



Qualidade físico-química e microbiológica do leite bovino do Vale do Taquari no Rio Grande do Sul, Brasil

Physicochemical and microbiological quality of bovine milk from Vale do Taquari in Rio Grande do Sul, Brazil

Thais Müller^{1*} , Mônica Jachetti Maciel¹ , Claudete Rempel¹ 

¹Universidade do Vale do Taquari (UNIVATES), Lajeado, Rio Grande do Sul, Brasil

*Correspondente: mthais@universo.univates.br

Resumo

O objetivo do presente estudo foi verificar a qualidade do leite cru refrigerado das propriedades produtoras de leite e do leite cru refrigerado, pasteurizado e *Ultra High Temperature* (UHT) das indústrias do Vale do Taquari no Rio Grande do Sul, Brasil. Foram realizadas análises de composição do leite, análises físico-químicas e análises microbiológicas, estabelecidas pela legislação, além de coliformes totais e termotolerantes, contagem de psicrotóxicos nos três tipos de leite, contagem de mesófilos no leite pasteurizado e no leite UHT das indústrias. As coletas ocorreram em duas indústrias e 33 propriedades produtoras de leite. Em relação às propriedades, duas (6%) apresentaram leite com acidez acima do estabelecido pela legislação e três (9%) apresentaram leite com contagem bacteriana total (CBT) acima do estabelecido. O leite da indústria 1 apresentou acidez, CBT e densidade fora dos padrões estabelecidos. As duas indústrias e 53,2% das propriedades apresentaram leite com contagem de células somáticas (CCS) acima do determinado pela legislação. O leite das indústrias demonstrou maiores quantidades de CCS, CBT, psicrotóxicos e coliformes totais e termotolerantes que o leite das propriedades produtoras de leite e o leite da indústria 1 apresentou maiores quantidades que a indústria 2, nos parâmetros microbiológicos.

Palavras-chave: Parâmetros físico-químicos; Parâmetros microbiológicos; Composição do leite.

Abstract

The goal of the present study was to verify the quality of refrigerated raw milk from dairy properties and also of refrigerated raw milk, pasteurized and Ultra High Temperature (UHT) milk from industries in Vale do Taquari in Rio Grande do Sul, Brazil. Physicochemical, microbiological and milk composition analysis were carried out, as established by legislation, in addition to total and thermotolerant coliforms and psychrotrophic counts in the three types of milk and mesophiles count in pasteurized milk and UHT milk from the industries. The collections took place in two industries and 33 dairy properties. Regarding the properties, two (6%) had milk with acidity above that established by legislation and three (9%) had milk with a total bacterial count (TBC) above the established. The milk from industry 1 presented acidity, TBC and density out of the established standards. The two industries and 53.2% of the properties had milk with somatic cell counts (SCC) above that determined by legislation. The milk from the industries showed higher amounts of SCC, TBC, psychrotrophic and total and thermotolerant coliforms than the milk from the dairy properties, and the milk from industry 1 showed higher amounts than the industry 2, in the microbiological parameters.

Keywords: Physicochemical parameters; Microbiological parameters; Milk composition.

Recebido: 1 de junho de 2022. Aceito: 23 de agosto de 2022. Publicado: 16 de setembro de 2022.



Introdução

O leite e os produtos lácteos são alimentos indispensáveis, consumidos diariamente e que proporcionam uma fonte valiosa de vários macros e micronutrientes⁽¹⁾. A produção de leite no Brasil foi de 6,2 bilhões de litros, no terceiro trimestre do ano de 2021, tendo um montante de 25,3 bilhões no ano de 2021. O estado do Rio Grande do Sul (RS), com uma produção de 15,1 bilhões de litros, é considerado o segundo maior produtor nacional de leite⁽²⁾. O Vale do Taquari no RS, é responsável por grande parte da produção estadual de leite, sendo essa atividade, a base da economia dos pequenos municípios que o compõem.

