

# ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DE LEITE CRU REFRIGERADO E INDUSTRIALIZADO PROVENIENTE DE PROPRIEDADES DOS MUNICÍPIOS DE CARMO DO RIO VERDE, ITAPACI, IPIRANGA DE GOIÁS, NOVA AMÉRICA, RUBIATABA E SÃO PATRÍCIO-GOIÁS

## *MICROBIOLOGICAL ANALYSIS OF REFRIGERATED RAW MILK AND INDUSTRIALIZED FROM THE PROPERTIES OF THE COUNTIES OF CARMO DO RIO VERDE, ITAPACI, IPIRANGA DE GOIÁS, NOVA AMÉRICA, RUBIATABA AND SÃO PATRÍCIO-GOIÁS*

<sup>1</sup>Alex Rodrigues de Souza; <sup>1</sup>Waldir Ferreira de Lima Filho; <sup>2</sup>Gilmar Aires da Silva; <sup>3,4</sup>Renata Silva do Prado

### RESUMO

O leite de vaca é um alimento utilizado pelo ser humano em toda parte do mundo, sendo rico pelo substrato contido em sua composição como: proteínas, vitaminas, carboidratos, gorduras e sais minerais, sendo, portanto, um excelente produto para a proliferação de microrganismos. Um dos parâmetros importantes para determinar sua vida útil, é a avaliação da contaminação microbiológica de alimentos para que os mesmos não ofereçam riscos à saúde dos consumidores. Este trabalho tem como objetivo avaliar a qualidade microbiológica de amostras de leite *in natura* e industrializado nas regiões do Carmo do Rio Verde, Itapaci, Ipiranga de Goiás, Nova América, Rubiataba e São Patrício-GO. Foi realizado um estudo de abordagem indutiva, quali-quantitativo, com técnica de documentação direta em laboratório. Foram coletadas amostras em triplicata diretamente do tanque receptor de leite, da cooperativa local, bem como amostras de leite industrializado e realizada a semeadura em ágar Sabouraud Dextrose, onde se pôde observar o crescimento de microbiota fúngica para as amostras coletadas do tanque. Alíquotas também foram semeadas em ágar nutriente, e observou-se o crescimento de colônias bacterianas isoladas para todas as amostras *in natura*, e para um dos

---

<sup>1</sup> Acadêmico do curso de Farmácia, FACER- Faculdades de Ceres-GO, Brasil.

<sup>2</sup> Mestre em Química. Docente da FACER- Faculdade de Ceres-GO, Brasil.

<sup>3</sup> Doutora em Medicina Tropical. Docente da FACER- Faculdade de Ceres-GO, Brasil.

<sup>4</sup> **Autor correspondente:** Av. Brasil. SN, Qd. 13 Morada Verde Ceres-GO

Fone- (62) 3323-1040. [renata.ufg@hotmail.com](mailto:renata.ufg@hotmail.com)

Data do recebimento: 10/02/2016

Data da aprovação: 02/04/2016

tipos de leite industrializados. Foi realizada a coloração de Gram em ambos os tipos de leite, bem como a contagem de células somáticas (CCS) e provas bioquímicas, demonstrando que todas as amostras analisadas estavam dentro do padrão microbiológico preconizado pelas agências reguladoras.

**Palavras-chave:** Leite “*in natura*”. Leite industrializado. Qualidade microbiológica.

## **ABSTRACT**

Cow's milk is used by human beings everywhere in the world, being rich by the substrate contained in its composition such as proteins, vitamins, carbohydrates, fats and minerals, and is therefore an excellent product for the proliferation of microorganisms. One of the important parameters to determine its useful life, is the evaluation of microbiological contamination of food so that they offer no risk to consumer health. This study aims to evaluate the microbiological quality of milk samples in natura and industrialized, from regions to Carmo do Rio Verde, Itapaci, Ipiranga de Goiás, NovaAmerica, Rubiataba and São Patrício-GO. A study of inductive approach, qualitative and quantitative, with direct documentation technique in laboratory was conducted. Triplicate samples were collected directly from the milk receiving tank, the local cooperative, as well as processed milk samples and performed sowing on agar Sabouraud Dextrose, where he could observe the growth of fungal microflora. Aliquots of the sample were also plated on nutrient agar and observed the growth of individual bacterial colonies for the samples in nature, and one of the kinds of processed milk. It was a Gram stain performed on both types of milk, as well as the somatic cell count (SCC) and biochemical evidence showing that all samples analyzed were within the expected standard.

**Keywords:** Milk “*in natura*”; industrialized milk; microbiological quality.

## **INTRODUÇÃO**

O leite de vaca é um alimento utilizado pelo ser humano em toda parte do mundo, sendo composto pela riqueza de substrato contido em sua composição: proteínas, vitaminas, carboidratos, gorduras e sais minerais, o que faz também com que o mesmo seja um excelente produto para a proliferação de bactérias e outros microrganismos. O uso de tanques comunitários de refrigeração por expansão direta para armazenamento até sua retirada pela indústria, a refrigeração, a temperatura e a conservação do leite acima de 7°C influenciam a contaminação do leite por microrganismos (MARTINS et al., 2008).

