

Artigo

USO DA ÁGUA OZONIZADA NA SANITIZAÇÃO DOS TETOS DE BOVINOS E SUA INFLUÊNCIA NA QUALIDADE DO LEITE

Application of ozonated water for sanitizing cow teats and its influence on quality of milk

Daniel Augusto CAVALCANTE¹

Bruno Ricardo de Castro LEITE JÚNIOR^{2}*

Alline Artigiani Lima TRIBST³

Marcelo CRISTIANINI⁴

Viviane Ribeiro Pinheiro COELHO⁵

RESUMO

Este trabalho avaliou a eficiência da água ozonizada em comparação com a clorexidina na desinfecção de tetos dos bovinos e sua influência na qualidade do leite. Um total de 48 bovinos foi dividido em dois tratamentos de sanitização: (I) água ozonizada na concentração de 2 mg.L⁻¹ por 30s e (II) clorexidina a 2%(v/v) por 30s. Antes e após a desinfecção, amostras de esfregaços dos tetos foram coletadas para realização de análises microbiológicas. Além disso, após o processo de higienização também foram coletadas amostras de leite para realização de análises microbiológicas e físico-químicas. A desinfecção dos tetos com água ozonizada resultou em número de reduções decimais (NRD) nos tetos de 2,52, 2,09 e 1,50 para aeróbios mesófilos, *Staphylococcus* sp. e enterobactérias, respectivamente. O uso da clorexidina resultou em NRD de 2,38, 2,04 e 1,16 para os mesmos micro-organismos pesquisados. A avaliação comparativa desses resultados indicou não haver diferença significativa entre os tratamentos. No leite, as contagens de psicrotóxicos e aeróbios mesófilos não apresentaram diferença entre os tratamentos. Para *Staphylococcus* sp. foi verificado a presença em duas amostras após higienização com água ozonizada e em quatro após a higienização com clorexidina. Para enterobactérias só foi verificado a presença em cinco amostras obtidas de vacas tratadas com clorexidina. Adicionalmente, não foram constatadas diferenças nos parâmetros físico-químicos do leite obtido após a desinfecção com clorexidina e água ozonizada. Assim, a água

- 1 Doutor em Tecnologia de Alimentos. I Comando da aeronáutica, Fazenda da Aeronáutica de Pirassununga, Pirassununga, São Paulo, Brasil. E-mail: brunorclj@gmail.com
 - 2 Bacharel em Ciência e Tecnologia de alimentos. Mestrando em Tecnologia de Alimentos, Departamento de Tecnologia de Alimentos, Faculdade de Engenharia de Alimentos, UNICAMP, Campinas, São Paulo, Brasil. E-mail: cavalcante.dac@uol.com.br
 - 3 Doutora em Tecnologia de Alimentos. Aluna de Pós-Doc, Departamento de Tecnologia de Alimentos na Faculdade de Engenharia de Alimentos, UNICAMP, Campinas, São Paulo, Brasil. E-mail: alline.lima.tribst@gmail.com
 - 4 Doutor em Ciência de Alimentos, UNICAMP (sandwich University of California, Davis). Professor MS-5, da Faculdade de Engenharia de Alimentos Faculdade de Engenharia de Alimentos, UNICAMP, Campinas, São Paulo, Brasil. E-mail: olecram@fea.unicamp.br
 - 5 Médica Veterinária, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Botucatu, SP, Brasil. 1º Tenente Médica Veterinária da Fazenda da Aeronáutica de Pirassununga, Pirassununga, São Paulo, Brasil. E-mail: virpcoelho@gmail.com
- * Autor para correspondência: Departamento de Tecnologia de Alimentos, Faculdade de Engenharia de Alimentos, UNICAMP. Rua Monteiro Lobato, 80, Cidade Universitária "Zeferino Vaz", s/n, Campinas, SP, Brasil CEP 13083-862. E-mail: brunorclj@gmail.com

Recebido/ Received: 10/11/2012

Aprovado / Approved: 29/04/2013

ozonizada é um substituto potencial da clorexidina na sanitização dos tetos de bovinos, obtendo reduções microbiológicas similares, sem risco do desenvolvimento de resistência bacteriana e sem gerar resíduos.