A qualidade do leite cru produzido no Brasil deve ser analisada pela Rede Brasileira de Qualidade do Leite (RBQL)⁽³⁾. Os parâmetros utilizados para o diagnóstico da qualidade do leite incluem análises microbiológicas, como contagem bacteriana total (CBT), para o leite cru refrigerado e contagem de microrganismos mesófilos, para os leites pasteurizado e UHT. Além de análises físico-químicas, como temperatura, acidez, densidade, índice crioscópico, e análises de composição do leite, como lactose, proteína, gordura, extrato seco total (EST) ou sólidos totais (ST) e extrato seco desengordurado (ESD) ou sólidos não-gordurosos (SNG), para os três tipos de leite e, adicionalmente, contagem de células somáticas (CCS) e teste de álcool alizarol, para o leite cru refrigerado. Esses parâmetros e seus limites são determinados pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), por meio das Instruções Normativas (IN) n° 76/2018⁽⁴⁾ e n° 77/2018⁽⁵⁾, que norteiam as diretrizes para o leite cru refrigerado e para o leite pasteurizado e pela Portaria n° 370/1997⁽⁶⁾, que estabelece o regulamento do leite esterilizado pelo processo UHT.

Considerando os riscos à saúde pública, associados ao consumo de leite cru, o tratamento térmico é aplicado para garantir a segurança microbiológica dos produtos lácteos⁽⁶⁾. Os tratamentos térmicos utilizados são pasteurização e UHT e visam reduzir o número de microrganismos a níveis seguros à saúde do consumidor⁽¹⁾. Além dos processos de beneficiamento, o resfriamento do leite após a ordenha e durante o transporte à uma temperatura de até 5 °C⁽⁷⁾ é importante para a manutenção de sua qualidade, tornando o produto viável para o processamento da indústria. A baixa temperatura diminui o crescimento microbiano do leite, mas favorece a proliferação de microrganismos psicotróficos. Dessa forma, a contagem de microrganismos psicotróficos é uma ferramenta importante para a avaliação da qualidade do leite produzido. Além dos psicotróficos, outro grupo importante, utilizado em todo o mundo como indicadores de condições de higiene durante o processamento do leite, são os coliformes totais e termotolerantes⁽⁸⁾.

Dessa forma, as informações obtidas por meio das análises físico-químicas, microbiológicas e de composição do leite, determinadas pela legislação e, adicionalmente, contagem de microrganismos psicotróficos e análise de coliformes totais e termotolerantes promovem um diagnóstico preciso sobre a qualidade do leite produzido. O objetivo do presente estudo foi verificar a qualidade do leite cru refrigerado das propriedades produtoras de leite e dos leites cru refrigerado, pasteurizado e UHT das indústrias do Vale do Taquari, Rio Grande do Sul, Brasil, por meio de análises físico-químicas e microbiológicas, estabelecidas pela legislação vigente, além de contagem de microrganismos mesófilos e psicotróficos e análise de coliformes totais e termotolerantes.

Material e métodos

Área de estudo

O estudo foi realizado na região do Vale do Taquari (VT), Rio Grande do Sul, Brasil. Foram coletadas amostras de leite de duas indústrias de laticínios da região e de 33 propriedades produtoras de leite, localizadas em 33 dos 36 municípios que compõem a região. Nas indústrias de laticínios foi coletado um total de seis amostras, sendo uma de leite cru refrigerado proveniente do caminhão-tanque, uma de leite pasteurizado e uma de leite esterilizado pelo processo UHT, em cada uma das indústrias. Nas propriedades coletou-se amostras do resfriador de leite, sendo uma amostra em cada propriedade, totalizando 33 amostras. As indústrias de laticínios receberam a denominação I1 (Indústria 1) e I2 (Indústria 2) e os tipos de leite receberam diferentes abreviações, sendo “Cru” para leite cru refrigerado, “Past.” para leite pasteurizado e “UHT” para leite UHT. As propriedades foram denominadas pela inicial “P” seguidas de um número, ficando determinadas então de “P1” a “P33”. As amostras foram coletadas em frascos esterilizados, armazenadas e transportadas em caixas isotérmicas com gelo. As análises foram realizadas em até seis horas após a coleta das amostras.

Análises físico-químicas e de composição do leite

No leite cru refrigerado do caminhão-tanque das indústrias e das propriedades, as análises de composição do leite seguiram os métodos determinados na IN n° 77/2018, do MAPA⁽⁵⁾. A análise de CCS ocorreu por meio da ISO 13366-2-IDF148-2:2006⁽⁹⁾, sendo que para essa análise utilizou-se um frasco de 40 mL, com o conservante Bronopol, para a coleta das amostras. As demais análises de composição do leite: proteína, lactose, sólidos totais (ST) e sólidos não gordurosos (SNG) ocorreram por meio da ISO 9622- IDF141:2013⁽¹⁰⁾.