A cada dia que se passa o consumidor torna-se mais exigente, e muitas são as normas impostas a indústrias para que se possam comercializar os seus produtos; O Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) publicou no Diário oficial da União de 18 de setembro de 2002, a instrução Normativa nº 51(IN51), que regulamenta o padrão de identificação e qualidade do leite, desde a ordenha, armazenamento e resfriamento na propriedade, meio de transporte utilizado, e como transportar grandes quantidades até a indústria, incluindo os parâmetros físicos - químicos e microbiológicos, o que aumenta o nível de precauções obrigatórias nas áreas industriais e em propriedades rurais.

O leite de boa qualidade, sem outra especificação, é entendido como produto oriundo da ordenha completa e ininterrupta, de vacas saudáveis, bem descansadas e bem alimentadas, mantendo a organização e higiene de modo adequado. O mesmo deve ser transportado em carros-tanque isotérmicos, e no momento do seu recebimento na indústria, tem que apresentar temperatura inferior a 7°C para que tenha a garantia de uma boa qualidade (PAULA; CARDOSO; RANGEL, 2010).

Tabela 1. Composição média dos principais componentes presentes no leite de vaca.

Componentes Principais	Composição Média
Água	87,0 %
Gordura	3,9 %
Proteínas	3,4 %
Lactose	4,8 %
Minerais	0,8 %

Fonte: Venturini; Sarcinelli; Silva (2007a).

O MAPA, por meio da IN nº 62, aprovada em 2011, define critérios de qualidade, física, química e microbiológica do leite. A instrução estabelece ainda datas bases para os índices microbiológicos e valores decrescentes, que é expressa em células somáticas/mL de leite (Cel./mL) e contagens de bactérias totais (CBT), expressa em Unidade Formadora de Colônia por mL de leite (UFC/mL), fatores relacionados com a saúde e higiene da glândula mamária (BRASIL, 2011).

Um dos parâmetros importantes para determinar a vida útil do leite se baseia na avaliação da contaminação microbiológica para que o mesmo não ofereça riscos à saúde dos consumidores. É importante o controle higiênico-sanitário desde a obtenção do leite *in natura*

até a distribuição do produto industrializado, pois as condições de higiene inadequadas tornam viável a transmissão de doenças a população consumidora (SILVA et al., 2008).

Com o intuito de garantir a qualidade e melhora do leite a ser industrializados, programas de pagamento por qualidade, são implantados pelos laticínios, tendo o melhor preço pago, o produto de melhor qualidade. De forma que o leite de vacas com mastite tem valor reduzido no mercado, por ter qualidade inferior, baixando os lucros dos produtores e causando risco ao consumidor. Entre as características física e químicas do leite, as alterações mais destacadas se dá em termos de condutividade elétrica e pH. No leite com mastite, a condutividade elétrica aparece aumentada devido a uma maior concentração dos íons  $\text{Na}^+$  e  $\text{Cl}^-$ . O pH aumenta, sendo que o leite normal está na faixa de 6,6 a 6,8 e do leite com mastite pode atingir valores de 7,0 (SILVA, 2014).

As características do leite são muito importantes para as indústrias e produtores, bem como para os consumidores, destinando-se a grande importância na prática do consumo e produção de derivados. Assim sendo, é fundamental compreender alguns conceitos a respeito da qualidade do leite, concernente principalmente às condições higiênico-sanitárias (VIEIRA; KANEYOSHI; FREITAS, 2005).

Dessa maneira, fica explícita a importância das análises microbiológicas, e, portanto, a relevância de se analisar a qualidade microbiológica do leite produzido na região de Carmo do Rio Verde, Itapaci, Ipiranga de Goiás, Nova América, Rubiataba e São Patrício-GO, visto que não há estudos desse cunho realizados na região. O presente estudo gerou valores que funcionarão como parâmetro da qualidade do leite produzido no local em estudo.

O objetivo deste trabalho foi analisar a qualidade microbiológica de amostras de leite *in natura* e industrializado nas regiões de Carmo do Rio Verde, Itapaci, Ipiranga de Goiás, Nova América, Rubiataba e São Patrício-GO, através da contagem de células somáticas (CCS), unidade formadora de colônia (UFC), coloração de Gram, avaliação da microbiota fúngica e testes bioquímicos.

## **METODOLOGIA**

Foi realizado um estudo de abordagem indutiva, quali-quantitativo, com técnica de documentação direta em laboratório. A pesquisa foi realizada no laboratório multiuso da Faculdade de Ceres (FACER), Unidade de Ceres-GO.

### **Contagem de células somáticas (CCS)**

Foi realizada a contagem de células somáticas (CCS) e contagem de unidades formadoras de colônias (UFC) verificando a relação entre os resultados de CCS de leite e UFC. Foi realizada amostragem de 50mL de leite coletado nos tanques da Cooperativa CooperAgro de Rubiataba-Go, (Cooperativa Regional Agropecuária de Rubiataba-GO, CNPJ: 01.333/0003-53 Insc: Estadual: 10439.0980) e análise da CCS eletrônica em aparelho SOMACOUNT-300 (Bentley®)Universidade Federal de Goiás (UFG), seguindo a metodologia de Schalm & Noorlander (1957).

