
Artigo**QUALIDADE DO LEITE CRU DOS TANQUES DE EXPANSÃO INDIVIDUAIS E COLETIVOS DE UM LATICÍNIO DO MUNICÍPIO DE RIO POMBA, MG - UM ESTUDO DE CASO****Raw milk quality of individual and collective expansion tanks of a dairy industry located in Rio Pomba, Minas Gerais, Brazil - a case study***Maurilio Lopes MARTINS^{1*}**Jéssica Fernandes CARVALHAES²**Leandro Jader dos SANTOS³**Nathânia de Sá MENDES⁴**Eliane Maurício Furtado MARTINS⁵**Gisele Inocêncio Pereira e MOREIRA⁶***RESUMO**

Esse trabalho objetivou avaliar a qualidade microbiológica e físico-química e verificar a ocorrência de substâncias inibidoras do crescimento microbiano no leite cru procedente dos tanques de expansão individuais e coletivos de uma indústria de laticínios localizada no Município de Rio Pomba, Minas Gerais. Coletou-se 36 amostras de leite cru de 12 tanques de expansão em três repetições. Foram determinadas as contagens de micro-organismos mesófilos aeróbios, psicrotróficos e psicrotróficos proteolíticos. Também foi determinada a contagem de células somáticas, a ocorrência de pus e de substâncias inibidoras do crescimento microbiano, além da composição físico-química do leite. Constatou-se que 80,0% das amostras não atenderam aos padrões estabelecidos pela Instrução Normativa n.º 51, devido a contagem de micro-organismos mesófilos aeróbios (UFC.mL⁻¹) e de células somáticas (células.mL⁻¹) estarem acima de $7,5 \times 10^5$, além de ser constatada a presença de pus e de substâncias inibidoras do crescimento microbiano em algumas amostras. Além disso, a contagem de micro-organismos psicrotróficos e psicrotróficos proteolíticos foi elevada, o que inviabiliza o direcionamento do leite para a produção de alguns derivados como queijo, leite UHT, dentre outros. Entretanto, não foi constatada irregularidades nos teores médios de proteína, gordura, lactose, extrato seco total e extrato seco desengordurado. Portanto, é necessária a implementação de

-
- 1 Doutor em Microbiologia Agrícola. Professor, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sudeste de Minas Gerais (IF Sudeste MG), Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Rio Pomba, Minas Gerais, Brasil. E-mail: maurilio.martins@ifsudestemg.edu.br
 - 2 Graduanda em Tecnologia em Laticínios, IF Sudeste MG, Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Rio Pomba, Minas Gerais, Brasil. E-mail: jessicacsa@hotmail.com
 - 3 Tecnólogo em Laticínios. Gerente de Laticínios IF Sudeste MG, Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Rio Pomba, Minas Gerais, Brasil. E-mail: leandrojaderdossantos@yahoo.com.br
 - 4 Graduanda em Tecnologia em Laticínios, IF Sudeste MG, Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Rio Pomba, Minas Gerais, Brasil. E-mail: nathimendes@hotmail.com
 - 5 Doutora em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Professora do IF Sudeste MG, Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Rio Pomba, Minas Gerais, Brasil. E-mail: eliane.martins@ifsudestemg.edu.br
 - 6 Doutora em Microbiologia Agrícola. Professora do IF Sudeste MG, Departamento de Educação, Rio Pomba, Minas Gerais, Brasil. E-mail: gisele.moreira@ifsudestemg.edu.br
- * Autor para correspondência: IF Sudeste MG. Campus Rio Pomba. Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos do IF Sudeste MG. Avenida Dr. José Sebastião da Paixão, s/n, Bairro Lindo Vale, Caixa Postal 45. Rio Pomba, Minas Gerais, Brasil. CEP: 36180-000. E-mail: maurilio.martins@ifsudestemg.edu.br

Recebido/ Received: 24/09/2012**Aprovado / Approved: 29/04/2013**

boas práticas agropecuárias durante a obtenção, armazenamento e transporte do leite cru para que o laticínio receba matéria prima de melhor qualidade. Consequentemente obtenha maior retorno financeiro em decorrência de redução das perdas de rendimento na produção de queijos, principal produto processado pelo mesmo, além da obtenção de produtos de melhor qualidade sensorial e inócuos aos consumidores.

Palavras-chave: micro-organismos; granelização; qualidade higiênico sanitária.

ABSTRACT

This study aimed to evaluate the microbiological and physico-chemical quality, and verify the occurrence of microbial growth inhibitors in raw milk maintained in expansion tanks of a dairy industry located in Rio Pomba, Minas Gerais, Brazil. It was collected 36 samples of raw milk from 12 expansion tanks in three replicates and determined the count of mesophilic aerobic, psychrotrophic and proteolytic psychrotrophic microorganisms. It was also determined the somatic cell count, the occurrence of pus and inhibitors of microbial growth in milk samples. Moreover, it was determined physico-chemical composition of milk. It was found that 80.0% of samples were in disagreement with standards established by Normative Instruction n.º 51, once mesophilic microorganisms and somatic cells counts were above $7,5 \times 10^5$, in addition to the presence of pus and microbial growth inhibitors substances. Also, the count of psychrotrophic and proteolytic psychrotrophic microorganisms were high, which compromises production of dairy products such as cheese, UHT milk, among others. However, we found no irregularities in levels of protein, fat, lactose, and total solids. Therefore, the implementation of good agricultural practices during handling, storage and transportation of raw milk to the dairy industry is necessary in order to minimize financial losses during production and to obtain better quality and safety of dairy products.