Para a realização do teste de alizarol, do leite cru

das propriedades e do caminhão-tanque das indústrias, foi utilizado um béquer de 100 mL e álcool-alizarol 75%, no qual misturou-se 10 mL da solução de álcool-alizarol a 10 mL de leite homogeneizando⁽¹¹⁾. Para os leites processados das indústrias, pasteurizado e UHT, coletou-se 1L de amostra e as normas utilizadas para as análises de composição do leite foram: sólidos não gordurosos (SNG): conforme o manual de métodos oficiais para análise de alimentos de origem animal do MAPA⁽¹²⁾; Sólidos totais: ISO 6731-IDF 21:2010⁽¹³⁾; Lactose: ISO 22662-IDF 198:2007⁽¹⁴⁾; Lipídeos: NMKL 40:2005⁽¹⁵⁾ e Proteína Total: ISO 8968-1-IDF 20-1:2014⁽¹⁶⁾.

As análises de acidez e densidade, realizadas no leite cru refrigerado das propriedades e nos três tipos de leite das indústrias (cru refrigerado do caminhão-tanque, pasteurizado e UHT) seguiram a mesma metodologia. A análise de acidez ocorreu por titulação, no qual pipetou-se 10 mL de leite em um béquer de 100 mL, adicionou-se 5 gotas de fenolftaleína 1%. Foi então diluído hidróxido de sódio (NaOH) 0,1N até coloração rosa persistente idêntico ao padrão por aproximadamente 30s. O cálculo da acidez ocorreu da seguinte forma: Acidez titulável, % ácido láctico = $V \cdot 0,09 \cdot N \times 100/v$, no qual: V: corresponde ao volume de solução de NaOH 0,1N gasto em mL; v: é o volume da amostra em mL; 0,09: refere-se ao fator de conversão do ácido láctico e N: é a normalidade da solução de NaOH 0,1N⁽¹²⁾. A análise da densidade ocorreu através do equipamento termolactodensímetro, no qual despejou-se, sem criação de espuma, 500 mL da amostra em uma proveta e inseriu-se o equipamento para a realização da leitura⁽¹²⁾. As temperaturas de todas as amostras foram medidas com termômetro Incoterm (modelo 5135) e realizadas no momento da coleta. Todas as análises físico-químicas e de composição do leite foram realizadas em triplicata, para garantir a confiabilidade dos resultados.

Análises microbiológicas

A CBT foi realizada no leite cru refrigerado das propriedades e no leite cru refrigerado do caminhão-tanque das indústrias e ocorreu de acordo com a metodologia preconizada pela ISO 21187-IDF196:2004⁽¹⁷⁾, que é determinada pela IN n° 77/2018⁽³⁾. A análise de microrganismos mesófilos foi realizada no leite pasteurizado e no leite UHT das indústrias. A análise de microrganismos psicotróficos e a análise de coliformes totais e termotolerantes foram realizadas no leite cru refrigerado, tanto das propriedades quanto das indústrias, e nos leites pasteurizado e UHT das indústrias. Todas as análises microbiológicas ocorreram em triplicata.

As análises de microrganismos mesófilos e psicotróficos seguiram a metodologia preconizada pelo *Standard Methods for the examination of dairy products*⁽¹⁸⁾. Foram realizadas cinco diluições decimais

em tubos contendo 9 mL de peptona 0,1%. Para a determinação e a quantificação dos microrganismos aeróbicos mesófilos, utilizou-se o método do plaqueamento por profundidade, no qual as placas de Petri receberam 1 mL das diluições 10^0 , 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} e 10^{-5} , com aproximadamente 20 mL de ágar Plate Count Agar (PCA) (OXOID®).

As placas foram incubadas invertidas a 36 ± 1 °C por 48 horas. Para a determinação e a quantificação dos microrganismos psicotróficos aeróbicos, utilizou-se o método de dispersão em placa, no qual a superfície do ágar PCA (OXOID®) recebeu 0,1 mL das diluições. As placas invertidas foram incubadas a 7 °C por 10 dias. A contagem das colônias de microrganismos foi realizada com o auxílio de um contador de colônias e os resultados foram expressos em UFC/mL (Unidades Formadoras de Colônias por mL).