### **Unidades formadoras de colônias (UFC)**

Foi coletada amostra de 500 mL de leite do tanque bem como da amostra industrializada, em triplicata, observando-se condições de assepsia, para realização de contagem de unidades formadoras de colônias (UFC), mantendo-se sob temperatura de refrigeração, até o momento do ensaio. Para a contagem de UFC, foi realizada diluição a  $10^{-2}$  semeando-se 0,1ml da solução salina em placa de Petri com meio ágar nutriente ( Animal tissue 5.00g/l; Beef extract 1.50g/l; yeast extract 1.50g/l; Sadium chloride 5.00g/l; Agar 15.00g/l; PH final:  $7,4 \pm 0,2$  a  $25^{\circ}\text{C}$ ; MARCA: Himedia), suplementado com glicose, espalhando-se por toda a superfície, com auxílio da alça de Drigalski estéril, com a contagem após 24 horas de incubação a  $37^{\circ}\text{C}$  ( Krieg & Holt, 1994; Quinn et al, 1994; Murray et al, 1999 ), com modificações.

### **Pesquisa de Microbiota Aeróbica**

Para a pesquisa da microbiota aeróbica foram cultivados 0,1mL de cada amostra em duplicata em ágar nutriente, incubando-se por até 96 horas a  $37^{\circ}\text{C}$ . Os micro-organismos isolados foram corados por Gram e repicados em meio ágar nutriente para realização de posteriores provas bioquímicas(Krieg & Holt, 1994; Quinn et al, 1994; Murray et al.,1999).

### **Pesquisa da Microbiota Fúngica**

Para o estudo da microbiota fúngica, 100µL de cada amostra foram cultivados em triplicata, com o auxílio de bastão de vidro, em placas de Petri contendo meio de Agar Sabouraud Dextrose (SDA) (Dextrose 4.0 g/l; Digestica do tecido Animal 5.0 g/l; Digestão Pancreática de caseína 5.0 g/l Agar 15.0 g/l; PH final:  $5,6 \pm 0,2$  a  $25^{\circ}\text{C}$ ; MARCA: KASKI), e mantidos em estufa a  $36^{\circ}\text{C}$  durante sete dias (PACHECO et al., 2015).

### Provas Bioquímicas

A acidez titulável, em graus Dornic ( $^{\circ}$ D), foi determinada por titulação com solução de NaOH 1N/9 e o pH foi determinado em fitas para determinação do valor de pH, na faixa de 0 a 14. A pesquisa foi realizada de acordo com a metodologia recomendada pelo Instituto Adolfo Lutz (FREITAS, J. A; OLIVEIRA, J. P; GALINDO, G. A. R, 2005).

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com a IN 62 o limite máximo para CCS é de 500,000 céls/mL até 30 de Junho de 2016, assim sendo as amostras de 50 mL de leite in natura, refrigerado coletadas em meses consecutivos de dois tanques de expansão da Cooperativa CooperAgro de Rubiataba-GO, analisadas eletronicamente em aparelho SOMACOUT-300 pela (UFG), estão dentro dos padrões exigidos por lei, conforme resultados expresso na tabela 2.

**Tabela 2:** Contagem de Células Somáticas obtidas em Laboratório oficial (x 1.000 cs/mL)

Período	Tanque 1	Tanque 2
Set (2015)	<250	<250
Out (2015)	411	373
Nov (2015)	380	390
<b>Média</b>	<b>347</b>	<b>337</b>

Segundo os estudos de Santos e Colaboradores (2013), nos meses de estação árida, a média de CCS foi menor, com exceção ao mês de setembro, que pode se observar uma média de (488,000 Céls/mL) e menores em agosto (273,000 Céls/mL), relatando ainda que nos tempos de alta temperatura e umidade, a capacidade dos animais de apresentarem resposta a doenças são menores, e os microrganismos se multiplicam devido ao calor e a umidade, expondo ainda mais os animais aos agentes causadores de mastite, aumentando a CCS no leite. A diminuição dos valores de CCS encontrada no início dos meses neste estudo, ratificam o exposto por Santos.

Fialho e Colaboradores (2012) pesquisaram a CCS no leite cru refrigerado de quatro cooperativas da região do Alto Paranaíba-MG, tendo como objetivo apresentar um diagnóstico da qualidade do leite na região. As amostras foram coletadas em tanques de expansão na plataforma de recepção e a análises de CCS foram realizadas por citometria de fluxo, utilizando-

se o equipamento Somacount 300. Os resultados encontrados nos quatro laticínios, no período de janeiro de 2008 a maio de 2011 obtiveram uma variação na CCS de 480,000 a 580,000 valores predominantes elevados quando comparados aos obtidos nesta pesquisa.

Como a CCS é composta em sua maioria por células fagocitárias, o sistema de Ultra Alta Temperatura (UAT) reduz drasticamente esses teores, não sendo, portanto, analisados neste estudo.