Keywords: microorganisms; bulk milk; sanitary hygienic quality.

1 INTRODUÇÃO

O leite está entre os produtos mais importantes da agropecuária brasileira e seus derivados desempenham um papel relevante no suprimento de alimentos e na geração de emprego e renda para a população. Entretanto, um dos principais entraves para o crescimento do setor leiteiro no Brasil ainda é a precariedade higiênico sanitária de sua produção e, consequentemente, a baixa qualidade microbiológica do leite cru que se traduz na limitação para o processamento, rendimento e aceitabilidade dos derivados lácteos (HEMME; OTTE, 2010).

A análise laboratorial mais utilizada para monitorar a qualidade microbiológica do leite cru é a contagem padrão em placas de micro-organismos mesófilos aeróbios, que quantifica o número de células viáveis de micro-organismos presentes no leite cru, que o acessam quando há falhas nos processos de produção, ordenha e armazenamento (NERO et al., 2009).

Desde 2002, com a implementação da Instrução Normativa n.º 51 e a exigência da refrigeração do leite cru nas propriedades rurais, houve grandes benefícios à qualidade deste alimento destinado aos laticínios, uma vez que a sua refrigeração na fonte de produção reduz drasticamente a multiplicação de micro-organismos mesófilos e a acidificação do leite. Entretanto, esse procedimento torna propício a seleção e multiplicação de micro-organismos psicrotóxicos, que são capazes de se desenvolverem em temperaturas abaixo de 7°C, independentemente da sua temperatura ótima de crescimento (MARTINS et al., 2005).

A presença e a multiplicação dessa microbiota deterioradora podem provocar inúmeras alterações físico-químicas no leite, podendo interferir na sua durabilidade, alterar as características sensoriais do mesmo e causar perdas de rendimento na produção de seus derivados. Consequentemente, problemas econômicos significativos são gerados para a indústria de laticínios (BARBOSA et al., 2009).

Além disso, a qualidade do leite cru pode ser influenciada por diversos fatores, entre os quais se destacam os zootécnicos associados ao manejo, alimentação, potencial genético dos rebanhos e outros relacionados à obtenção e armazenamento do leite. Neste contexto, a mastite, doença comumente desenvolvida por vacas leiteiras, exerce influência prejudicial sobre a composição e as características físico-químicas do leite e na maioria das vezes é acompanhada por um aumento na contagem de células somáticas (CCS) (SANTOS; FONSECA, 2001).

O tratamento da mastite e de outras doenças infecciosas em vacas leiteiras normalmente é feito por meio do uso de antibióticos, o que possibilita a ocorrência de resíduos dessas substâncias no leite dos animais em tratamento, durante um determinado período. A presença ou ausência de antibióticos faz parte dos quesitos de qualidade química do leite, interferindo com a produção e qualidade dos derivados lácteos, uma vez que podem provocar transtornos na acidificação do leite durante os processos fermentativos. Além disso, são vários os impactos decorrentes da presença de resíduos de

antibióticos nos alimentos consumidos pela população tais como: modificação da microbiota intestinal, seleção de micro-organismos resistentes aos mesmos, alergias e intoxicações alimentares (TENÓRIO, 2007).

Por outro lado, resíduos de detergentes e sanitizantes também são comumente encontrados no leite, podendo trazer prejuízos à indústria de laticínios devido ao comprometimento dos processos fermentativos, além de prejudicar a saúde dos consumidores. Desta forma, métodos rápidos para a detecção de resíduos de antibióticos e de substâncias inibidoras do crescimento microbiano são incorporados entre as análises de rotina para triagem do leite pelas indústrias de laticínios (BRASIL, 2011).

Assim, esse trabalho objetivou avaliar a qualidade microbiológica e físico-química e verificar a ocorrência de substâncias inibidoras do crescimento microbiano no leite cru procedente dos tanques de expansão individuais e coletivos de uma indústria de laticínios localizada no Município de Rio Pomba, Minas Gerais.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi desenvolvido nos laboratórios de Microbiologia de Alimentos e de Físico-química do Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sudeste de Minas Gerais (IF Sudeste MG) - Campus Rio Pomba. Além disso, amostras também foram analisadas no Laboratório de Qualidade do Leite da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA Gado de Leite de Juiz de Fora, MG, a pedido da indústria de laticínios parceira deste projeto.