Palavras-chave: desinfecção de tetos; micro-organismos; ozônio.

ABSTRACT

This study evaluated the efficiency of ozonated water compared with chlorhexidine to disinfect teats of cattle and their influence on milk quality. 48 cows were separated in 2 groups of sanitation: (I) using ozonated water at 2 mg.L⁻¹ for 30s and (II) using 2%(v/v) chlorhexidine for 30s (standard methodology of disinfection). Before and after sanitation, swabs of teat were collected for carry out microbiological analysis. Additionally, after teats sanitation, the milking was performed and the obtained milk were evaluated by microbiological and physico-chemical parameters. The number of decimal reductions (NDR) reached after ozone sanitation was 2.52, 2.09 and 1.50 for aerobic mesophilic, *Staphylococcus* sp. and Enterobacteriaceae, respectively. The use of chlorhexidine promoted NRD of 2.38 (aerobic mesophilic), 2.04 (*Staphylococcus* sp.) and 1.16 (Enterobacteriaceae). Therefore, no significant differences were found between NRD caused by chlorhexidine and ozonated water. Moreover, no significant differences were observed in the psychrotrophic and aerobic mesophilic counts of the milk obtained after teats sanitation with ozonated water and chlorhexidine. Furthermore, it was observed that only samples obtained from cows treated with chlorhexidine showed the presence of Enterobacteriaceae. There were no changes in the physico-chemical parameters of milk obtained after both treatments. Thus, the ozonated water is a potential substitute of chlorhexidine for cows teats sanitation, resulting in similar microbiological reductions without risks of bacterial resistance development and waste generation.

Keywords: disinfection of teats; microorganisms; ozone.

1 INTRODUÇÃO

A contaminação bacteriana do leite cru pode ocorrer a partir do próprio animal, do homem e do ambiente. A obtenção do leite de vacas saudáveis, em condições higiênicas adequadas, e o seu resfriamento imediato a 4°C, são medidas fundamentais para garantir a qualidade e a segurança do leite e seus derivados (PINTO et al., 2006).

Uma ampla variedade de gêneros e espécies de micro-organismos é naturalmente encontrada na superfície dos tetos e podem ser transmitidos para o leite e para os equipamentos de ordenha caso não haja as boas práticas agropecuárias (CHAMBERS, 2002). Assim, a falta de higiene, que é resultado de desconhecimento e falta de cuidado por parte dos manipuladores, pode ter consequências graves, como o desencadeamento de enfermidades causadas principalmente por *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes* e *Salmonella* sp. (OLIVEIRA et al., 2011).

Algumas medidas, como correta higienização dos tetos e das ordenhadeiras, devem ser tomadas durante o processo de ordenha com a finalidade de diminuir o número de micro-organismos que podem ser transferidos ao leite (AMARAL et al., 2004). Gibson et al. (2008) afirmam que, apesar dos estudos realizados sobre a higienização de tetos de vacas, não há um método único recomendado e a eficácia de práticas usuais na redução da contagem microbiana nos tetos ainda é incerta.

O procedimento de higienização dos tetos antes da ordenha é precedido da lavagem com água, seguido da aplicação do sanitizante por imersão (*dip*) com tempo de atuação superior a 30 segundos e posterior secagem com papel toalha (BRITO et al., 2000; AMARAL et al., 2004). Os produtos mais utilizados na desinfecção de tetos são iodo, clorexidina e hipoclorito de sódio.

Estudos provenientes da indústria de alimentos mostram que o uso indiscriminado de certos desinfetantes em altas concentrações está contribuindo para selecionar micro-organismos resistentes à desinfecção. Desta forma, a sobrevivência destes micro-organismos ao processo de sanitização pode afetar a qualidade da matéria-prima (KHADRE et al., 2001).

Assim, é crescente a demanda por novas alternativas de redução de contaminantes em alimentos, especialmente aquelas com processos seguros em termos de toxicidade e que mantenham o alimento com características similares ao produto *in natura*. Nesse sentido, a aplicação de ozônio tem ganhado destaque em função de sua alta reatividade sobre micro-organismos e a sua rápida decomposição em produtos não tóxicos. O ozônio molecular e seus produtos de decomposição inativam micro-organismos rapidamente pela oxidação de elementos celulares vitais (enzimas intracelulares, ácidos nucleicos e membranas), e pode ter ação aditiva ou sinérgica com outros métodos de desinfecção (KIM et al., 1999b).

