cru refrigerado e isolamento de bactérias psicrotróficas proteolíticas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 26, n. 3, p. 645 – 651, 2006.

RIBEIRO, M. T.; TEIXEIRA, S. R. L. Qualidade do leite em tanques de expansão individuais ou comunitários. **Glória Rural**, Rio de Janeiro, v. 3, n. 38, p. 28 – 35, 2000.

SILVEIRA, I. A.; CARVALHO, E. P.; TEIXEIRA, D. Infuência de microrganismos psicrotrófcos sobre a qualidade do leite cru refrigerado. Uma revisão. **Higiene Alimentar**, v. 12, n. 55, p. 21 – 27, 2000.

SØRHAUG, T.; STEPANIAK, L. Psychrotrophs and their enzymes in milk and dairy products: Quality aspects. **Trends in Food Science & Technology**, v. 8, p. 35 – 37, 1997.

TEIXEIRA, N. M.; FREITAS, A. F.; BARRA, R. B. Influência de fatores de meio ambiente na variação mensal da composição e contagem de células somáticas do leite em rebanhos no Estado de Minas Gerais. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec**, Belo Horizonte, v. 55, n. 4, p. 491 – 499, 2003.

CAPÍTULO 4 – AVALIAÇÃO DA ESTOCAGEM DO LEITE DE DOIS LATICÍNIOS DO SUDOESTE GOIANO

RESUMO

A pesquisa foi realizada no período de 22 de julho a 25 de agosto de 2008. As amostras de leite a granel foram coletadas dos silos de estocagem de leite de duas indústrias de laticínios localizadas no Sudoeste Goiano. A coleta foi realizada em condições assépticas e o leite armazenado em frascos com bronopol para avaliação da contagem de células somáticas (CCS) e composição centesimal e azidiol para avaliação da contagem bacteriana total (CBT), e frascos de cor âmbar de ± 250 mL para serem realizadas as análises microbiológicas e de acidez titulável. Coletou-se sete amostras da indústria A e seis da indústria B. Foram coletadas amostras para avaliação no tempo de estocagem de 24, 48 e 72 horas. Essas amostras ficaram armazenadas em refrigerador (± 5ºC) instalado no Laboratório de Processamento de Leite e Derivados do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – Campus Rio Verde – GO (IFET Goiano). As análises eletrônicas (CCS, CBT e composição centesimal) foram realizadas no Laboratório de Qualidade do Leite do Centro de Pesquisa em Alimentos da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Goiás. As análises microbiológicas e a acidez titulável foram realizadas nos Laboratórios de Microbiologia e Processamento de Leite e Derivados da Unidade de Agroindústria do IFET Goiano. O delineamento experimental foi em blocos ao acaso com tipos de amostra e tempos de estocagem em arranjo fatorial 2 x 2. A comparação dos tipos de amostra e tempos de estocagem foi realizada por meio do teste F da análise de variância. Para atender as pressuposições da análise de variância a CCS, CBT, psicrotróficos, psicrotróficos proteolíticos e *Pseudomonas* spp., foram transformados em logaritmo na base 10. As análises estatísticas foram realizadas por meio do Software SISVAR. Não houve alteração da composição centesimal durante o período de estocagem do leite a granel obtido em silos industriais. Houve diferença significativa nos resultados da acidez titulável, lactose e ESD das indústrias avaliadas. Os resultados da CCS e CBT diferiram significativamente para as duas empresas avaliadas. Houve interação significativa para a contagem de microrganismos psicrotróficos e psicrotróficos proteolíticos durante o período de armazenamento sob refrigeração a 5ºC.

Palavras-chave: higiene; leite granelizado; silo industrial; temperatura de armazenamento.

CHAPTER 4 – EVALUATION OF THE MILK STORAGE OF TWO DAIRY INDUSTIES OF THE GOIANO SOUTHWEST

ABSTRACT

The research were carried in the period of 22 of July the 25 of August of 2008. The bulk milk samples were collected of the silos of milk storage of two dairy industries located in the Goiano Southwest. The collect were carried in aseptic conditions, milk was stored in bottles with bronopol (Somatic cells count – SCC and centesimal composition) and azidiol (Total bacterial Count – TBC), and bottles of amber color of ± 250 mL to carried the microbiological analysis and titratable acidity. Collected seven samples of the industry A and six of industry B. Were collected samples for evaluation in the storage time of 24, 48 and 72 hours. These samples were stored in coolant (± 5ºC) installed in the Laboratório de Processamento de Leite e Derivados of the Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – Campus Rio Verde – GO (IFET Goiano). The electronic analysis (SCC, TBC and centesimal composition) were carried in the Laboratório de Qualidade do Leite of the Centro de Pesquisa em Alimentos of the Escola de Veterinária of the Universidade Federal de Goiás. The microbiological analysis and titratable acidity were carried in the Laboratório de Microbiologia and Processamento de Leite e Derivados of the Unidade de Agroindústria of the IFET Goiano. The statistical analysis were carried by means of Sisvar Software. Have not alteration of the centesimal composition during the period of storage of bulk milk gotten in industrial silos. Had significant difference in the results of the titratable acidity, lactose and solids non fat of the dairy industries. The results of SCC and TBC had differed significantly for the two dairy industries. Had significant interaction for the count of psycrotrophics and psycrotrophics proteolytics during the period of storage under refrigeration 5ºC.

Key-words: bulk tank milk; hygiene; industrial silo; storage temperature.

1 INTRODUÇÃO

As alterações nas características físico-químicas e microbiológicas do leite, ocorrem desde o momento da ordenha até o beneficiamento pela indústria. Os fatores que podem influenciar tais alterações, são as condições higiênicas de obtenção do leite, a higiene dos utensílios e equipamentos envolvidos na estocagem, a sanidade do rebanho, o tempo e a temperatura de estocagem nos tanques de expansão, o transporte e as condições de estocagem na indústria, dentre outros fatores.

Em função da elevação da temperatura durante o transporte após a chegada na indústria o leite passará por um resfriamento e em seguida será armazenado nos silos industriais até o processamento. PINTO et al. (2006), informaram que o leite cru refrigerado mantido em silos apresentou contagens microbianas superiores às do leite mantido em tanques de expansão. Além disso, a refrigeração do leite, por períodos prolongados, na propriedade ou na indústria, comprometeu a qualidade, devido a possibilidade de seleção de bactérias psicrotróficas proteolíticas.