Caracterização e coleta das amostras de leite cru

Foram coletadas no período de abril a setembro de 2011, em parceria com uma indústria de laticínios, 36 amostras de 200 mL de leite cru refrigerado de seus 12 tanques de expansão, sendo estes individuais ou coletivos, localizados no Município de Rio Pomba, MG, totalizando três repetições. Em seguida, as amostras foram devidamente transportadas sobre refrigeração em caixa isotérmica e gelo para os laboratórios do IF Sudeste MG - Campus Rio Pomba.

Determinação da população de micro-organismos mesófilos aeróbios, psicrotróficos e psicrotróficos proteolíticos

A população de micro-organismos mesófilos aeróbios foi determinada de acordo com o estabelecido na Instrução Normativa n.º 62 (BRASIL, 2003), sendo o plaqueamento realizado em Ágar Padrão para Contagem (PCA), seguido de incubação a 36°C por 48 horas. A contagem de micro-organismos psicrotróficos e psicrotróficos proteolíticos foi realizada de acordo

com Frank et al. (1992), sendo utilizado o Ágar Caseinato para Métodos Padronizados (SMCA) e incubação a 6,5°C por 10 dias.

Determinação da contagem de células somáticas do leite cru granelizado

As contagens de células somáticas do leite cru foram determinadas por citometria de fluxo utilizando-se o aparelho Somacount 300 de acordo com as recomendações da Federação Internacional de Laticínios (IDF, 1995). Essa análise foi realizada pela EMBRAPA Gado de leite em Juiz de Fora, MG, e custeada pela empresa parceira deste trabalho.

Diagnostico da ocorrência de pus no leite cru granelizado

Inicialmente, transferiu-se 0,1 mL da amostra de leite para uma placa de Petri. Posteriormente, acrescentou-se 0,1 mL de NH₄OH p.a, 26% (m/v). Após 30 segundos, adicionou-se uma gota de fucsina Ziehl a 50% hidroalcolica e, em seguida, acrescentou-se 10 mL de água destilada na superfície da placa de Petri (BRASIL, 2006). Na ausência de pus, o líquido permaneceu levemente rosado e transparente e, em caso positivo, apareceram filamentos, grumos avermelhados ou véus, na mistura de análise.

Determinação da ocorrência de substâncias inibidoras do crescimento microbiano no leite cru

Inicialmente, as amostras de leite cru foram tratadas a 80°C por 10 minutos para inativar possíveis inibidores inespecíficos do crescimento microbiano como lisozima, lactoferrina, dentre outros para evitar resultados falso-positivos. Posteriormente, os microtubos do *kit* COPAN contendo a suspensão de esporos foram identificados com o número da amostra de leite e, então, foram adicionados exatamente 0,1 mL da amostra no microtubo, com o auxílio de uma micropipeta de plástico descartável. Em seguida, os microtubos contendo as amostras foram incubados em banho-maria de forma que o nível da água estivesse a 0,5 cm acima do nível do meio de cultura. As amostras foram mantidas em banho-maria à 64°C ± 0,5°C por 3 horas. Para a interpretação dos resultados, observou-se a cor da parte inferior correspondente a 2/3 do ágar sólido nos microtubos depois de decorrido o tempo de incubação requerido. Na presença de antimicrobianos, o micro-organismo *B. stearothermophilus* var. *calidolactis* é inibido e não há alteração do pH, o meio permanece violeta, obtendo-se, assim, resultado positivo. Na ausência de antimicrobianos detectáveis pelo teste, o micro-organismo multiplica-se, acidifica o meio de cultura e altera sua coloração que passa de violeta para amarelo, resultado negativo (MENDES et al., 2008). A bactéria utilizada no *kit* apresenta sensibilidade à penicilina, dentre outros

antibióticos do grupo β -lactâmico, bem como a agentes sanitizantes rotineiramente empregados na indústria de laticínios.

Qualidade físico-química do leite cru granelizado

As amostras de leite cru destinadas à análise de composição centesimal foram realizadas de acordo com a metodologia do Laboratório de Qualidade do Leite da EMBRAPA Gado de Leite, utilizando o método de espectrometria de absorção no infravermelho médio de acordo com IDF (2000).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Das amostras de leite cru refrigerado avaliadas (Tabela 01), observou-se que apenas dez (28,6%) apresentaram contagem média de micro-organismos mesófilos aeróbios de acordo com o estabelecido na Instrução Normativa n.º51 (BRASIL, 2002), a qual estava em vigor na época de realização deste trabalho e que preconizava contagem máxima de $7,5 \times 10^5$ UFC.mL⁻¹ deste grupo microbiano no leite cru. Entretanto, de acordo com a legislação atual, Instrução Normativa n.º62 (BRASIL, 2011), que preconiza no máximo $6,0 \times 10^5$ UFC.mL⁻¹ de micro-organismos mesófilos aeróbios, apenas 25,7% das amostras avaliadas estariam próprias para o processamento. Constatou-se ainda média geral de micro-organismos mesófilos aeróbios da ordem de 10^6 UFC.mL⁻¹ (Tabela 1), o que pode comprometer a qualidade do leite para o processamento industrial.