Em processos de desinfecção, o ozônio pode ser utilizado na forma gasosa por borbulhamento do

gás em líquidos ou contato do gás com superfícies a ser desinfetadas. Também é possível conduzir os processos de desinfecção utilizando-se água ozonizada, a qual é produzida pela dissolução prévia do gás ozônio em água. Estudos prévios da aplicação de ozônio mostraram resultados adequados de redução microbiológica em alimentos, equipamentos, ambientes, superfícies e no tratamento de água e efluentes (KIM et al., 1999a; KHADRE et al., 2001; CHOI et al., 2012).

Considerando os dados previamente relatados na literatura e a potencial utilização do ozônio como sanificante, esse trabalho avaliou a eficiência da água ozonizada em comparação com a clorexidina na desinfecção de tetos dos bovinos e sua influência na qualidade do leite.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Animais amostrados

Nos experimentos foram utilizadas 48 vacas leiteiras da raça holandesa, do rebanho da Fazenda da Aeronáutica de Pirassununga (FAYS, Pirassununga, Brasil). Essas vacas foram mantidas em sistema de confinamento e ordenhadas mecanicamente três vezes ao dia. Os animais escolhidos na seleção não foram medicados com antibióticos nos sete dias que antecederam a realização desse experimento, de forma que o medicamento não interferisse nas respostas obtidas.

Obtenção de água ozonizada e Clorexidina

O gerador de ozônio utilizado foi o modelo PNZ 714® (Panozon, Brasil) dotado de concentrador de oxigênio a 90-95% de pureza. O ozônio gerado foi borbulhado, através de um sistema de injeção, em tanque de aço inoxidável contendo 50L de água. O excesso de ozônio produzido foi enviado para um tanque de gaseificação, com a função de conversão do ozônio em oxigênio. A água ozonizada foi obtida na concentração de 2 mg.L⁻¹, determinada experimentalmente através de uma reação colorimétrica com oxidação de N-Dietil-P-Fenilenodiamina por ozônio. A oxidação deste composto leva à formação de uma cor rosada de intensidade proporcional a quantidade de ozônio contido na água.

A Clorexidina-Cetrimida foi obtida da empresa Chemitec® (Brasil). Este sanitizante contém digluconato de clorexidina e cloreto de cetrimônio (cetrimida), com concentração do princípio ativo (clorexidina) de 2% (v/v). Este é o antisséptico padrão para desinfecção de tetos de vacas pré ordenha.

Processo de desinfecção dos tetos

O procedimento inicial consistiu em separar as 48 vacas pré-selecionadas na entrada da sala de

ordenha. A seguir, os animais foram acomodados doze a doze nas respectivas unidades de ordenha da sala, modelo espinha de peixe, duplo seis, para início do protocolo tradicional de higiene pré-ordenha. Esse é baseado na remoção mecânica da sujeira aderida à pele dos tetos com auxílio da mão dos ordenhadores, seguido do teste da caneca de fundo preto para detecção de casos de mastite clínica, descarte dos três primeiros jatos de leite de cada teto e posterior sanitização.

Para 24 vacas a desinfecção (*pre-dipping*) foi realizada com água ozonizada e para as outras 24, a desinfecção foi realizada com solução de clorexidina-cetrimida (procedimento padrão adotado na propriedade). A desinfecção foi realizada com o auxílio de um frasco do tipo “*onway*” (sem retorno), que propicia adequada imersão e envolvimento da pele dos tetos dos animais com o sanitizante em uso. Esse foi aplicado em movimentos ascendentes e descendentes do frasco, durante um período de contato de 30 segundos. Após a desinfecção, os tetos dos animais foram secos com papel toalha descartável.

Esse procedimento de *pre-dipping* com diferentes sanitizantes foi realizado nas 3 ordenhas diárias desses animais nos 7 dias que antecederam a data de coleta das amostras. Tal procedimento foi adotado com o intuito de eliminar a ação da solução de clorexidina utilizada no protocolo de rotina da fazenda e também para observar possíveis efeitos do ozônio sobre a pele dos animais.