Nos silos de estocagem das indústrias de laticínios o processamento poderá ocorrer dentro de algumas horas ou até mesmo dias, essa dependência está na capacidade de estocagem do leite pelos laticínios e principalmente na demanda de leite para o processamento dos derivados lácteos. Diante do exposto, o presente estudo teve como objetivo avaliar as características físico-químicas e microbiológicas do leite granelizado obtido por duas indústrias de laticínios do Sudoeste Goiano.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Coleta das amostras

A pesquisa foi realizada no período de 22 de julho a 25 de agosto de 2008, com amostras de leite granelizado coletadas dos silos de dois laticínios localizados no Sudoeste Goiano. Para preservar o nome das indústrias as mesmas foram identificadas como Empresa A e Empresa B. A indústria A recebia aproximadamente 30 mil L/dia, durante o período experimental e possuía três silos de estocagem de 20 mil L de capacidade cada. A indústria B recebia 200 mil L/dia e possuía oito silos de estocagem de aproximadamente 100 mil L de capacidade.

A coleta foi realizada em condições assépticas, as amostras de leite foram armazenadas em frascos contendo conservante bronopol (contagem de células somáticas – CCS e composição centesimal) e azidiol (Contagem bacteriana total – CBT), e ± 250 mL de leite foram armazenados em frascos de cor âmbar (esterilizado a 121ºC/15 minutos) para serem realizadas as análises microbiológicas e de acidez titulável. Simultaneamente foram coletadas amostras de leite e acondicionadas em frascos de cor âmbar de capacidade de ± 250 mL, previamente identificado com o nome da empresa (A ou B) e tempo de estocagem (24, 48 e 72 horas).

Para a Indústria A foram coletadas sete amostras de leite cru refrigerado e para a Indústria B foram coletadas seis amostras, sendo que nos dois casos as amostras foram armazenadas e avaliadas até as 72 horas de estocagem, sendo analisadas 28 amostras da indústria A e 24 amostras da indústria B. Para a avaliação durante o tempo de estocagem (24, 48 e 72 horas) as amostras foram mantidas em refrigerador (5ºC) instalado no Laboratório de Processamento de Leite e Derivados da Unidade de Agroindústria do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – Campus Rio Verde – GO (IFET Goiano). Após a coleta as amostras foram acondicionadas em caixa isotérmica contendo gelo e encaminhadas para realização das análises.

A CCS, CBT e composição centesimal foi realizada no Laboratório de Qualidade do Leite do Centro de Pesquisa em Alimentos da Escola de Veterinária

da Universidade Federal de Goiás. As análises microbiológicas e de acidez titulável foram realizadas nos Laboratórios da Unidade de Agroindústria do IFET Goiano.

2.2 Análises microbiológicas

Para avaliar a qualidade do leite cru refrigerado das indústrias de laticínios e a simulação da estocagem em silos industriais, foram realizadas as análises de microrganismos psicrotróficos, psicrotróficos proteolíticos e *Pseudomonas* spp.

2.2.1 Contagem de microrganismos psicrotróficos

A diluição da amostra foi preparada pipetando-se, assepticamente, 25 mL da amostra, para um frasco tipo Erlenmeyer, contendo 225 mL de água peptonada 0,1% (diluição 10^{-1}). A partir desta diluição, foram preparadas diluições decimais até 10^{-6}, empregando-se o mesmo diluente. Foi adicionado 1 mL das diluições em placas de Petri (15x100) esterilizadas, em duplicata, e adicionados de 15 a 17 mL de ágar padrão para contagem fundido e resfriado a 45ºC e homogeneizada (APHA, 2001). Após a solidificação do ágar em temperatura ambiente, as placas foram incubadas invertidas a 7ºC/10 dias (MARSHALL,1992). As contagens foram realizadas em contador de colônias, em placas que continham entre 25 a 250 colônias. Para calcular o número de unidades formadores de colônia (UFC)/mL, foi multiplicado o número de colônias, em cada placa, pelo inverso da diluição inoculada.

2.2.2 Contagens de microrganismos psicrotróficos proteolíticos

As diluições decimais foram preparadas conforme o descrito para a contagem de microrganismos psicrotróficos (2.2.1). Após as diluições decimais, foi adicionado 1 mL de cada diluição em placas de Petri esterilizadas e adicionados de 15 a 17 mL de ágar leite (agar padrão acrescido de 10% de leite em pó desnatado reconstituído a 10%) preparado recentemente, fundido e

resfriado a 45ºC. As placas foram incubadas a 21ºC/72 horas (MARSHALL, 1992).

As colônias de microrganismos psicrotróficos proteolíticos apresentaram-se rodeadas por uma zona clara como resultado da conversão da caseína em compostos nitrogenados solúveis. Como o meio é opaco, utilizou-se um precipitante químico (ácido acético a 10%) para detectar a proteólise, e assim confirmar se as zonas claras eram causadas por proteólise ou pela formação de ácidos devida à fermentação de carboidratos. Efetuou-se a contagem de colônias que possuíam halo transparente ao redor e calculou-se o número de UFC/mL.

2.2.3 Contagem de *Pseudomonas* spp.

As diluições decimais foram preparadas conforme o descrito para a contagem de microrganismos psicrotróficos (2.2.1).

Após a realização das diluições decimais, foi adicionado 0,1 mL das diluições em placas de Petri esterilizadas e adicionados de 15 a 17 mL de *Pseudomonas* Agar Base com 5 mL de glicerol. As amostras foram inoculadas no meio de cultura, espalhadas com alça de Drigalski, sendo imediatamente incubadas a temperatura de 28ºC por 48 horas. Ao fim desse período, realizou-se a leitura e interpretação (KING et al., 1954). Os resultados foram expressos em UFC/mL.

2.3 Análises físico-químicas

2.3.1 Acidez titulável

Foram transferidos 10 mL de leite para um béquer de 250 mL. Em seguida foram adicionadas três gotas de solução de fenolftaleína a 1%. A titulação foi realizada com solução de hidróxido de sódio 0,1 N, até aparecimento de coloração rósea persistente por aproximadamente 30 segundos (BRASIL, 2006). Os resultados foram expressos em gramas (g) de ácido lático/100 mL.