Silva et al. (2011), em um estudo sobre a microbiota contaminante do leite, observaram que após 24 horas de refrigeração as amostras de leite cru coletadas de tanques de resfriamento comunitário apresentaram um aumento nas médias de contagens de micro-organismos mesófilos de $6,1 \times 10^7$ UFC.mL⁻¹ para $4,5 \times 10^{10}$ UFC.mL⁻¹, o que demonstra um aumento de 3 ciclos logarítmicos na microbiota presente no leite ao longo do tempo armazenamento.

A elevada contaminação do leite cru refrigerado pode estar associada com procedimentos de higienização inadequados no sistema de produção. Além disso, o contato do leite com animais sujos, ambientes inadequados de produção, falhas na velocidade de resfriamento do produto para temperaturas inferiores a 4°C, assim como leite proveniente de animais com mastite podem resultar em contagens microbianas elevadas (PINTO et al., 2006).

A Instrução Normativa n.º62 estabelece, além de outras medidas, o resfriamento do leite após a ordenha (BRASIL, 2011). Essa prática reduz significativamente a multiplicação dos micro-organismos aeróbios mesófilos, porém, favorece a multiplicação da microbiota psicrotrofica (SANTANA et al., 2001). Neste trabalho, a média da contagem de micro-organismos psicrotróficos no leite cru

refrigerado de nove tanques (75%) foi superior a $6,0 \log$ UFC.mL⁻¹ (Tabela 1). Nesse contexto, porcentagens mais elevadas foram observadas por Santos; Fonseca (2003), que encontraram em 90% das amostras de leite cru refrigerado analisadas contagens de psicrotrofos superiores a $1,0 \times 10^6$ UFC.mL⁻¹. Entretanto, Santos et al. (2009) verificaram contagem de micro-organismos psicrotrofos superiores a $1,0 \times 10^6$ UFC.mL⁻¹ em apenas 17,5% das amostras avaliadas.

Neste estudo, a média geral da contagem de micro-organismos psicrotrofos foi de $6,2 \log$ UFC.mL⁻¹ (Tabela 1), resultado muito próximo do valor médio encontrado para a contagem de micro-organismos aeróbios mesófilos. Nero et al. (2009) também observaram em um estudo com 60 produtores em Viçosa, MG, que em 19,5% das propriedades as contagens estavam acima de $1,0 \times 10^5$ UFC.mL⁻¹ de micro-organismos psicrotrofos, o que pode comprometer a qualidade dos derivados produzidos em uma indústria de laticínios. Pinto et al. (2006) consideram que contagens de psicrotrofos acima de $1,0 \times 10^5$ UFC.mL⁻¹ já são suficientes para promover alterações significativas no leite e seus derivados.

Vale ressaltar que não existe legislação no Brasil que estabeleça padrões para a contagem de psicrotrofos (SILVA et al., 2011), embora a elevada população desses micro-organismos presentes no leite cru torna-se um fato preocupante, uma vez que as enzimas lipolíticas e proteolíticas produzidas por esta microbiota mantém sua atividade após os tratamentos térmicos do leite (ROSSI JÚNIOR et al., 2006). Como a refrigeração não inibe a multiplicação dos psicrotrofos, deve-se evitar a contaminação do leite pela adoção de boas práticas agropecuárias, de produção ou de ordenha em todo o processo produtivo.

Constatou-se neste trabalho que a contagem de micro-organismos psicrotrofos proteolíticos em seis amostras apresentaram médias próximas a $5,0 \log$ UFC.mL⁻¹ (50%), cinco amostras apresentaram médias próximas a $4,0 \log$ UFC.mL⁻¹ (41,7%) e somente uma amostra (8,3%) apresentou média próxima a $2,0 \log$ UFC.mL⁻¹ (Tabela 1). A média geral da contagem de psicrotrofos proteolíticos encontrada nas três repetições foi de $4,98 \log$ UFC.mL⁻¹ (Tabela 01). Portanto, esse trabalho apresentou um resultado muito semelhante ao encontrado por Bersot et al. (2010) na região Oeste do Paraná, uma vez que estes autores encontraram média de $4,85 \log$ UFC.mL⁻¹ para este grupo microbiano no leite.

Destaca-se que vários problemas tecnológicos, tais como alteração do sabor e aroma do leite, instabilidade térmica, perda de consistência e geleificação ao longo da vida comercial do leite UAT, redução significativa no rendimento da produção de queijos, dentre outros, ocorrem quando da utilização de leite contendo elevada contagem de micro-organismos psicrotrofos proteolíticos (ROSSI JÚNIOR et al., 2006; BARBOSA et al., 2009; FERREIRA et al.,

Tabela 1 – Contagens microbianas das amostras de leite cru granelizado procedentes dos tanques de expansão individuais e coletivos de um laticínio localizado no município de Rio Pomba, MG