Coleta da amostra da contaminação microbiológica da pele dos animais após o *pre-dipping*

Imediatamente após a secagem dos tetos no 7º dia de *pre-dipping* com ozônio/ clorexidina, foram realizadas amostragens com *swabs* para avaliação microbiológica da pele dos animais.

Cada teto das 24 vacas foi amostrado com o uso de uma haste flexível descartável com pontas de algodão esterilizadas (*swabs*), perfazendo um total de 96 amostras de tetos sanificados com água ozonizada e 96 amostras de tetos sanificados com clorexidina. A amostra controle (sem desinfecção dos tetos) foi obtida pelo esfregaço de cada um dos tetos desses mesmos animais no momento de chegada à unidade individual de ordenha (antes dos processos de limpeza e desinfecção), perfazendo novamente um total de 96 amostras para cada grupo de animais avaliado.

Para a realização dos ensaios, os *swabs* foram esfregados em todo o perímetro do teto (~ 4 cm) e, por uma altura de 2,5 cm, com uma área total amostrada de, aproximadamente, 10 cm. Após a coleta das amostras, cada *swab* foi colocado em um tubo de ensaio contendo 9 mL de água peptonada 0,1% (HIMEDIA®) e agitados manualmente, a fim de remover totalmente os resíduos aderidos durante a coleta. Essas amostras foram mantidas à 4°C até o momento da realização das análises.

Obtenção do leite

Após o processo de *pre-dipping* as vacas foram ordenhadas até o esgotamento do leite. O leite obtido de cada vaca foi coletado individualmente e resfriado a 4°C. As análises físico-químicas e microbiológicas do leite foram realizadas imediatamente após o resfriamento.

Análises laboratoriais

Todas as análises laboratoriais foram realizadas em triplicata no Laboratório do Laticínio da Fazenda da Aeronáutica de Pirassununga (FAYS).

Análises microbiológicas

Para as amostras coletadas por *swab* (pele dos tetos após desinfecção) foram realizadas contagens de aeróbios mesófilos, enterobactérias e *Staphylococcus* sp. de acordo com o recomendado por DOWNES; ITO (2001). Para o leite obtido, além dessas análises, também foi determinada a contagem total de psicrotrofos (DOWNES; ITO, 2001).

Para a contagem de micro-organismos aeróbios mesófilos e psicrotrofos foi utilizado o Ágar Plate Count - DIFCO® (PCA); para contagem de enterobactérias foi usado o Ágar Violet Red Bile Dextrose - DIFCO® (VRBA), e para enumeração de *Staphylococcus* sp. foi usado o Ágar Baird Parker - DIFCO® (BP). As contagens dos micro-organismos pesquisados foram determinadas em triplicata. Os resultados das contagens foram expressos em UFC.cm⁻² para os *swabs* e por log UFC.mL⁻¹ para as amostras de leite.

Para avaliação da efetividade do processo na desinfecção dos tetos foi calculado o número de reduções decimais (NRD) e os desvios padrões de cada amostra, de acordo com a equação:

$$NRD_{(\text{Log}_{\text{redução}})} = \log_{(\text{contagem}_{\text{controle}})} - \log_{(\text{contagem}_{\text{após tratamento}})}$$

Para as amostras de leite, não foi obtido um grupo controle sem sanificação dos tetos, uma vez que o uso de algum agente de desinfecção é obrigatório para a obtenção higiênica do leite. Assim, para as amostras de leite, apenas foi realizada a comparação dos resultados obtidos após a sanificação dos tetos com clorexidina e água ozonizada.

Análises físico-químicas

As análises físico-químicas de composição do leite (gordura e proteína) foram realizadas utilizando-se o método infravermelho com o analisador Ekomilk M, modelo Milkama Kam 98-2A, que apresenta correlação adequada com os resultados obtidos pelos métodos oficiais estabelecidos pelo Ministério da Agricultura,

Pecuária e Abastecimento (VENTUROSO et al., 2007). A calibração e metodologia de análise seguida foi a descrita nas instruções do equipamento. A análise de pH foi realizada, de acordo com o preconizado pela Instrução Normativa n°68 (BRASIL, 2006).