A análise de coliformes totais e termotolerantes foi realizada através da Técnica dos Tubos Múltiplos, método preconizado pela ISO 4831:2006⁽¹⁹⁾. Foi inoculada 1mL da amostra em uma série de 3 tubos em Caldo Lauril Sulfato Triptose (OXOID®) em tubos de ensaio contendo tubos de Durham invertidos. Foi realizada uma diluição, utilizando solução de peptona salina, de concentração 10^{-1} e foi adicionado 1 mL em mais uma série de 3 tubos Caldo Lauril Sulfato Triptose (OXOID®). Os tubos inoculados foram incubados a 30 °C por 24 ou 48 horas em estufa bacteriológica. Os tubos com reação presuntiva positiva, evidenciada pela produção de gás, foram então submetidos ao teste confirmatório em Caldo Lactose Verde Brillhante Bile 2% (OXOID®). Os tubos que apresentaram formação de gás no teste Verde Brillhante Bile 2% foram repicados para o caldo *Escherichia coli* (EC) e permaneceram em banho-maria por 48 horas, na temperatura de $45 \pm 0,2$ °C.

Para checar a qualidade do leite, os níveis encontrados nas análises foram comparados com os limites definidos pela IN n° 76/2018 do MAPA⁽⁴⁾, para os leites cru refrigerado e pasteurizado e pela Portaria n° 370/1997 do MAPA⁽⁵⁾, para o leite UHT. A legislação não estabelece níveis de psicotróficos e coliformes totais e termotolerantes. Os resultados foram então comparados com os limites estabelecidos por autores da área⁽²⁰⁻⁸⁾.

Análise de dados

Os dados foram tabulados utilizando-se a planilha de cálculo do Excel e foi realizada a estatística descritiva para dados quantitativos com o programa Bioestat 5.0, análise multivariada dos componentes principais (PCA) e de correlação com o programa Past. Foram comparados os resultados das análises físico-químicas e de composição do leite e as quantidades de microrganismos encontrados nas amostras dos três tipos de leite (cru refrigerado, pasteurizado e UHT) das duas indústrias

analisadas nesse estudo, e o leite cru refrigerado das propriedades produtoras de leite e do caminhão-tanque das indústrias.

Resultados e discussão

Os resultados das análises dos parâmetros de composição do leite (proteína, lactose, gordura, ST, SNG e CCS) e físico-químicos (temperatura, acidez e

densidade) mostram que a temperatura de armazenamento em 31 das 33 propriedades (93,93%) foi inferior a 5 °C, sendo que apenas duas propriedades (P9, P4) apresentaram temperatura superior a esta (Tabela 1). Na propriedade P9, a temperatura medida no momento da coleta foi de 7,8 °C. Isso se deve ao fato de que, nesta propriedade a coleta ocorreu minutos após a ordenha, não permitindo que o leite fosse suficientemente resfriado no refrigerador.

Tabela 1. Níveis dos parâmetros físico-químicos e de composição do leite, média, desvio e erro padrão das amostras de leite cru refrigerado das propriedades produtoras de leite do Vale do Taquari – RS. ex. gord.: amostra com gordura em torno de 10%; ST: Sólidos totais; SNG: Sólidos não gordurosos