Tanques	Mesófilos (UFC.mL ⁻¹)				Psicrotróficos (UFC.mL ⁻¹)				Psicrotróficos proteolíticos (UFC.mL ⁻¹)			
	R1	R2	R3	Média	R1	R2	R3	Média	R1	R2	R3	Média
101	5,7 x 10 ⁴	8,9 x 10 ⁴	1,5 x 10 ⁵	9,8 x 10 ⁴	5,5 x 10 ³	1,0 x 10 ²	7,2 x 10 ⁴	2,6 x 10 ⁴	5,0 x 10 ²	1,0 x 10 ²	1,2 x 10 ³	6,0 x 10 ²
102	1,6 x 10 ⁶	2,5 x 10 ⁷	2,3 x 10 ⁷	1,6 x 10 ⁷	1,7 x 10 ⁶	2,4 x 10 ⁶	3,2 x 10 ⁶	2,4 x 10 ⁶	3,1 x 10 ⁵	8,5 x 10 ⁵	1,1 x 10 ³	6,6 x 10 ⁴
103	2,0 x 10 ⁶	2,4 x 10 ⁶	1,7 x 10 ⁶	2,0 x 10 ⁶	1,0 x 10 ⁷	2,0 x 10 ⁶	2,7 x 10 ⁴	4,1 x 10 ⁶	8,7 x 10 ⁵	6,4 x 10 ⁵	3,2 x 10 ³	1,2 x 10 ⁵
104	1,6 x 10 ⁶	2,4 x 10 ⁶	3,2 x 10 ⁵	1,4 x 10 ⁶	1,3 x 10 ⁶	6,3 x 10 ⁵	1,8 x 10 ⁵	7,1 x 10 ⁵	7,1 x 10 ⁴	1,4 x 10 ⁵	3,4 x 10 ³	7,2 x 10 ⁴
105	1,5 x 10 ⁶	2,0 x 10 ⁷	1,7 x 10 ⁵	7,2 x 10 ⁶	1,6 x 10 ⁵	1,3 x 10 ⁷	1,0 x 10 ⁵	4,8 x 10 ⁶	1,2 x 10 ⁴	1,8 x 10 ⁶	7,9 x 10 ³	6,0 x 10 ⁵
106	2,0 x 10 ⁷	2,5 x 10 ⁷	2,5 x 10 ⁷	2,3 x 10 ⁷	2,3 x 10 ⁷	2,5 x 10 ⁶	1,7 x 10 ⁵	8,5 x 10 ⁶	5,7 x 10 ⁵	7,6 x 10 ⁵	5,1 x 10 ³	4,5 x 10 ⁵
107	8,3 x 10 ⁶	7,1 x 10 ⁵	8,7 x 10 ⁵	3,3 x 10 ⁶	1,8 x 10 ⁶	2,4 x 10 ⁵	1,0 x 10 ⁶	1,0 x 10 ⁶	1,0 x 10 ⁵	3,2 x 10 ⁴	1,4 x 10 ³	4,5 x 10 ⁴
108	9,8 x 10 ⁶	7,1 x 10 ⁶	1,0 x 10 ⁵	5,6 x 10 ⁶	2,1 x 10 ⁷	1,9 x 10 ⁶	5,2 x 10 ⁵	7,9 x 10 ⁶	1,4 x 10 ⁵	2,0 x 10 ⁴	2,1 x 10 ³	5,6 x 10 ⁴
109	1,3 x 10 ⁵	1,4 x 10 ⁶	8,1 x 10 ⁵	7,9 x 10 ⁵	1,7 x 10 ⁶	9,3 x 10 ⁵	4,0 x 10 ⁵	1,0 x 10 ⁶	1,2 x 10 ⁵	2,6 x 10 ⁵	3,7 x 10 ³	1,3 x 10 ⁵
110	2,1 x 10 ⁶	3,3 x 10 ⁶	---	2,7 x 10 ⁶	2,3 x 10 ⁶	1,2 x 10 ⁵	---	1,2 x 10 ⁶	5,2 x 10 ⁴	3,5 x 10 ⁴	---	4,4 x 10 ⁴
111	4,5 x 10 ⁶	1,1 x 10 ⁷	5,7 x 10 ⁵	5,5 x 10 ⁶	2,0 x 10 ⁶	8,9 x 10 ⁶	1,2 x 10 ⁵	3,7 x 10 ⁶	2,0 x 10 ⁵	8,9 x 10 ⁵	1,1 x 10 ⁴	3,6 x 10 ⁵
112	1,1 x 10 ⁶	1,2 x 10 ⁶	7,2 x 10 ⁴	7,7 x 10 ⁵	1,2 x 10 ⁶	2,0 x 10 ⁴	1,5 x 10 ⁶	9,3 x 10 ⁵	1,3 x 10 ⁵	5,0 x 10 ³	9,1 x 10 ²	4,6 x 10 ⁴
Mês	1,8 x 10 ⁶	3,4 x 10 ⁶	2,3 x 10 ⁵	2,7 x 10 ⁶	1,5 x 10 ⁶	4,6 x 10 ⁵	1,2 x 10 ⁵	1,6 x 10 ⁶	8,5 x 10 ⁴	8,9 x 10 ⁴	1,4 x 10 ³	9,5 x 10 ⁴

(R1): Primeira Repetição; (R2): Segunda Repetição; (R3): Terceira Repetição; (Mês): médias das contagens nos meses de coleta (Abril, Junho e Setembro de 2011); (---): Não houve coleta.