2.3.2 Composição centesimal

Os teores de gordura, proteína, lactose, extrato seco total (EST) e extrato seco desengordurado (ESD) foram determinados através do princípio analítico que baseia-se 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 40ºC por 15 minutos para dissolução da gordura. Os resultados foram expressos em porcentagem (%).

2.4 Contagem de células somáticas

A análise de células somáticas (CS), cujo princípio analítico baseia-se na citometria de fluxo foi realizada através do equipamento Fossomatic 5000 Basic (Foss Electric A/S. Hillerod, Denmark). Antes da análise, as amostras foram previamente aquecidas em banho-maria à temperatura de 40ºC por 15 minutos para dissolução da gordura. O resultado foi expresso em CS/mL.

2.5 Contagem bacteriana total

A contagem bacteriana total (CBT) foi realizada por meio do equipamento Bactoscan FC (Foss Eletric A/S. Hillerod, Denmark), cujo princípio de análise baseia-se 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.

2.6 Análises Estatísticas

O delineamento experimental foi em blocos ao acaso com tipos de amostra e tempos de estocagem em arranjo fatorial 2 x 2. A comparação dos tipos de amostra e tempos de estocagem foi realizada por meio do teste F da análise de variância. Para atender as pressuposições da análise de variância a CCS, CBT, psicrotróficos, psicrotróficos proteolíticos e *Pseudomonas* spp., foram

transformados em logaritmo na base 10. As análises estatísticas foram realizadas por meio do Software SISVAR (FERREIRA, 2003).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 1 estão os valores médios dos parâmetros de qualidade do leite cru refrigerado de duas indústrias de laticínios da região Sudoeste do Estado de Goiás.

TABELA 1 – Valores médios da acidez titulável, gordura, proteína, lactose, EST, ESD, CCS, CBT, contagem de psicrotróficos, psicrotróficos proteolíticos e *Pseudômonas* spp. do leite cru refrigerado de dois laticínios da região Sudoeste do Estado de Goiás.

Variáveis	Empresas	
	A	B
Acidez titulável (g de ácido lático/100 mL)	0,186b	0,193a
Gordura (%)	3,66a	3,66a
Proteína (%)	3,20a	3,20a
Lactose (%)	4,41b	4,45a
EST (%)	12,17a	12,23a
ESD (%)	8,52b	8,57a
CCS (CS/mL)	$4,1 \times 10^5$b	$5,3 \times 10^5$a
CBT (UFC/mL)	$14,2 \times 10^7$b	$28,3 \times 10^7$a
Psicrotróficos (UFC/mL)	$7,8 \times 10^6$a	$11,7 \times 10^7$a
Proteolíticos (UFC/mL)	$5,5 \times 10^6$a	$3,7 \times 10^6$a
Pseudomonas spp. (UFC/mL)	$1,0 \times 10^6$a	$4,3 \times 10^6$a

Médias seguidas de letras distintas na linha diferem entre si pelo teste de Tukey ($p<0,05$).

Os resultados da acidez titulável, lactose e ESD da empresa B diferiram ($p<0,05$) dos resultados apresentados pela empresa A. O teor de gordura, proteína e EST não diferiram ($p>0,05$) entres as empresas.

O valor médio da acidez titulável da empresa B foi de 0,193 g de ácido lático/100 mL, enquanto que a empresa A o resultado médio foi de 0,186 g de ácido lático/100 mL. Nos dois laticínios os resultados da acidez titulável foram ligeiramente maiores que o permitido pela legislação brasileira (BRASIL, 2002) que admite uma variação de 0,14 a 0,18 g de ácido lático/100 mL de leite. Os valores da acidez titulável obtidos por FAGAN et al. (2008) variaram de 0,168 a 0,173 g de ácido lático/100 mL, sendo os resultados obtidos no presente estudo maiores que os observados por estes pesquisadores.

Os resultados da acidez titulável apresentaram-se mais elevados devido a alta CBT das amostras destes laticínios. A utilização da lactose como substrato para a proliferação dos microrganismos pode ter resultado em aumento

da acidez titulável.

Na Figura 1 são apresentados os resultados das curvas de regressão da acidez titulável.

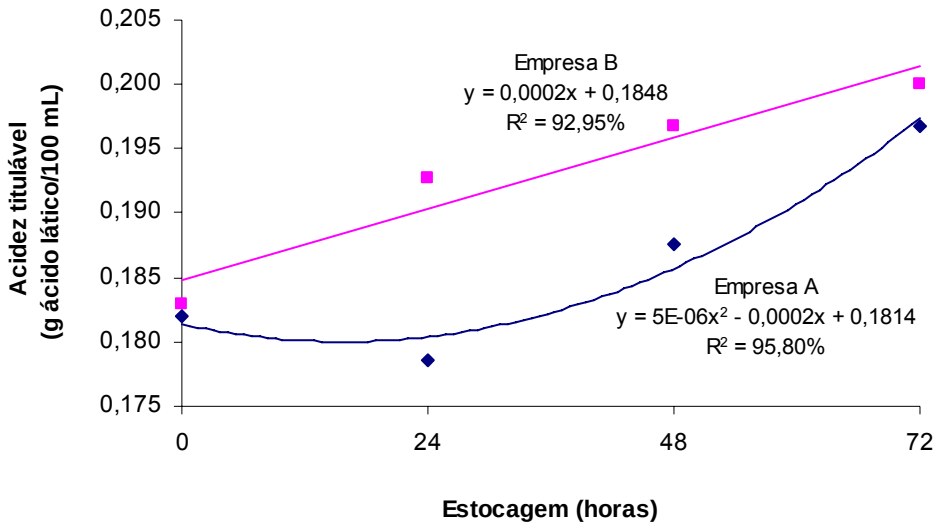


FIGURA 1 – Curvas de regressão da acidez titulável do leite cru refrigerado de dois laticínios do Sudoeste Goiano.