No que se refere à contagem de bactérias totais, observando os resultados da tabela 2, foram encontradas na 1ª amostra 103 colônias típicas e 10 colônias atípicas, totalizando-se 10,3 UFC/ml, na 2ª amostra foram encontradas 64 colônias típicas e 24 atípicas totalizando-se 6,4 UFC/ml e na 3ª amostra foram encontradas 93 colônias típicas e 13 colônias atípicas totalizando-se 9,3 UFC/ml, respectivamente.

**Tabela 3:** Amostras 1, 2 e 3 coletadas diretamente do tanque, crescidas em Ágar Nutriente.

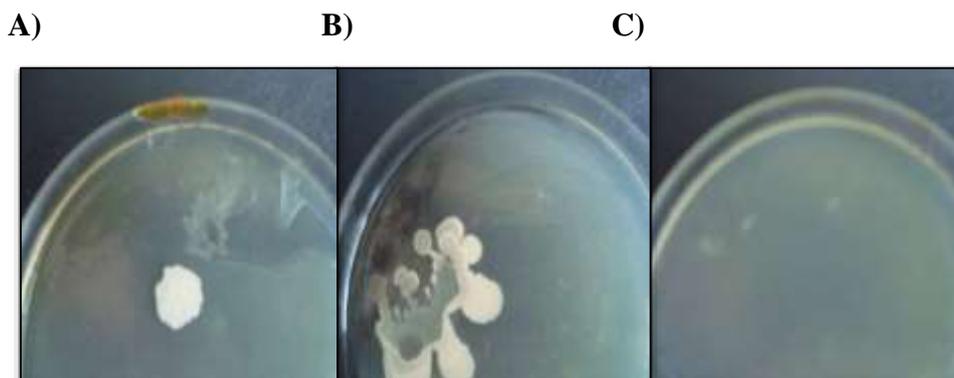
Amostra <sup>1</sup>	Colônias Típicas	Colônias Atípicas	UFC/ml
1	103	10	10,3
2	64	24	6,4
3	93	13	9,3
<b>Média</b>	86,66	15,66	8,66

Pode-se observar que os valores CBT encontrados em cada uma das amostras de leite estão dentro dos padrões exigidos pela Instrução Normativa nº 62 que estabelece limites de 300.000 até 30/06/2016 e a partir de 01/07/2017 limites de 100.000 UFC/ml para CBT, MAPA (2011).

Os resultados encontrados no presente estudo foram satisfatórios comparados com a CBT descrita em estudo realizado por Ângelo e Colaboradores (2014), utilizando-se amostras de leite cru de tanques refrigerados recebidos por uma Cooperativa Agropecuária do município de São João Nepomuceno, MG. As amostras foram coletadas de quatro tanques coletivos em propriedades de associados da indústria de laticínio, obtendo uma variação nos resultados entre  $7,2 \times 10^3$  a  $8,8 \times 10^5$  UFC mL<sup>-1</sup>.

Comparando-se ainda com estudo da CBT descrita pela Revista Científica Agrarian UFGD da Grande Dourados-MS, que avaliou a qualidade microbiológica de amostras de leite cru e refrigerado, oriundos de laticínios do estado de Mato Grosso do Sul, e amostras de leite pasteurizado dos municípios de Aquidauana e Anastácio, produzidos por produtores que

recebem assistência técnica e comercializam o produto de maneira formal em laticínios, e de leite cru de produtores que comercializam de maneira informal e não recebem orientação técnica do programa Rio de Leite, foram coletadas no total 30 amostras de leite, sendo 10 amostras de cada grupo avaliadas, obtendo uma média de 843.000 UFC/mL (LUZ et al., 2011), resultados superiores comparados com os encontrados em nossa pesquisa.



**Figura 1:** Fotos tiradas após sete dias de crescimento em meio Ágar nutriente semeado com leite de industrializado codificadas com marca X e Y comercializadas na região, em estufa a 36°C. A, B e C, representam as triplicatas biológicas de leite industrializado da marca Y, apenas (a marca X não apresentou crescimento de microbiota aeróbica).

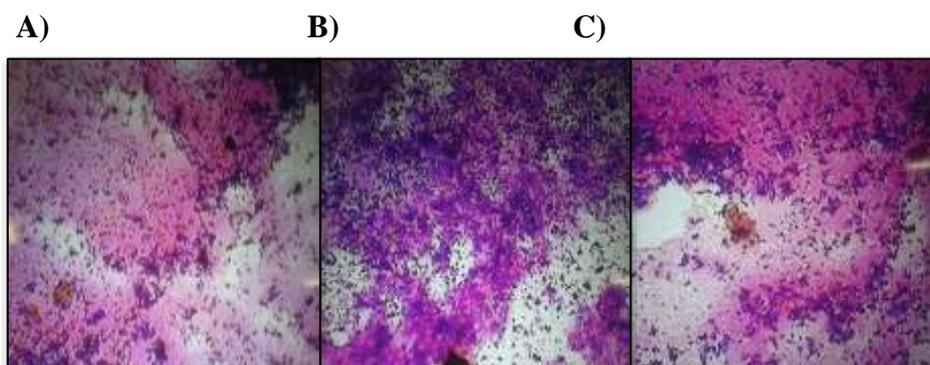
Pode-se observar nas amostras de leite codificadas com a marca Y (figura 1), do leite industrializado UHT uma pequena quantidade de bactérias crescidas, mas que ainda estão dentro dos limites aceitáveis pela portaria SUS/MS N° 451/97 que estipulou como limite a contagem de 100 UFC/mL (Brasil 1997). Convém ressaltar que foi impossível realizar a CBT destas amostras, uma vez que não houve crescimento de colônias isoladas de bactérias nas primeiras 24 horas, conforme exigido pelo método. A colônia observada na figura precisou de sete dias de crescimento em estufa, para chegar ao nível de crescimento observado.