Unidade de medida	Temp. °C	Acidez g de ácido láctico/100 mL	Densidade g/mL	Gordura g/100g	Proteína g/100g	Lactose g/100g	ST g/100g	SNG g/100g	CCS CS/mL
Limites	Até 5	0,14 a 0,18	1,028 a 1,034	min. 3,00	min. 2,90	min. 4,30	min. 11,40	min. 8,40	até 500.000
P1	3	0,18	1,032	4,05	3,45	4,42	13	8,95	1.004.000
P2	3,6	0,15	1,033	3,64	2,94	4,45	12,04	8,4	459.000
P3	2,8	0,18	1,033	4,09	3,25	4,49	12,89	8,8	182.000
P4	5,1	0,18	1,033	4,09	3,42	4,46	13,17	9,08	1.812.000
P5	4,8	0,16	1,032	3,46	3,27	4,42	12,4	8,94	1.340.000
P6	3,7	0,15	1,031	3,57	3,14	4,49	12,45	8,88	333.000
P7	3,4	0,19	1,033	4,5	3,45	4,25	13,27	8,77	514.000
P8	3,7	0,16	1,031	3,67	2,89	4,45	12,12	8,45	159.000
P9	7,8	0,17	1,032	3,93	3,12	4,66	12,69	8,76	365.000
P10	3,4	0,15	1,033	3,62	3,07	4,45	12,22	8,6	909.000
P11	4,2	0,17	1,033	3,94	3,3	4,33	12,66	8,72	658.000
P12	4,4	0,16	1,031	3,85	3,29	4,59	12,79	8,94	404.000
P13	4,1	0,16	1,033	3,76	3,1	4,5	12,48	8,72	455.000
P14	4,2	0,19	1,033	3,65	3,18	4,44	12,4	8,75	1.180.000
P15	4,2	0,16	1,032	4	3,37	4,38	12,87	8,87	383.000
P16	4,1	0,16	1,033	3,86	3,37	4,55	12,78	8,92	365.000
P17	4,5	0,18	1,032	3,89	3,36	4,36	12,72	8,83	705.000
P18	4,8	0,15	1,03	4,35	3,11	4,22	12,8	8,45	1.489.000
P19	4,9	0,16	1,033	7,88	3,03	4,29	15,99	8,11	1.218.000
P20	4,2	0,18	1,033	4,48	3,8	4,37	13,76	9,28	1.290.000
P21	3,5	0,15	1,029	3,25	3,01	4,15	11,65	8,4	495.000
P22	3,4	0,2	1,032	3,7	3,61	4,3	12,81	9,11	894.000
P23	2,8	0,18	1,031	3,74	3,14	4,57	12,55	8,81	230.000
P24	3,9	0,15	1,031	3,69	3,1	4,45	12,36	8,67	467.000
P25	3,7	0,16	1,032	3,77	3,41	4,49	12,81	9,04	507.000
P26	4,1	0,18	1,03	4,42	3,47	4,25	13,32	8,9	883.000
P27	4,3	0,16	1,032	3,82	3,28	4,35	12,51	8,69	780.000
P28	4,2	0,17	1,032	3,66	3,01	4,51	12,22	8,56	133.000
P29	2,8	0,17	1,029	3,86	3,11	4,35	12,39	8,53	409.000
P30	1,8	0,18	1,032	4,02	3,31	4,62	12,95	8,93	551.000
P31	4,1	0,16	1,03	3,69	3,29	4,25	12,19	8,5	706.000
P32	4,2	0,17	1,03	8,11	2,59	4,3	15,98	7,87	190.000
P33	4,3	0,17	1,03	ex. gord.	ex. gord.	ex. gord.	ex. gord.	ex. gord.	ex. gord.
Média	4,04	0,17	1,031	4,14	3,23	4,41	12,87	8,73	670.906,25
Desvio padrão	1,03	0	1,26	1,12	0,29	0	0,8	0,38	425.317,13
Erro padrão	0,18	0	0,22	0,19	0,05	0	0,14	0,06	75.186,15

O resfriamento adequado do leite, na propriedade e durante o transporte, diminui a taxa de crescimento bacteriano, impedindo o aumento da contagem bacteriana, antes do leite chegar aos centros de coleta de leite ou indústrias beneficiadoras⁽²¹⁾. Os parâmetros físico-químicos do leite são muito importantes para a sua aceitação pelo consumidor. Os processos das indústrias dependem diretamente desses parâmetros, para garantir uma vida útil longa ao produto, características adequadas e benefícios nutricionais para o consumidor. Parâmetros como pH, estabilidade oxidativa e a composição do leite, são de extrema importância para o beneficiamento

realizado nos laticínios⁽²²⁾.

Em relação às indústrias, todas as amostras de leite cru refrigerado e pasteurizado apresentaram temperatura abaixo do máximo permitido (Tabela 2), que é de até 5 °C, para o leite cru refrigerado⁽⁷⁾ e de até 4 °C, para o leite pasteurizado (4). O leite pasteurizado produzido pelas indústrias do Vale do Taquari é originado de vários rebanhos, em várias propriedades e transportado sob refrigeração⁽³⁾. O leite UHT das indústrias é armazenado à temperatura ambiente e, as amostras analisadas nesse estudo, tiveram temperaturas de 22,1 °C e 28 °C, nas indústrias 1 e 2, respectivamente (Tabela 2).