A estocagem do leite cru refrigerado por até 72 horas sob refrigeração a 5ºC, resultou em regressão quadrática para o laticínio A (R^2 = 95,80%) e regressão linear para o laticínio B (92,95%). Nos dois laticínios foi possível observar um aumento da acidez titulável durante o tempo de estocagem do leite cru refrigerado. No momento da coleta do leite nos laticínios a acidez titulável já estava acima do limite máximo permitido pela legislação brasileira.

A estocagem do leite por até 72 horas no presente estudo objetivou simular o armazenamento do leite nos silos industriais por períodos maiores que 48 horas, que é considerado como o ideal para o armazenamento do leite na propriedade rural. A legislação brasileira não estabelece um limite máximo para a estocagem do leite após o recebimento pelas indústrias de laticínios.

Os teores de gordura e proteína não diferiram ($p>0,05$) e os resultados médios foram respectivamente de 3,66% e 3,20%, para as duas empresas avaliadas. Esses componentes estão diretamente relacionados ao rendimento industrial dos queijos e derivados lácteos, e podem ser utilizados como parâmetros para o pagamento do leite por qualidade pelas indústrias. O pagamento do leite de acordo com a composição centesimal visa melhorar a

qualidade da matéria-prima, aumentando o rendimento industrial para a fabricação de derivados lácteos (RIBAS et al., 2004). Teores acima de 3,0% de gordura e 2,9% de proteína são considerados como ideais para o recebimento do leite cru refrigerado pelas indústrias (BRASIL, 2002). Resultados ligeiramente maiores que os obtidos neste estudo foram relatados por BUENO et al. (2005), sendo 3,72% para o teor de gordura e 3,23% para o teor de proteína.

Os resultados do teor de lactose diferiram ($p>0,05$) entre as empresas. O laticínio B obteve média de 4,45% e o laticínio A média de 4,41%. O valor obtido por BUENO et al. (2005) foi de 4,49% de lactose, portanto, ligeiramente maior que os resultados obtidos no presente estudo. Resultados menores que os do presente estudo foram amostrados por MARTINS et al. (2007), que relataram uma variação da lactose de 4,22% a 4,40%. A legislação brasileira não estabeleceu o teor mínimo de lactose para o recebimento do leite cru refrigerado pelos laticínios, no entanto, os resultados do presente estudo foram compatíveis com os valores obtidos por SANTOS (2008) e NORO et al. (2006).

O EST não diferiu ($p>0,05$) entre as empresas, os valores obtidos foram de 12,17% e 12,23% para os laticínios A e B, respectivamente. Considerando que a legislação estabelece o mínimo de 3,0% de gordura e 8,4% de ESD o EST acima de 11,40% seria o adequado para o recebimento do leite cru refrigerado pelos laticínios. Resultados mais elevados que os do presente estudo foram obtidos por RIBAS et al. (2004), que relataram teor de EST de 12,32% em leite de tanques de expansão nos Estados do Paraná, Santa Catarina e São Paulo. Os valores relatados por OLIVEIRA & TIMM (2006) foram menores e variaram de 11,09% a 11,26%. A implantação de sistemas de pagamento por qualidade, com base nos resultados de sólidos totais, e da CCS, possibilitaria ao país enquadrar-se nos padrões internacionais de qualidade, necessários à manutenção e conquista de oportunidades de mercado (RIBAS et al., 2004).

O ESD diferiu significativamente ($p>0,05$) entre os laticínios, os resultados foram de 8,60% e 8,50% para os laticínios B e A, respectivamente. Considerando que a legislação brasileira estabelece o mínimo de 8,40%, os dois laticínios atenderiam aos padrões estabelecidos por BRASIL (2002). Os resultados desta pesquisa situaram-se abaixo dos valores encontrados por SOUZA (2006) que variaram de 8,63% a 9,22% de ESD ao avaliarem a qualidade

do leite cru refrigerado de tanques de expansão comunitários. Os valores do ESD observados por RIBAS et al. (2004) e SANTOS (2008) foram ligeiramente maiores, sendo 8,62% e 8,63%, respectivamente. Resultados do ESD menores do que os do presente estudo foram obtidos por GONZALEZ et al. (2004), que foi de 8,42% e MARTINS et al. (2006) que obtiveram média de 8,0%.

Resultados da composição centesimal ligeiramente maiores que os do presente estudo foram observados por BUENO et al. (2005), que relataram para o intervalo de CCS de 401 mil CS/mL a 750 mil CS/mL os teores de gordura, proteína, lactose e sólidos totais do leite cru refrigerado de 3,72%; 3,23%; 4,49% e 12,39% respectivamente, em amostras analisadas no estado de Goiás.

Os resultados da composição centesimal dos dois laticínios não diferiram ($p>0,05$) durante a estocagem do leite obtido de silos industriais por 24, 48 e 72 horas (refrigerador a 5ºC). Como o objetivo deste estudo foi simular o armazenamento do leite granelizado, pode-se inferir que mesmo após o armazenamento por períodos prolongados na propriedade rural e após o recebimento pelos laticínios o leite granelizado não sofreu alterações na composição centesimal. O teor de gordura, proteína, lactose, EST e ESD do leite granelizado foram os mesmos durante a estocagem por até 72 horas. Porém ao avaliar o rendimento de queijos Minas Frescal, CARDOSO (2006) relatou uma redução de 6,78% nos queijos fabricados a partir de leite cru estocado a 10ºC por 4 dias, da mesma forma YAN et al. (1983) observaram uma redução no rendimento de queijos fabricados com leite mantido a 7ºC por 8 dias.

Os resultados da CCS diferiram ($p<0,05$) entre os dois laticínios estudados. O laticínio B apresentou média de $5,3 \times 10^5$ CS/mL e no laticínio A, a média foi de $4,1 \times 10^5$ CS/mL. A CCS não diferiu ($p>0,05$) durante o armazenamento do leite por até 72 horas. E embora os resultados observados para a CCS sejam elevados os mesmos estão dentro do limite máximo de 750 mil CS/mL estabelecido por BRASIL (2002).

Os resultados da CCS revelaram a incidência de mastite no leite granelizado obtido dos laticínios e estocado por até 72 horas sob refrigeração a 5ºC. Para ANDREWS et al. (1983) os animais que apresentaram CCS acima de 250 mil CS/mL de leite foram considerados portadores de mastite clínica. No estudo conduzido por MACHADO et al. (2000), foi observado que o leite de

tanques de expansão com CCS mais altas apresentaram maior porcentagem de gordura, menor de proteína e lactose e igual de sólidos totais, sendo que as mudanças significativas nas concentrações do componentes do leite ocorreram a partir de 1 milhão CS/mL para gordura e 500 mil CS/mL para proteína e lactose.