No que se diz respeito à saúde pública, a microbiota do leite também é importante, pois várias zoonoses podem ser transmitidas ao homem por agentes etiológicos presente no leite cru e mal pasteurizado. Para eliminar a microbiota do leite, ou reduzi-la a nível aceitáveis, os tratamentos térmicos são de importância fundamental (MENEZE et al., 2014).

Pesquisas realizadas em amostras de leite tratadas pelo sistema UAT 100% das 79 amostras obtidas em estabelecimentos comerciais nos três estados da região sul do Brasil, foram definidas como positivas para contaminação por Aflatoxina M<sup>1</sup>, e 56,9 % (45) apresentaram

níveis acima dos limites permitidos pela legislação da União Europeia, (OLIVEIRA et al., 2010).

Já para pesquisa da microbiota aeróbica, as placas ficaram por 96 horas em estufa a 36°C em (0,1ml da amostra de leite foram distribuídos em cada placa), depois de crescidas nessas condições realizou-se a construção das lâminas para coloração de Gram, as fotos foram tiradas em microscópio óptico com aumento de 400 vezes (figura 2).



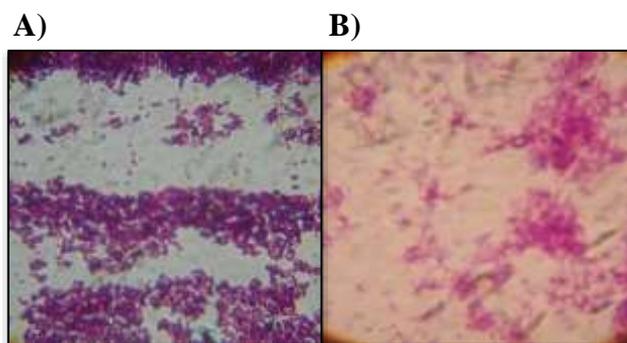
**Figura 2: Pesquisa da Microbiota Aeróbica.** Fotos tiradas de lâminas construídas com amostras após 96 horas em estufa a 37°C e coradas por Gram, foram semeados 0,1ml de diferentes amostras de leite coletado do tanque em A, B e C.

Na Figura 2 pode-se observar a presença de *Bacilos e Cocos* Gram Positivos e Gram Negativos e com predominância maior aos microrganismos Gram Negativos.

Em estudo realizado por Tebaldi e Colaboradores (2008), a maioria dos microrganismos contaminantes do leite inclui patógenos humanos que são membros da família *Enterobacteriaceae*, Gram Negativos. Os casos de diarreias mais frequentemente diagnosticadas são causados por *Shigella*, *Escherichia coli* e *Salmonella*. *Klebsiella pneumoniae* é causa frequente de doenças respiratórias e *Yersinia Pseudotuberculosis* está associada a enterocolites e peritonites. As fontes mais comuns de contaminação por esses grupos de bactérias, especialmente coliformes que incluem os gêneros *Escherichia*, *Klebsiella*, *Enterobacter* e *Cetrobacter*, são fezes (de origem humanas e animal), através de funcionários, água e containers.

Segundo Reis (2013), as bactérias Gram Negativas são relatadas como microrganismos psicotróficos de maior incidência em leite cru refrigerado, visto como principais representantes os gêneros: *Acinetobacter*, *Achromobacter*, *Aerobacter*, *Aeromonas*, *Alcaligenes*, *Chromobacterium*, *Flavobacterium*, *Pseudomonas*, *Salmonella* e *Yersinia*. E com

menor ocorrência, as bactérias Gram Positivas também podem ser encontradas no leite cru refrigerados, sendo: *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Corynebacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *listeria*, *Microbacterium*, *Micrococcus*, *Staphylococcus* e *Streptococcus*.

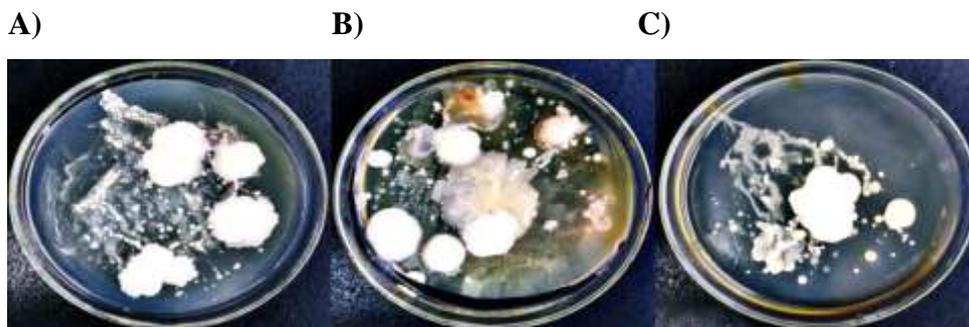


**Figura 3: Pesquisa da Microbiota Aeróbica.** Fotos tiradas do leite industrializado utilizando duas amostras de marcas codificadas em X e Y (nas fotos, apenas Y), as placas ficaram por sete dias em estufa a 37°C, e coradas por Gram.