Análises Estatísticas

Na avaliação da sanitização dos tetos foi considerado delineamento inteiramente casualizado com 2 tratamentos (higienização com ozônio na concentração de 2,0mg.L⁻¹ ou clorexidina@ 2% v/v) e 96 repetições para cada tratamento, totalizando 192 unidades experimentais, no qual cada teto foi considerado como unidade experimental.

Para o leite *in natura* foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado com 2 tratamentos (higienização com ozônio na concentração de 2,0mg.L⁻¹ ou clorexidina@ 2% v/v) e 24 repetições para cada tratamento, totalizando 48 unidades experimentais, no qual cada unidade experimental foi constituída por 25 mL de leite. Os dados foram avaliados quanto à normalidade dos resíduos e homogeneidade das variâncias. Para a análise do efeito dos tratamentos foi utilizado o Teste T-student através do procedimento TTEST do software estatístico SAS (SAS, 2004). Os resultados foram expressos como média ± desvio padrão das leituras.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos nas contagens iniciais foram compatíveis com os esperados para animais sadios e com manejo adequado (Tabela 1). O alto desvio padrão observado deve-se a variação natural entre os animais e o número de tetos avaliados (192 unidades).

Observa-se, ainda, que as contagens iniciais demonstradas na Tabela 1 são semelhantes aos encontrados por Fagan et al. (2005) para mesófilos aeróbios totais que foi de 1,09 x 10⁵ UFC.cm⁻², porém diferentes das verificadas por Amaral et al. (2004) que foi de 5,34 x 10¹¹ UFC.cm⁻². A alta contagem obtida por Amaral et al. (2004) possivelmente indica que os animais avaliados não foram mantidos em condições higiênicas adequadas.

As contagens microbiológicas dos tetos após a higienização mostraram que a água ozonizada é tão eficiente quanto à clorexidina no processo de desinfecção pré-ordenha. Resultados similares de redução decimal de mesófilos aeróbios em tetos de bovinos foram obtidos por Brito et al. (2000) que utilizaram solução a base de iodo (4.000 ppm) e por Fagan et al. (2005) com soluções de hipoclorito de sódio (750 ppm). Assim, é possível concluir que a água ozonizada pode ser utilizada em substituição a qualquer um destes desinfetantes para a sanitização dos tetos dos bovinos.

Além disso, uma observação visual realizada

indicou que a água ozonizada permitiu uma lavagem mais efetiva dos tetos, resultando em uma redução visual das sujidades presentes nos tetos após a higienização e consequente aumento do resíduo de sujeira no fundo do frasco lavador após cada uma das aplicações. Essa pode ser considerada uma vantagem adicional da desinfecção com água ozonizada, uma vez que a presença de sujeiras nos tetos durante o processo de ordenha mecânica pode reduzir o desempenho das ordenhadeiras, bem como gerar maior desgaste desses equipamentos.

É importante salientar, ainda, que as vacas e novilhas ficaram sob observação e acompanhamento visual durante o período dos ensaios e após sete dias do final do experimento, e não foram constatados nenhum efeito adverso, como irritação ou edema, junto à superfície dos tetos dos animais amostrados, bem como alterações de comportamento dos mesmos.

No leite ordenhado após higienização dos tetos com clorexidina ou água ozonizada não foram encontradas diferenças na análise de psicotróficos e mesófilos aeróbios (Tabela 2). Além desses grupos de micro-organismos também foram avaliadas a presença de *Staphylococcus* sp. e enterobactérias. Células viáveis de *Staphylococcus* sp. só foram encontrados em duas das 24 amostras obtidas após higienização com água ozonizada e em quatro das 24 amostras obtidas após a higienização com clorexidina. Em ambos os casos, as contagens observadas foram bem baixas. Por outro lado, observou-se que apenas para as amostras obtidas de vacas tratadas com clorexidina (cinco amostras das 24 avaliadas) foi detectada a presença de enterobactérias, com contagens variando entre 90 e 500 UFC.mL⁻¹.