Valores de CCS próximos aos do presente estudo foram obtidos por GONZALEZ et al. (2004), que relataram média da CCS de 469 mil CS/mL na bacia leiteira de Pelotas – RS. Resultado mais baixo que os obtidos nesta pesquisa foi observado por BUENO et al. (2005), que obtiveram média de 352 mil CS/mL, esses pesquisadores revelaram ainda que a elevação da CCS está relacionada à redução das concentrações de proteína, lactose e sólidos totais e que, no Estado de Goiás, o leite apresenta CCS mais elevada no período das secas.

A incidência de mastite no rebanho resulta no aumento da CCS que é um dos principais parâmetros utilizados para avaliação da qualidade do leite, pois está relacionada a diminuição das concentrações dos componentes do leite e alteração nas características sensoriais dos derivados lácteos. De acordo com SANTOS et al. (2006), o leite com alta CCS apresentou maior taxa de proteólise durante o período de armazenamento que o leite de baixa CCS.

Na Figura 2 podem ser vistas as curvas de regressão da CBT durante o tempo de estocagem do leite cru refrigerado dos laticínios A e B.

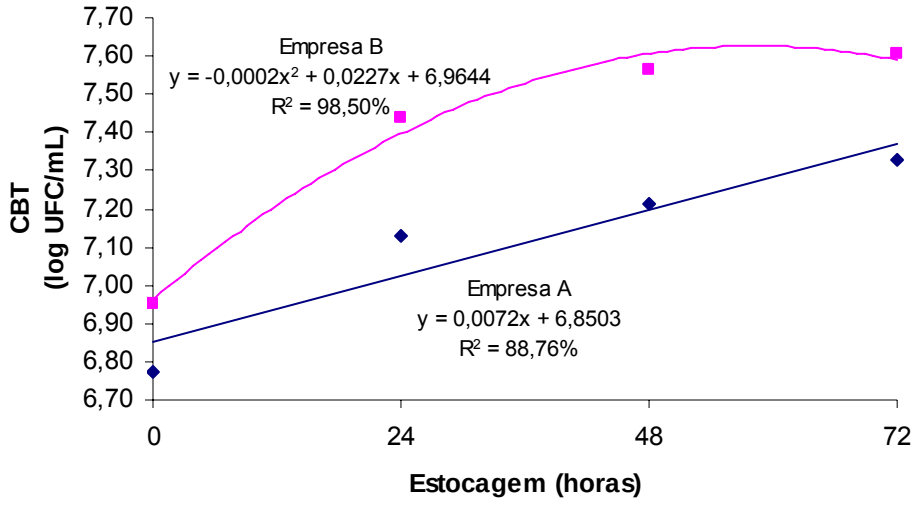


FIGURA 2 – Curvas de regressão da CBT do leite cru refrigerado de dois laticínios do Sudoeste Goiano.

Os valores da CBT do leite cru refrigerado diferiram ($p<0,05$) entre as empresas e durante o tempo de estocagem. Os resultados foram de 14,2 x 10^7 UFC/mL e 28,3 x 10^7 UFC/mL para os laticínios A e B respectivamente, e estavam acima do limite máximo permitido por BRASIL (2002) que é de 750 mil UFC/mL. Ao longo do período de estocagem foi possível observar um aumento da CBT, a empresa A resultou em regressão linear (R^2 = 88,76%) e a empresa B em regressão quadrática (98,50%). A CBT do leite granelizado foi crescente até as 72 horas nos dois laticínios estudados.

No momento da coleta do leite cru refrigerado nos silos industriais a CBT já apresentava resultados elevados, no laticínio A e B a CBT foi de 6 x 10^6 UFC/mL e 8,9 x 10^6 UFC/mL respectivamente. As condições de estocagem e higiene dos tanques de expansão e tanques isotérmicos influenciaram na alta CBT, além disso, os microrganismos psicrotróficos (Tabela 1) constituíram-se no grupo de microrganismos dominantes.

Segundo LAW (1979) devido ao curto tempo de geração em temperaturas baixas, espécies do gênero *Pseudomonas* spp., representaram as bactérias psicrotróficas deterioradoras predominantes do leite cru refrigerado, embora correspondessem a menos de 10% da microbiota contaminante inicial do leite fresco. O que não foi observado no presente estudo onde a microbiota psicrotrófica correspondeu a mais de 10% da microbiota total. ANTUNES et al. (2002) relataram a presença de microrganismos psicrotróficos representando 23% da microbiota do leite *in natura* os quais em condições de refrigeração multiplicam-se mais rapidamente do que a microbiota mesofílica, tornando-se predominante. ARCURI et al. (2008) informaram que o nível de contaminação de leite cru com bactérias psicrotróficas e a mistura do leite de vários produtores em tanques coletivos pode aumentar os riscos de contaminação.

Os resultados obtidos para a CBT estão de acordo com o observado por PINTO et al. (2006), que relataram que o leite cru refrigerado mantido no silo industrial não atendeu ao padrão microbiológico e apresentou contagens maiores que às do leite mantido em tanques individuais ou coletivos. Na pesquisa realizada por MARTINS et al. (2004), no leite armazenado em tanque de expansão no estado de Goiás foi possível observar que dos 30 tanques

amostrados nove estavam com CBT acima de 10^6 UFC/mL, 14 entre 10^5 e 10^6 UFC/mL e sete abaixo de 10^5 UFC/mL.

Os resultados da contagem de microrganismos psicrotróficos, psicrotróficos proteolíticos e *Pseudomonas* spp., não diferiram ($p>0,05$) entre as empresas avaliadas. A contagem desse grupo de microrganismos foi mais elevada que o limite máximo estabelecido para a CBT do leite cru refrigerado.