Na figura 3 pode-se observar a presença de *cocos* Gram Negativos e Gram Positivos, com predominância maior aos microrganismos Gram Negativos. As fotos foram tiradas em microscópio óptico com aumento de 400 vezes, e 0,1ml da amostra de cada leite foram distribuídos nas placas.

O procedimento de UAT tem como objetivo destruir todas as células viáveis presentes no alimento. Porém, ressalta-se que tecnicamente o leite que passa pelo processo de ultra pasteurização não sofre esterilização integral, uma vez que bactérias extremamente termo resistentes, como o *Bacillus sporothermodurans* pode permanecer no produto final. O regulamento técnico de identidade e qualidade de leite UAT, determina que em relação as condições microbiológicas, o leite UAT não poderá apresentar microrganismos aptos a proliferar em condições normais de armazenamento, durante sete dias após a incubação da embalagem fechada a 35-37°C, no máximo o número de microrganismos aeróbios mesófilos deve ser de 100 UFC/mL ( PEREIRA et al., 2013), permitindo que se conclua que, mesmo apresentando o aparecimento de microbiota aeróbica no leite da marca Y, industrializado, o mesmo se encontra dentro dos padrões microbiológicos considerados normais pela normativa regulatória vigente.

Para pesquisa da microbiota fúngica, foram coletadas amostras em triplicata diretamente do tanque receptor de leite da Cooperativa local, bem como das amostras industrializadas Xe Y, e realizada a semeadura de 0,1mL em Ágar Sabouraud Dextrose.



**Figura 4: Pesquisa da Microbiota Fúngica.** Fotos tiradas após sete dias de crescimento em meio Ágar Sabouraud Dextrose semeado com leite coletado direto do tanque, em estufa a 36°C. A, B e C, representam as triplicatas biológicas coletadas diretamente do tanque.

Pode-se observar nas diferentes repetições de amostras obtidas diretamente do tanque (figura 4), colônias crescidas com aspectos esférico, ovóides, cerebriformes e de coloração branco amarelado, além de contaminação bacteriana assim como em estudo realizado por Dorneles (2010), utilizando-se amostras de leite de ovelha coletadas diretamente do tanque, observou-se também a presença de diferentes colônias de fungos e bactérias em ágar Sabouraud, todas com aspecto cremoso, sem a presença de colônias em forma de “bolor”. As amostras X e Y não apresentaram nenhum tipo de crescimento de microbiota fúngica (dados não mostrados).

As leveduras são fungos que apresentam formas variadas, cilíndrica, esféricas, piniformes, ovóides, geralmente se reproduzem por brotamentos, algumas leveduras apresentam grânulos de gordura, albuminóides ou amiláceos. A exigência de umidade das leveduras é maior se comparadas com a maioria dos bolores e menor se comparadas as bactérias. As leveduras multiplicam-se melhor quando estão em anaerobiose, porém os tipos fermentativos desenvolvem-se também em aerobiose, com relação á temperatura considerada ideal para a multiplicação das leveduras pode-se citar uma faixa entre 25°C a 30°C, um pH ácido favorece o seu desenvolvimento, o tempo de geração corresponde de 2 a 3 horas, sendo maior que o das bactérias e inferior ao dos bolores que multiplicam-se mais lentamente que as leveduras (MAIESKI, 2011), o que pode explicar a ausência de bolores nas amostras analisadas nesses estudo.

Os resultados obtidos pelo teste de acidez titulável, realizado pelo método de graus Dornic (°D) utilizando-se amostras de 200 mL de leite cru e refrigerado, coletada diretamente do tanque de expansão obteve como resultado os valores 17 °D e pH 6,8; para as amostras de

leite industrializado, X e Y obtiveram os valores de 18°D e pH 6,8 e 19°D e pH 6,6, respectivamente, conforme pode ser observado na tabela 4.

**Tabela 4: Teste da acidez titulável e pH.** Análise de pH e graus Dornic realizada em amostras de leite cru refrigerado e industrializada.

<b>Amostra</b>	<b>pH<sup>1</sup></b>	<b>Graus Dornic</b>
<b>Leite cru</b>	6,8	17
<b>Industrializado (X)</b>	6,8	18
<b>Industrializado (Y)</b>	6,6	19
<b>Média</b>	6,73	18
<b>D. Padrão</b>	0,11±	1

1: Pode haver uma variação de 0,2 tanto para mais ou menos no pH do leite estudado

A verificação da acidez do leite é feita assim que o mesmo chega na indústria, através de métodos quantitativos que consistem em medir o teor de ácido no leite. A acidez titulável é estabelecida por uma titulação ácido-base, usando uma solução padrão de hidróxido de sódio 0,111 N como titulante, verifica-se o volume de hidróxido de sódio para neutralizar o ácido láctico presente no leite, extraindo-se assim os resultados da titulação expressa em gramas de ácido láctico/100mL. Países como França e Holanda, a acidez é expressa em graus Dornic (°D), e esta forma de expressar a acidez, também é utilizada no Brasil, sendo que 1 °D equivale a 0,01 % de ácido láctico. De acordo com a IN 62 é considerado normal o leite que apresenta acidez entre 0,14 % a 0,18 % ou 14 °D a 18 °D. E em termos de valores de pH, este espaço correspondente a faixa pH de 6,6 a 6,8 ( DIAS; ANTES, 2014).