2012). Portanto, faz-se necessário o desenvolvimento de metodologias para detecção rápida e precisa da proteólise do leite a fim de direcioná-lo adequadamente ao processamento industrial.

Observou-se neste trabalho que a média geral de CCS foi de $5,70 \log$ células.mL⁻¹ (Tabela 2). Esse valor está de acordo com o preconizado pela Instrução Normativa n.º51 (BRASIL, 2002) e pela Instrução Normativa 62 (BRASIL, 2011). Entretanto, Lacerda et al. (2010) constataram nos Municípios de Miranda do Norte, Itapecurú-Mirim e Santa Rita, Maranhão que a CCS variou de 767.000 células.mL⁻¹ a $10.198.000$ células.mL⁻¹ com média de $2.629.950$ células.mL⁻¹, ou seja, contagens muito superiores às encontradas neste estudo.

Ribeiro et al. (2008) reforça que há a necessidade da adoção de medidas de profilaxia e controle de mastite e boas práticas para obtenção de leite de qualidade. No entanto, constatou-se presença de pus em 17,14% das amostras (Tabela 2), o que evidencia a ocorrência de mastite no rebanho leiteiro da região de Rio Pomba. Além disso, observou-se presença de substâncias inibidoras do crescimento microbiano em duas amostras de leite cru (5,7%), enquanto cinco

foram suspeitas (14,3%) e 28 apresentaram resultado negativo (80,0%). É importante ressaltar que essas substâncias ocasionam grandes perdas econômicas para a indústria de laticínios e sérios problemas de saúde.

Nero et al. (2007), em 210 amostras de leite cru refrigerado avaliadas de várias regiões do Brasil, constataram que 24 (11,4%) foram positivas para a presença de substâncias inibidoras do crescimento microbiano. Já, Martins et al. (2008), ao avaliarem a qualidade do leite cru em amostras coletadas de tanques de expansão no Estado de Goiás, não detectaram resíduos de antimicrobianos quando utilizaram o *kit* Delvotest® SP, que é semelhante ao *Kit* COPAM utilizado no presente estudo.

Segundo a Instrução Normativa n.º62 (BRASIL, 2011), a pesquisa de resíduos de antimicrobianos deve seguir os limites máximos previstos no Programa Nacional de Controle de resíduos. Assim, a utilização de testes simplificados e rápidos na detecção de resíduos de antibióticos é de extrema importância para determinar rapidamente o destino de um lote de leite (HILLERTON et al., 1999).

Tabela 2 – Contagem de células somáticas, ocorrência de pus e de substâncias inibidoras do crescimento microbiano nas amostras de leite cru granelizado procedentes dos tanques de expansão individuais e coletivos de um laticínio localizado no município de Rio Pomba, MG

Tanques	Células Somáticas (células/mL ⁻¹)				Pus			Substâncias inibidoras		
	R1	R2	R3	Média	R1	R2	R3	R1	R2	R3
101	$1,1 \times 10^6$	$4,7 \times 10^5$	$2,3 \times 10^5$	$4,9 \times 10^5$	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
102	$1,1 \times 10^6$	$1,0 \times 10^6$	$1,2 \times 10^6$	$1,1 \times 10^6$	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
103	$6,8 \times 10^5$	$6,6 \times 10^5$	$4,3 \times 10^5$	$5,7 \times 10^5$	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
104	$5,5 \times 10^5$	$5,4 \times 10^5$	$3,4 \times 10^5$	$4,7 \times 10^5$	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Suspeito	Negativo
105	$7,9 \times 10^5$	$2,4 \times 10^5$	$3,5 \times 10^5$	$4,1 \times 10^5$	Negativo	Positivo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
106	---	$2,4 \times 10^5$	$5,0 \times 10^5$	$3,5 \times 10^5$	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
107	$4,6 \times 10^5$	$4,8 \times 10^5$	$3,4 \times 10^5$	$4,2 \times 10^5$	Negativo	Negativo	Positivo	Negativo	Negativo	Suspeito
108	$7,2 \times 10^5$	$5,6 \times 10^5$	$4,7 \times 10^5$	$5,7 \times 10^5$	Negativo	Positivo	Negativo	Negativo	Positivo	Suspeito
109	$9,3 \times 10^5$	$6,4 \times 10^5$	$4,4 \times 10^5$	$6,3 \times 10^5$	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Suspeito	Negativo
110	$5,4 \times 10^5$	$4,1 \times 10^5$	---	$4,7 \times 10^5$	Negativo	Positivo	---	Negativo	Negativo	---
111	$3,5 \times 10^5$	$3,3 \times 10^5$	$2,4 \times 10^5$	$3,0 \times 10^5$	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Suspeito	Negativo
112	$6,6 \times 10^5$	---	$5,6 \times 10^5$	$6,0 \times 10^5$	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo	Negativo	Negativo
M mês	$2,2 \times 10^5$	$1,6 \times 10^5$	$1,4 \times 10^5$	$5,0 \times 10^5$	---	---	---	---	---	---

(R1): Primeira Repetição; (R2): Segunda Repetição; (R3): Terceira Repetição; (M mês): médias das contagens nos meses de coleta (Abril, Junho e Setembro de 2011).