Para a contagem de microrganismos psicrotróficos os resultados médios obtidos foram de 7,8 x 10^6 UFC/mL e 11,7 x 10^7 UFC/mL para os laticínios A e B respectivamente. A manutenção do leite cru refrigerado em temperaturas baixas favoreceu o crescimento de microrganismos psicrotróficos. A contaminação dos produtos lácteos por bactérias psicrotróficas pode originar-se do suprimento de água de qualidade inadequada, deficiências de procedimentos de higiene e mastite (MURPHY & BOOR, 2000). Portanto, procedimentos de higienização empregados na cadeia produtiva do leite constituem pontos críticos para a obtenção de uma matéria prima de alta qualidade (PINTO et al., 2006).

Na Figura 3 estão representadas as curvas de regressão linear da contagem de microrganismos psicrotróficos dos laticínios A (R^2 = 72,63%) e B (R^2 = 99,57%).

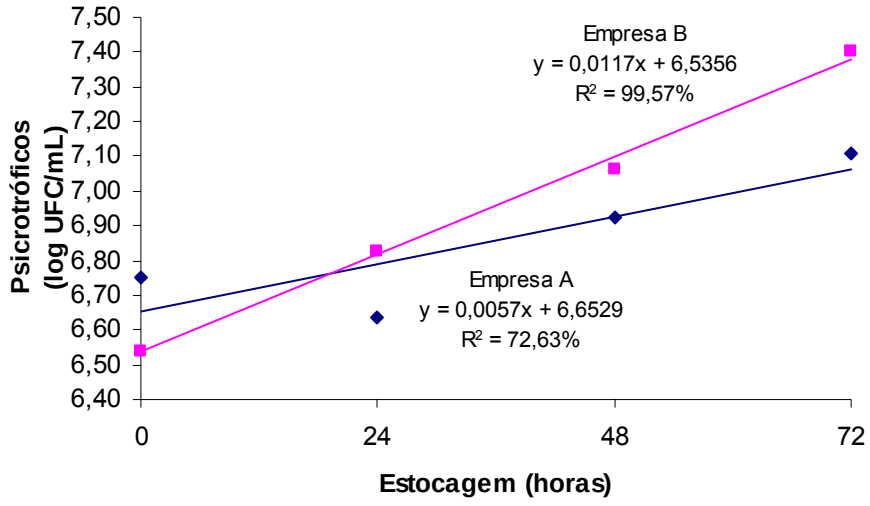


FIGURA 3 – Curvas de regressão da contagem de psicrotróficos do leite cru refrigerado de dois laticínios do Sudoeste Goiano.

Foi possível observar um crescimento dos microrganismos psicrotróficos até as 72 horas de estocagem. Essa evolução da contagem de

microrganismos psicrotróficos está relacionada às condições de armazenamento como temperatura e tempo de estocagem e principalmente com a higiene dos silos industriais, que favoreceu o crescimento desse grupo de microrganismos. SILVA (2003) também registrou uma maior contagem de psicrotróficos em amostras de leite cru coletadas em silos industriais dos estados de São Paulo, Rio Grande do Sul e Goiás, as contagens variaram de 1,4 x 10^6 UFC/mL a 8,8 x 10^7 UFC/mL.

Contagens de psicrotróficos mais baixas que as do presente estudo foram observadas por PINTO et al. (2006), que relataram uma variação de 5,6 x 10^5 UFC/mL a 6,4 x 10^6 UFC/mL nas amostras de silo industrial.

Os microrganismos psicrotróficos são importantes do ponto de vista da deterioração e com a adoção da refrigeração do leite desde a ordenha até o recebimento nos laticínios, a substituição da microbiota de bactérias mesofílicas produtoras de ácido lático por uma microbiota psicrotrófica produtora de enzimas tem sido favorecida e tem levado a diferentes alterações na qualidade do leite e derivados (ALMEIDA, 1998; GUIMARÃES, 1998).

A Figura 4 demonstra a curva de regressão para o crescimento dos microrganismos psicrotróficos proteolíticos durante o armazenamento do leite cru refrigerado do laticínio A.

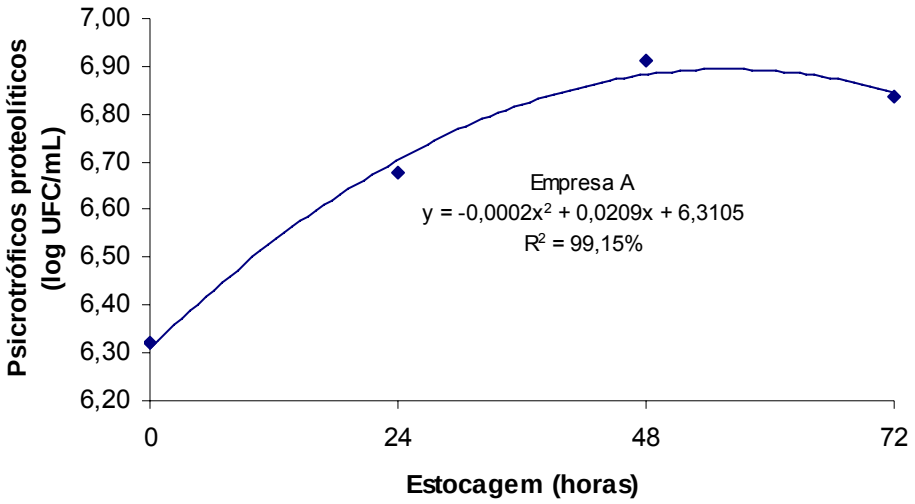


FIGURA 4 – Curva de regressão da contagem de psicrotróficos proteolíticos do leite cru refrigerado de um laticínio do Sudoeste Goiano, em função do tempo de estocagem.

Para o laticínio B não foi observada diferença significativa (p>0,05) para

a contagem de microrganismos psicrotróficos proteolíticos durante a estocagem sob refrigeração a 5ºC por até 72 horas. A contagem de psicrotróficos proteolíticos foi crescente até as 48 horas de estocagem, em seguida ocorreu uma ligeira queda na contagem. A contagem de psicrotróficos proteolíticos foi de 5,5 x 10^6 UFC/mL e 3,7 x 10^6 UFC/mL para os laticínios A e B, respectivamente. Resultados mais baixos que os do presente estudo foram observados por PINTO (2004) que relataram para a contagem de bactérias psicrotróficas proteolíticas uma variação de 8,1 x 10^4 UFC/mL a 6,5 x 10^5 UFC/mL nas amostras obtidas de silos industriais. SILVA (2001) obtiveram contagens variando de 2,3 x 10^3 UFC/mL a 8,0 x 10^5 UFC/mL, porém bem mais baixas que as contagens obtidas no presente estudo.