Silveira e Bertognolli (2014) relata que os resultados obtidos em sua pesquisa sobre o leite cru comercializado informalmente nas feiras livres do município de Santa Maria, em relação a acidez titulável, variaram de 0,14 a 0,33g de ácido láctico/100mL verificando que 80% das 10 amostras apresentaram acidez superior a 0,18g de ácido láctico/100mL. Sabe-se que há uma tendência de crescimento de acidez por causa do desdobramento de lactose em ácidos, gerando o aumento de ácido orgânicos, em específico o ácido láctico consequente da fermentação da lactose pelo metabolismo microbiano. Sendo assim um parâmetro de indicio indireto de carga bacteriana encontrada no leite, sugerindo que o leite tenha sido obtido em condições inadequadas e sob conservação de refrigeração deficiente.

Ao ser ordenhado o leite não demonstra nenhuma fermentação, após algum tempo por ação da temperatura passa a gerar um tipo de fermento que é avaliado pela acidez, assim sendo, é atribuído a acidez a perda do leite nas usinas no momento que a fermentação produzida ultrapassa 1,8 gramas por litro ou 18 °D graus Dornic ( RODRIGUES, et al., 2013).Diante, ainda, dos estudos feitos por Dias e Antes (2014), e Rodrigues (2013), os valores de pH e acidez titulável obtidos nesse estudo, tanto nas amostras de leite cru como nas amostras de leite industrializado, estão dentro dos parâmetros determinado pela Instrução Normativa (IN 62), sendo que a relativa diminuição no pH do leite industrializado Y, pode ser explicada pela presença da microbiota aeróbica comprovada pelas figuras 1 e 3.

## **CONCLUSÃO**

O leite cru refrigerado e as amostras industrializadas analisadas atenderam ao padrão microbiológico legal. Bactérias Gram-negativas foram isoladas com maior frequência dentre os diferentes tipos de amostras analisadas. A microbiota fúngica se mostrou ausente em todos os testes com o leite industrializado, sendo presente na análise de leite cru, dentro do esperado. Análises bioquímicas se mostraram dentro do padrão esperado. Assim, fica comprovado que investimentos contínuos em boas práticas para prevenção da contaminação e do crescimento microbiano, bem como os programas de pagamento por qualidade existente na indústria, colaboram para reduzir problemas tecnológicos e econômicos na indústria de laticínios.

## **AGRADECIMENTOS**

Os autores agradecem à Cooperativa CooperAgro de Rubiataba-Go, pelo fornecimento de amostras e apoio à pesquisa, indispensável na execução deste trabalho.

## **REFERÊNCIAS.**

ÂNGELO, F. F. et al. Bactérias Psicrotóxicas em Leite Cru refrigerado. **Rev. Científica de Medicina Veterinária- ISSN:1679-7353**. Jan. 2014.

BRASIL. Portaria nº451, de 19 de Setembro de 1997. Estabelece padrões microbiológicos de alimentos. **Diário Oficial** (da República Federativa do Brasil), Brasília, 22 set. 1997.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 62, de 29 de dezembro de 2011. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília**, p. 6, Seção 1, 30 de dez, 2011.

DIAS, J. A; ANTES, F. G. Qualidade Física – Químico, Higiênico Sanitário e Composicional do Leite Cru, Indicadores e Aplicações Práticas da Instrução Normativa 62. **Documentação 158 Porto Velho. RO, EMBRAPA**, Out. 2014.

DORNELES, A. S. **Fungos e bactérias em leite de ovelhas**. Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciências veterinárias. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Veterinária, Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinária, Porto Alegre. 50 f. 2010.

FIALHO, T. L. et al. Evolução da Qualidade do Leite de Cooperativas da Região do Alto Paranaíba Perante a Instrução Normativa 51. **Rev. Inst. Latic. Candido Toste**. n. 385, 67: p. 53-57, Mar/Abr. 2012.

FREITAS, J. A; OLIVEIRA, J. P; GALINDO, G. A. R. Avaliação da qualidade higiênico-sanitária do leite exposto ao consumo na região metropolitana de Belém-PA. **Rev. Instituto Adolfo Lutz (Impresso)**, v. 64, n. 2, p. 212-218, 2005.

KRIEG, N.R. & HOLT J.C. **Bergey's Manual of Sistematic Bacteriology**. 9<sup>th</sup> ed. Williams and Wilkins, Baltimore. p. 984, 1994.