Neste trabalho observou-se que não houve correlação nos resultados obtidos a partir das análises de pus, substâncias inibidoras do crescimento microbiano e CCS (Tabela 2).

Considerando os valores mínimos de proteína, gordura e extrato seco desengordurado (ESD) estabelecidos na Instrução Normativa n.º 51 (BRASIL, 2002), todas as amostras avaliadas estavam de acordo com o preconizado (Tabela 3). Os valores médios encontrados para lactose variaram de 4,28% a 4,59% (Tabela 3). A Instrução Normativa n.º 51 (BRASIL, 2002) e a Instrução Normativa n.º 62 (BRASIL, 2011) não estabelecem percentuais mínimos para este componente do leite, embora os valores obtidos estejam de acordo com o esperado.

Firmino et al. (2010) ao avaliarem as características físico-químicas do leite cru granelizado dos tanques de expansão da região de Rio Pomba, Minas Gerais, encontraram valores médios de sólidos totais entre 11,88% e 13,17%. Em relação ao teor de sólidos não gordurosos, os autores verificaram que os valores médios mantiveram-se acima de 8,4%, já em relação ao percentual de gordura houve variação de 2,9% a 4,6%, valores esses muito próximos aos encontrados neste estudo, que foi realizado na mesma região.

Contudo, quando da ocorrência de mastite no rebanho, podem ocorrer variações na composição físico-química, como por exemplo, redução da porcentagem de lactose do leite devido à menor síntese ocasionada pela destruição de tecido secretor, à perda de lactose da glândula mamária para a corrente sanguínea decorrente do aumento da permeabilidade da membrana que separa o leite do sangue e à utilização da lactose pelos patógenos intramamários (ZAFALON et al., 2007).

4. CONCLUSÕES

O leite cru refrigerado recebido pelo laticínio parceiro desse estudo apresentou baixa qualidade

higiênico-sanitária, o que compromete o seu processamento industrial bem como a obtenção de derivados lácteos seguros, de elevada qualidade sensorial e nutricional. Em decorrência das altas contagens microbianas, de células somáticas, presença de pus e de substâncias antimicrobianas no leite cru refrigerado granelizado, prejuízos econômicos significativos ocorrem na cadeia produtiva do leite, além de colocar em risco a saúde do consumidor. Portanto, a adoção de boas práticas agropecuárias e de fabricação é essencial em todo complexo produtivo do leite, para que se obtenha produtos de qualidade e seguros.

AGRADECIMENTOS

A equipe agradece à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) pelo apoio financeiro concedido para a execução desta pesquisa.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BARBOSA, J.B. et al. Avaliação de rendimento da produção dos queijos minas frescal, minas padrão e mussarela fabricados com leite inoculado com *Pseudomonas fluorescens*. *Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes*, Juiz de Fora, v.64, n.371, p.26-33, 2009.

BERSOT, L.S. et al. Quantificação de microrganismos indicadores de qualidade em leite cru e comportamento da microbiota ao longo do transporte. *Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes*, Juiz de Fora, v.65, n.373, p. 9-13, 2010.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Departamento de Inspeção de Produtos de origem Animal. Instrução Normativa n.º 51, de 18 de setembro de 2002. Aprova os Regulamentos Técnicos

Tabela 3 – Composição média do leite cru dos tanques de expansão individuais e coletivos de um laticínio localizado no município de Rio Pomba, MG

Tanques	Gordura (%)	Proteína (%)	Lactose (%)	EST (%)	ESD (%)
101	3,96	3,33	4,53	12,79	8,82
102	3,46	3,24	4,40	12,03	8,56
103	3,59	3,24	4,57	12,37	8,77
104	3,28	3,21	4,59	12,04	8,76
105	3,03	3,22	4,61	11,82	8,79
106	3,73	3,24	4,51	12,42	8,70
107	3,60	3,35	4,57	12,48	8,88
108	4,04	3,62	4,56	13,18	9,14
109	3,72	3,36	4,54	12,58	8,87
110	3,58	3,27	4,28	12,03	8,45
111	3,60	3,26	4,56	12,39	8,79
112	3,84	3,20	4,46	12,42	8,59
Média	3,62	3,30	4,51	12,38	8,76

(EST): Extrato seco total; (ESD): Extrato seco desengordurado.