A contagem de *Pseudomonas* spp., foi de 1,0 x 10^6 UFC/mL e 4,3 x 10^6 UFC/mL para as empresas A e B, respectivamente. Resultados mais elevados foram obtidos por PINTO et al. (2006) que foram de 2,0 x 10^4 UFC/mL a 6,4 x 10^6 UFC/mL nas amostras do silo industrial.

De acordo com SØRHAUG & STEPANIAK (1997), um dos principais fatores que influenciaram a qualidade dos produtos lácteos fabricados com matéria-prima mantida a 7ºC ou menos por períodos prolongados, foi a multiplicação da microbiota psicrotrófica contaminante produtora de proteases termoestáveis. A refrigeração é importante na manutenção das condições microbiológicas do leite cru até o beneficiamento. Na indústria de laticínios, onde grandes volumes de leite ficam armazenados a temperatura de refrigeração por longos períodos, as bactérias psicrotróficas podem desenvolver-se causando mudanças indesejáveis no leite e derivados. A presença desses microrganismos indica a baixa qualidade do leite e insatisfatórias condições sanitárias no processamento (RAVANIS & LEWIS, 1995).

Os psicrotróficos são responsáveis pela produção de enzimas, e os processos de pasteurização do leite eliminam a maioria dos microrganismos inicialmente presentes no leite cru. Existe, porém, a possibilidade de sobrevivência de microrganismos ou de enzimas produzidas por estes no leite pasteurizado. Existe também a possibilidade de uma recontaminação por essas bactérias durante as fases de processamento do leite (GOMES, 1988).

Segundo PINTO et al. (2006), a refrigeração do leite, por períodos

prolongados, na fonte de produção ou na indústria, comprometeu a qualidade, considerando a possibilidade de seleção de bactérias psicrotróficas proteolíticas, sendo necessários investimentos contínuos em boas práticas para prevenção da contaminação e do crescimento microbiano na cadeia produtiva do leite para reduzir problemas tecnológicos e econômicos na indústria de laticínios.

4 CONCLUSÕES

Não ocorreram alterações na composição centesimal do leite cru refrigerado obtido em silos de indústrias de laticínios e estocado sob condições assépticas a 5ºC por até 72 horas. A acidez titulável, CBT e contagem de microrganismos psicrotróficos foram crescentes até as 72 horas de estocagem. A contagem de microrganismos psicrotróficos proteolíticos decresceu após as 48 horas de estocagem. Os resultados sugerem que as condições de estocagem do leite nos laticínios do Sudoeste Goiano estão proporcionando um alta contagem de microrganismos, que é indicativa de condições inadequadas de higiene dos utensílios e equipamentos e temperatura e tempo de estocagem acima do exigido pela legislação. Faz-se necessário que os órgãos responsáveis pela fiscalização, atuem no monitoramento da qualidade do leite cru refrigerado recebido pelas indústrias de laticínios, para evitar problemas de saúde pública.

5 REFERÊNCIAS

ALMEIDA, A. A. P. **Anais do XV Congresso Nacional de Laticínios**. Juiz de Fora, vol. 53, n. 304, 1998, p-26-29.

ANDREWS, R. J.; KITCHEN, B. J.; KWEE, W. S. Relationship between individual cow somatic cell count and the mastitis infection status of the udder. **Austr. J. Dairy Technol***.,* v. 38, p. 71 – 74, 1983.

ANTUNES, V. C.; JUNIOR, W. M. S.; VALENTE, P. P.; BARROS, A. P.; CONDE, C. B. C.; ROSA, R.; BERTOLDI, M. C.; SARAIVA, C.; FERREIRA, C. L. L. F. Contagem Total de Microrganismos Mesófilos e de Psicrotróficos no Leite Cru e Pasteurizado, Transportado via Latão ou Granelizado. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**. Juiz de Fora, v. 57, n. 327, p. 199, jul./ago. 2002.

APHA – AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 4. ed. Washington: APHA, 2001, 676 p.

ARCURI, E. F.; SILVA, P. D. L.; BRITO, M. A. V. P.; BRITO, J. R. F.; LANGE, C. C.; MAGALHÃES, M. M. A. Contagem, isolamento e caracterização de bactérias psicrotróficas contaminantes de leite cru refrigerado. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 38, n. 8, 2008.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal. Instrução Normativa no 51, de 18 de setembro de 2002. Aprova e Oficializa o Regulamento técnico de identidade e qualidade de leite cru refrigerado. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, n. 172, p. 13-22, 20 set. 2002. Seção I.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Instrução Normativa nº 68, de 12 de dezembro de 2006. Oficializa os Métodos Analíticos Oficiais Físico-Químicos, para Controle de Leite e Produtos Lácteos. **Diário Oficial da União de 14/12/2006**, Seção 1, Página 8 Brasília, DF, 2006. v. II, cap. 14, p. 1.

BUENO, V. F. F.; MESQUITA, A. J.; NICOLAU, E. S. et al. Contagem celular somática: relação com a composição centesimal do leite e período do ano no Estado de Goiás. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 35, n. 4, p. 848 – 854, 2005.

CARDOSO, R. R. **Influência da microbiota psicrotrófica no rendimento de queijo minas frescal elaborado com leite estocado sob refrigeração**. 2006. 43 p. Dissertação (Mestre em Microbiologia Agrícola) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa – MG, 2006.

FAGAN, E. P.; TAMANINI, R.; FAGNANI, R.; BELOTI, V.; BARROS, M. A. F.; JOBIM, C. C. Avaliação de padrões físico-químicos e microbiológicos do leite em diferentes fases de lactação nas estações do ano em granjas leiteiras no Estado do Paraná – Brasil. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 29, n. 3, p. 651 –

660, 2008.

FERREIRA, D.F. Sisvar: versão 4.3 (Build 43). Lavras:Departamento de Ciências Exatas, Universidade Federal de Lavras, 2003.