LUZ, D. F. et al. Avaliação microbiológica em leite pasteurizado e cru refrigerado de produtores da região do alto Pantanal Sul-Mato-Gorssense - Dorados **Rev. Agrarian**, v.4,n.14, p.367-374, 2011.

MAIESKI, L. M. **Os Principais Microrganismos Patogênicos que afetam a Qualidade do Leite**. Trabalho de conclusão de curso, apresentado como requisito para obtenção do título de especialista produção, Tecnologia e higiene de alimentos de origem animal da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 35 f. 2011.

MAPA. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento – Gabinete do Ministro. **Instrução Normativa N° 62, de 29 de Dezembro de 2011.**

MARTINS, M. E . P. et al. Qualidade de leite cru produzido e armazenado em tanques de expansão no Estado de Goiás. **Ciência Animal Brasileira**, v.9, n. 4, p. 1152-1158, out./dez. 2008.

MENEZE, M. F. C. et al. Microbiota e Conservação do leite. **Rev. REGET-** v. 18. p. 76-89 Ed. Especial Mai. 2014.

MURRAY, P.R. et al. Manual of Clinical Microbiology. **7<sup>th</sup> ed. American Society of Microbiology, Washington.** p. 1773. 1999.

OLIVEIRA, M. S. et al. **Validação de Metodologia Analítica para Análise de Aflatoxina M<sup>1</sup> e Sua Ocorrência no Leite Bovino Comercializado no Sul do Brasil.** Dissertação apresentada ao programa de pós-graduação em Ciências e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal de Santa Maria – UFSM – Rio Grande do Sul. 105 f. 2010.

PACHECO, D.R. et al. Avaliação da atividade antifúngica de Curcuma Longa sobre Candida parapsilosis. **Rev. Patol. Trop.** Vol. 44 (33): 258-270. Jul- Set. 2015.

PAULA, F. P.; CARDOSO, C. E; RANGEL, M. A. C. Análise físico-químico do leite cru refrigerado proveniente das propriedades leiteiras da região sul fluminense. **Rev. Eletrônica TECCEN, vassouras**, v. 3, n. 4, p. 7-8, out/dez. 2010.

PEREIRA, J. R. et al. Microbiota Mesófila Aeróbica Contaminante do Leite UHT. **Rev. Inst. Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 68, n°. 394, p. 25-31, set/out. 2013.

QUINN, P.J.; CARTER, M.E.; MARKEY B. & CARTER G.R. Clinical Veterinary Microbiology. **Wolfe Publishing**, London. p. 648. 1994.

REIS, K. T. M. G. et al. **Qualidade Microbiológica de Leite Cru e Pasteurizado Produzido no Brasil: Revisão.** Universidade Norte do Paraná, Mestrado em Ciências e Tecnologia do Leite, PR, Brasil, 2013.

RODRIGUES, E. et al. Manual Técnico 37 ISSN 1983- 5671 Programa Rio Rural. **Secretária de Estado de Agricultura e Pecuária Superintendência de Desenvolvimento Sustentável.** Niterói – RJ, 2013.

SANTOS, T. M. F. et al. Contagem de Células Somáticas e bacteriana do Leite Cru e Refrigerado Individual e Comunitário de Propriedades Rurais do Vale do Rio Doce –MG. **Rev. V SIMPAC** – v. 5, n. 1, p. 325-330 Viçosa-MG. Jan- Dez 2013.

SCHALM, G.N. & NOORLANDER, D.D. Experiments and observations leading to development of the California Mastitis Test. **J. Am. Med. Assoc.** v. 130, n. 199-204, 1957.

SILVA, M. C. D. et al. Caracterização microbiológica e físico-química de leite pasteurizado destinado ao programa do leite do Estado de Alagoas. **Rev. Ciênc. Tecnol. Aliment., campinas**, v. 1, n. 28, p. 226-230, Jan. 2008.

SILVA, T. T. **Trabalho de conclusão de curso Mastite Bovina e sua relação com a produção e composição do leite.** 2014. 37 f. Trabalho de Conclusão do Curso de Graduação em Zootecnia da Universidade Federal de Goiás.

SILVEIRA, Márci Liliane Rippel, and Silvana Maria Michelin Bertagnolli. "Avaliação da qualidade do leite cru comercializado informalmente em feiras livres no município de Santa Maria-RS." **Vigilância Sanitária em Debate**, v. 2 n. 2, p. 75-80, 2014.

TEBALDI, V. M. R. et al. Isolamento de Coliformes, *estafilococos e enterococos* de leite cru provenientes de tanques de refrigeração por expansão comunitários: identificação, ação lipolítica e Proteolítica. **Ciênc. Tecnol. Aliment., campinas**, v. 3 n. 28, p. 753-760, Jul - Set. 2008.

VENTURINI, K. S; SARCINELLI, M. F; SILVA, L. C. Características do Leite. **Boletim Técnico** – PIE-UFES: 01007 – Editado: 26.08.2007, Universidade Federal do Espírito Santo – UFES, 2007a.

VIEIRA, L. C; KANEYOSHI, C. M; FREITAS, H. Criação de gado leiteiro na zona Bragantina- Qualidade do leite. **sistema de Produção 02. [S.I]: EMBRAPA**, dez. 2005.