Como não houve diferença estatística na redução de *Staphylococcus* sp. e enterobactérias nos tetos dos bovinos (Tabela 1), essa diferença da contagem destes micro-organismos no leite *in natura* pode estar relacionada com a colonização destes micro-organismos no úbere destes animais, que possuem a capacidade de acessar diretamente o leite sem efeito da ação dos sanitizantes. Desta forma, as boas práticas de manejo, o controle zootécnico e a sanidade do rebanho devem ser garantidas para assegurar a qualidade da matéria-prima.

Considerando-se os valores estabelecidos para micro-organismos aeróbios mesófilos tanto pela legislação brasileira (a partir de 01.01.2012 até 30.6.2014 para as regiões Sul, Sudeste e Centro-Oeste e a partir de 01.01.2013 até 30.6.2015 para as regiões norte e nordeste um valor máximo de 6,0x10⁵ UFC.mL⁻¹) (BRASIL, 2011) quanto pela legislação Europeia (3,0x10⁵ UFC.mL⁻¹) (Diretriz de Higiene em Laticínios 92/46/EEC) (COUNCIL DIRECTIVE, 1992), observa-se que o leite cru obtido atenderia os padrões de qualidade esperados para este grupo microbiano.

Para os parâmetros físico-químicos do leite *in natura* obtido dos animais submetidos aos diferentes tipos de sanitização não foram observadas diferenças significativas (p>0,05) (Tabela 3). Observa-se que os resultados atendem a Instrução Normativa nº 62 (BRASIL, 2011) que prevê para os parâmetros proteína e gordura os valores mínimos de 2,9g/100g e 3,0g/100g, respectivamente. Além disso, os valores de pH obtidos são característicos de um leite sadio.

É importante ressaltar que, apesar de não haver

Tabela 1 – Médias das contagens de aeróbios mesófilos, enterobactérias e *Staphylococcus* sp. obtidas dos *swabs* dos tetos dos animais antes da higienização e número de reduções decimais (NRD) causados pela ação da clorexidina 2% (v/v) e da água ozonizada (2,0 mg.L⁻¹) utilizados como pré-*dipping* durante 30s para sanitização dos tetos dos bovinos.

Micro-organismo	Contagem (log UFC.cm ⁻²) antes da sanitização	NRD após 30s da ação de clorexidina 2%	NRD após 30s da ação de água ozonizada (v/v) da 2,0mg.L ⁻¹
Mesófilos Aeróbios	5,30 ± 0,68	2,38 ^a ± 0,62	2,52 ^a ± 0,73
Enterobactérias	2,40 ± 1,15	1,16 ^a ± 0,58	1,50 ^a ± 0,91
<i>Staphylococcus</i> sp.	4,00 ± 0,84	2,04 ^a ± 0,63	2,09 ^a ± 1,07

Médias com letras iguais não diferem entre si pelo Teste T-student (p>0,05) (valores médios, n=96).

Tabela 2 – Médias das contagens bacteriana (log UFC.mL⁻¹) do leite *in natura* após a sanitização dos tetos com clorexidina 2% (v/v) e água ozonizada na concentração de 2 mg.L⁻¹.

Micro-organismo	Clorexidina 2% (v/v)	Água ozonizada 2 mg.L ⁻¹
Psicotrófico	3,37 ^a ± 0,36	3,12 ^a ± 0,40
Aeróbios mesófilos	3,06 ^a ± 0,36	3,07 ^a ± 0,39

Médias com letras iguais não diferem entre si pelo Teste T-student (p>0,05) (valores médios, n=24).

Tabela 3 – Qualidade físico-química do leite *in natura* obtido após a sanitização dos tetos dos bovinos com clorexidina 2%(v/v) e água ozonizada 2 mg.L⁻¹.

Parâmetro	Clorexidina 2% (v/v)	Água ozonizada 2 mg.L-1
Proteína (%)	3,34 ^a ± 0,02	3,35 ^a ± 0,03
Gordura (%)	3,42 ^a ± 0,10	3,38 ^a ± 0,11
pH	6,58 ^a ± 0,06	6,61 ^a ± 0,07

Médias com letras iguais não diferem entre si pelo Teste T-student ($p > 0,05$) (valores médios, $n=24$).

diferenças significativas entre os resultados obtidos com clorexidina e água ozonizada, a água ozonizada se mostra um método promissor, por não se tratar de um agente antimicrobiano que pode gerar resistência bacteriana, conforme é esperado para antibióticos. Além disso, uma vez obtido o equipamento, a geração do ozônio é de baixo custo, quando comparado com a compra periódica requerida para os demais sanitizantes (clorexidina ou iodo).