GOMES, M. I. F. V. Alterações na qualidade do leite pasteurizado pela ação de lipase microbiana. Piracicaba: ESALQ, 1988. 85p.

GONZALEZ, HELENICE DE LIMA, FISCHER, VIVIAN, RIBEIRO, MARIA EDI ROCHA et al. Avaliação da qualidade do leite na bacia leiteira de Pelotas, RS. Efeito dos meses do ano. Revista Brasileira de Zootecnia, Viçosa, v. 33, n. 6, p. 1531 – 1543, 2004.

GUIMARÃES, J. A. Programa nacional de melhoria da qualidade do leite. **Anais**, 1998, p. 95 – 153.

KING, E. O.; WARD, M. K.; RANEY, D. E. Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorescin. **Journal of Laboratory and Clinical Medicine**, v.44, p.301-307, 1954.

MACHADO, P. F.; PEREIRA, A. R.; SARRIES, G. A. Composição do leite de tanques de rebanhos brasileiros distribuídos segundo sua contagem de células somáticas. **Rev. Bras. Zootec**., v. 29, n. 6, p. 1883 – 1886, 2000.

MARSHALL, R. T. Standard Methods for the Examination of Dairy Products. American Public Health Association, 16 ed, 1992.

MARTINS, M. L.; PINTO, C. L. O.; VANETTI, M. C. D.; MEZÊNCIO, J. M. S.; Detecção de Proteases Bacterianas em Leite por Métodos Imunológicos. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 59, n. 339, p. 61, 2004.

MARTINS, P. R. G.; FISCHER, V.; RIBEIRO, M. E. R.; GOMES, J. F.; STUMPF, W.; ZANELA, M. B., Produção e qualidade do leite em sistemas de produção da região leiteira de Pelotas, RS, Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 37 n. 1, p. 212 – 217, 2007.

MARTINS, P. R. G.; SILVA, C. A.; FISCHER, V.; RIBEIRO, M. E. R.; STUMPF JÚNIOR, W.; ZANELA, M. B. Produção e qualidade do leite na bacia leiteira de Pelotas-RS em diferentes meses do ano. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 36, n. 1, p. 209 – 214, 2006.

MURPHY, S. C.; BOOR, K. J. Trouble-shooting sources and causes of high bacteria counts in raw milk. **Dairy, Food and Environmental Sanitation**, v. 20, p. 606 – 611, 2000.

NORO, G.; GONZALEZ, F. H. D.; CAMPOS, R.; DURR, J. W. Fatores ambientais que afetam a produção e a composição do leite em rebanhos assistidos por cooperativas no Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.

35, n. 3, p. 1129 – 1135, 2006.

OLIVEIRA, D. S.; TIMM, C. D. Composição do leite com instabilidade da caseína. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 26, n. 2, p. 259 – 263, 2006.

PINTO, C. L. O. Bactérias psicrotróficas do leite cru refrigerado granelizado destinado à produção do leite uht. 2004. 97 p. Tese (Doutorado em Microbiologia Agrícola) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa – MG, 2004.

PINTO, C. L. O.; MARTINS, M. L.; VANETTI, M. C. D. Qualidade microbiológica de leite cru refrigerado e isolamento de bactérias psicrotróficas proteolíticas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 26, n. 3, p. 645 – 651, 2006.

RAVANIS, S.; LEWIS, M. J. Observations on the effect of raw milk quality on the keeping quality of pasteurized milk. **Letters in Applied Microbiology**, London, v. 20, n. 3, p. 164 – 167, 1995.

RIBAS, N. P.; HARTMANN, W.; MONARDES, H. G.; ANDRADE, U. V. C. Sólidos totais do leite em amostras de tanque nos Estados do Paraná, Santa Catarina e São Paulo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 33, n. 6, p. 2343 – 2350, 2004.

SANTOS, M. V.; OLIVEIRA, C. A. F.; LIMA, Y. V. R.; BOTARO, B. G. Remoção de células somáticas pela microfiltração não afeta a composição e a proteólise do leite. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 36, n. 5, p. 1486 – 1493, 2006.

SANTOS, P. A. **Avaliação do leite cru refrigerado produzido na região sudoeste do estado de Goiás estocado por diferentes períodos**. 2008. 50 p. Tese (Doutorado em Ciência Animal) – Universidade Federal de Goiás, Goiânia – GO, 2008.

SILVA, E. O. T. R. **Leite longa vida**: avaliação de alguns parâmetros de qualidade dos leites cru e processado. 2001. 130 p. Tese (Doutorado em Epidemiologia Experimental e Aplicada à Zoonoses) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2001.

SILVA, P. H. F. **Leite UHT**: Fatores determinantes para sedimentação e gelificação. 2003. 147 p. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2003.

SØRHAUG, T.; STEPANIAK, L. Psychrotrophs and their enzymes in milk and dairy products: quality aspects. **Trends in Food Science and Technology**, Oxford, v. 8, p. 35 – 41, 1997.

SOUZA, V. **Características físico-químicas, microbiológicas, celulares e detecção de resíduos de antibióticos em amostras de leite de tanque comunitário**. 2006. 57 p. Dissertação (Mestre em Medicina Veterinária) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal – SP, 2006.

YAN, L.; LANGLOIS, B. E.; O'LEARLY, J.; HICKS, C. 1983. Effect of storage condition of grade A raw milk on proteolysis and cheese yield. **Milchwissenschaft**, v. 38, p. 715 – 717, 1983.

CAPÍTULO 5 – CONSIDERAÇÕES FINAIS

Foi possível observar que o leite cru refrigerado estocado em tanques de expansão por mais de 24 horas não atendeu aos requisitos microbiológicos mínimos necessários para o recebimento do leite pelos laticínios. Para que os produtores e laticínios da região Sudoeste de Goiás atendam às exigências da Instrução Normativa Nº 51/2002 para o recebimento do leite cru refrigerado no período vigente e a partir de 2011, serão necessárias a implantação de medidas higiênico-sanitárias rigorosas para adequação da produção, especialmente quanto à temperatura e tempo de estocagem, limpeza e sanitização dos tanques de expansão. Nas indústrias a implantação dessas medidas deverá ser mais rigorosa, devido ao aumento significativo de microrganismos durante o transporte a granel do leite.