- de Produção, Identidade e Qualidade do Leite tipo A, do Leite tipo B, do Leite tipo C, do Leite Pasteurizado e do Leite Cru Refrigerado e o Regulamento Técnico da Coleta de Leite Cru Refrigerado e seu Transporte a Granel. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 20 set. 2002. Seção I, p.13.
- _____. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº62, de 18 de setembro de 2003. Oficializa os Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 18 set. 2003. Seção I, p.14.
- _____. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Instrução Normativa nº68, de 12 de dezembro de 2006. Oficializa os Métodos Analíticos Oficiais Físico-Químicos, para Controle de Leite e Produtos Lácteos, em conformidade com o anexo desta Instrução Normativa, determinando que sejam utilizados nos Laboratórios Nacionais Agropecuários. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 14dez. 2006. Seção I, p.8.
- _____. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Departamento de Inspeção de Produtos de origem Animal. Instrução Normativa nº62, de 29 de dezembro de 2011. Aprova o Regulamento Técnico de Produção, Identidade e Qualidade do Leite tipo A, o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite Cru Refrigerado, Leite Pasteurizado e o Regulamento Técnico da Coleta de Leite Cru Refrigerado e seu Transporte a Granel. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 30 dez. 2011. Seção I.
- FERREIRA, A. A. et al. Influência da atividade enzimática de *Pseudomonas fluorescens* 041 em labneh. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v.67, n.385, p.17-24, 2012.
- FIRMINO, F.C. et al. Detecção de fraudes em leite cru dos tanques de expansão da região de Rio Pomba, Minas Gerais. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v.65, n.376, p.5-11, 2010.
- FRANK, J.F. et al. Tests for groups of microorganisms. In: MARSHALL, R.T. (Ed.). **Standard methods for the examination of dairy products**, 16th. Washington: American Public Health Association, 1992. p. 271-286.
- HEMME, T; OTTE, J. **Status and prospects for smallholder milk production – A global perspective**. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2010. 181 p..
- HILLERTON, J.E. et al. Detection of antimicrobial substances in individual cow and quarter milk samples using Delvotest microbial inhibitor tests. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.82, n.4, p.704-711, 1999.
- INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION (IDF). **Milk: Enumeration of somatic cell**. Brussels: IDF/FIL, 1995. (IDF Standard 148 A). 8p.
- _____. **Milk: International IDF Standard 141C: 2000: Whole milk – determination of milkfat, protein and lactose content**. Guidance on the operation of mid-infrared instruments. Brussels: FIL/IDF, 2000, 15 f.
- LACERDA, L.M. et al. Contagem de células somáticas, composição e contagem bacteriana total do leite de propriedades leiteiras nos Municípios de Miranda do Norte, Itapecurú - Mirim e Santa Rita, Maranhão. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.77, n.2, p.209-215, 2010.
- MARTINS, M.E.P. et al. Qualidade de leite cru produzido e armazenado em tanques de expansão no Estado de Goiás. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v.9, n.4, p.1152-1158, 2008.
- MARTINS, M.L. et al. Detection of the *apr* gene in proteolytic psychrotrophic bacteria isolated from refrigerated raw milk. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v.102, n.2, p.203-211, 2005.
- MENDES, C.G. et al. Resíduos de beta-lactâmicos no leite cru comercializado clandestinamente no Município de Mossoró, RN, utilizando o Delvotest SP. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.75, n.1, p.95-98, 2008.
- NERO, L.A. et al. Resíduos de antibióticos em leite cru de quatro regiões leiteiras no Brasil. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.27, n.2, p.391-393, 2007.
- _____; VIÇOSA, G.N.; PEREIRA, F.E.V. Qualidade microbiológica do leite determinada por características de produção. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.29, n.2, p.386-390, 2009.
- PINTO, C.L.O. et al. Qualidade microbiológica de leite cru refrigerado e isolamento de bactérias psicrotóxicas proteolíticas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.26, n.3, p.645-651, 2006.
- RIBEIRO, M.G. Princípios terapêuticos na mastite em animais de produção e de companhia. In: ANDRADE, S.F. (Ed.). **Manual de Terapêutica Veterinária**. 3.ed. São Paulo: Roca, 2008. p. 759-771.

ROSSI JÚNIOR, O.D. et al. Estudo das características microbiológicas do leite UAT ao longo de seu processamento. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.73, n.1, p.27-32, 2006.

SANTANA, E.H.W. et al. Contaminação do leite em diferentes pontos do processo de produção: I. Microorganismos aeróbios mesófilos e psicrotróficos. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v.22, n.2, p.145-154, 2001.

SANTOS, M.V.; FONSECA, L.F.L. Importância e efeito de bactérias psicrotróficas sobre a qualidade do leite. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v.15, n.82, p.13-19, 2001.

_____; _____. Granelização e resfriamento do leite e seu impacto sobre a qualidade. **Leite Derivados**, São Paulo, v. 12, n.71, p.35-44, 2003.

SANTOS, P.A. et al. Avaliação do tempo de armazenamento sobre parâmetros de qualidade do leite cru refrigerado. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v.64, n.367, p.35-41, 2009.

SILVA, L.C.C. et al. Rastreamento de fontes da contaminação microbiológica do leite cru durante a ordenha em propriedades leiteiras do Agreste Pernambucano. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v.32, n.1, p.267-276, 2011.

TENÓRIO, G.M.S.C. **Avaliação da eficiência do teste Copan (Microplate e Single) na detecção de resíduos de antimicrobianos no leite**. 2007. 71f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2007.