4 CONCLUSÕES

A ação da água ozonizada, na concentração de 2,0 mg.L⁻¹, é equivalente a ação de clorexidina 2% (v/v) na sanitização da pele de tetos de vacas leiteiras da raça holandesa, sem prejuízo para a qualidade microbiológica e físico química do leite *in natura*.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Fazenda da Aeronáutica pela possibilidade de utilização dos animais e pela doação dos sanitizantes utilizados no processo.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMARAL, L.A. et al. Avaliação da eficiência da desinfecção de teteiras e dos tetos no processo de ordenha mecânica de vacas. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 24, n. 4, p. 173-177, 2004.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. 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 República Federativa do Brasil**, Brasília, 14 dez. 2006. Seção 1, p.8.

_____. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 62, 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, o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite Pasteurizado e o Regulamento Técnico da Coleta de Leite

Cru Refrigerado e seu Transporte a Granel, em conformidade com os Anexos desta Instrução Normativa. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 31 dez. de 2011. Seção 1, p. 6.

BRITO, J.R.F.; BRITO, M.A.V.P.; VERNEQUE, R.S. Contagem bacteriana da superfície de tetos de vacas submetidas a diferentes processos de higienização, incluindo a ordenha manual com participação do bezerro para estimular a descida do leite. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 30, n. 5, p. 847-850, 2000.

CHAMBERS, J.V. The microbiology of raw milk. In: ROBINSON, R.K. (Ed). **Dairy Microbiology Handbook**. 3 ed. New York: Wiley-Interscience, 2002. p.39-90.

CHOI, M. et al. Inactivation of Escherichia coli O157:H7, Salmonella typhimurium and Listeria monocytogenes in apple juice with gaseous ozone. **Food Microbiology**, Oxford, v. 32, n.1, p.191-195, 2012.

COUNCIL DIRECTIVE. 92/46/EEC de 16 de junho de 1992. Adota as normas sanitárias relativas à produção de leite cru, de leite tratado termicamente e de produtos à base de leite e à sua colocação no mercado **Official Journal of the European Communities**, v. 35, n.14, L 268, set. 1992.

DOWNES, F. P.; ITO, K. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 4ed. Washington, D.C.: American Public, Health Association (APHA), 2001. 676p.

FAGAN, E. P. et al. Avaliação e Implantação de Boas Práticas nos Principais Pontos de Contaminação Microbiológica na Produção Leiteira. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 26, n. 1, p. 83-92, 2005.

GIBSON, H. et al. Effectiveness of Selected Premilking Teat-Cleaning Regimes in Reducing Teat Microbial Load on Commercial Dairy Farms. **Letters in Applied Microbiology**, Oxford, v. 46, n. 3, p. 295-300, 2008.

KHADRE, M.A., YOUSEF, A.E., KIM, J.G. Microbiological aspects of ozone applications in

food: a review. **Journal of Food Science**. Chicago, v.66, n.9, p.1242-1252, 2001.

KIM, J.G.; YOUSEF, A.E.; CHISM, G.W. Use of ozone to inactivate microorganisms on Lettuce. **Journal of Food Safety**, Rutgers, v.19, n.1, p.17-37, 1999a.

_____; DAVE, S. Application of ozone for enhancing the microbiological safety and quality of foods: a review. **Journal of Food Protection**, Des Moines, v.62, n.9, p.1071-1087, 1999b.

OLIVEIRA, C. J. B. et al. Risk factors associated with selected indicators of milk quality in semiarid northeastern Brazil. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.94, n.6, p.3166-3175, 2011.

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

SAS INSTITUTE 9.1 User guide. Carey: SAS Institute Inc., 2004. 1040p.

VENTUROSO, R. C. et al. Determinação da composição físico-química de produtos lácteos: estudo exploratório de comparação dos resultados obtidos por metodologia oficial e por ultrassom. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, v.43, n.4, p.607-613, 2007.