Tabela 2. Níveis de parâmetros físico-químicos, microbiológicos e de composição do leite em amostras de leite cru refrigerado, pasteurizado e UHT de indústrias do Vale do Taquari - RS. *: para leite cru refrigerado; **: para leite pasteurizado; ***: para leite UHT; nd: não determinado. ST: Sólidos totais; SNG: Sólidos não gordurosos.; ----: não realizada

Parâmetros		Indústria 1			Indústria 2		
		Cru	Past.	UHT	Cru	Past.	UHT
Temperatura (°C)	up to 5*; 4**	4,8	3,7	22,1	3,6	4	28
Acidez (g de ácido lático/100 mL)	0,14 to 0,18	0,67	0,2	0,24	0,18	0,17	0,18
Densidade (g/mL)	1,028 to 1,034	1,028	1,037	1,028	1,033	1,033	1,033
Gordura (g/100g)	min, 3,00	4,37	3,8	3	3,8	3,2	3
Proteína (g/100g)	min, 2,90	3,3	3,24	3,28	3,27	3,26	3,27
Lactose (g/100g)	min, 4,30	4,33	4,89	4,72	4,48	4,92	4,78
ST (g/100g)	min, 11,40*	13,08	12,42	11,5	12,59	12,02	11,92
SNG (g/100g)	min, 8,40 e 8,20***	8,71	8,6	8,5	8,79	8,8	8,9
CCS (CS/mL)	até 500,000	1.079.000	-----	-----	638	-----	-----
CBT*/Mesófilos (UFC/mL)	até 900,000* até 100***	4.599.000	9.700	0	466.000	510	0
Psicotróficos (UFC/mL)	nd	10.000.000	80.000	0	10.000.000	40.000	0
Total coliforms (NMP/mL)	nd	110	0	0	110	0	0
Coliformes Termotolerantes (NMP/mL)	nd	110	0	0	110	0	0

Em relação à acidez, duas propriedades, P7 e P22, apresentaram acidez acima do limite estabelecido pela legislação vigente (Tabela 1), tendo valores de 0,19 e 0,20 g de ácido lático/100 mL, respectivamente⁽⁴⁾. Conforme a IN n° 76/2018 do MAPA⁽⁴⁾, os níveis de acidez do leite cru refrigerado devem permanecer entre 0,14 e 0,18g de ácido lático/100 mL. As análises de acidez dos leites das indústrias demonstraram que a indústria 1 apresentou acidez acima do nível máximo permitido, nos três tipos de leite analisados, cru refrigerado, pasteurizado e UHT, sendo os níveis de acidez de 0,67, 0,20 e 0,24 g de ácido lático/100mL, respectivamente (Tabela 2). Os níveis de acidez recomendados para o leite pasteurizado e para o leite UHT, também são de 0,14 a 0,18 g de ácido lático/100 mL, e são determinados pela IN n° 76/2018⁽⁴⁾,

no caso do leite pasteurizado, e pela Portaria 370/1997⁽⁵⁾, no caso do leite UHT. Acidez acima do nível máximo permitido, indica que podem ter ocorrido falhas nas Boas Práticas Agropecuárias (BPAS), ou que o leite tenha sido armazenado por um tempo elevado no tanque de resfriamento. Microrganismos existentes no leite realizam fermentação da lactose formando principalmente ácido lático, que resulta em um aumento da acidez total⁽²⁴⁾. Na indústria 2, todos os parâmetros físico-químicos e de composição do leite estão de acordo com os parâmetros estabelecidos pela legislação.

O teste do alizarol, realizado apenas no leite cru refrigerado, demonstrou que sete propriedades apresentaram a formação de grumos (P13, P15, P17, P27, P28, P29 e P32), o que corresponde a 21,21% das

propriedades analisadas. O teste de Alizarol é um dos mais utilizados para a avaliação da qualidade do leite e tem por objetivo verificar a estabilidade das proteínas lácteas, quando submetidas a desidratação provocada pelo álcool, a fim de estimar a estabilidade do leite quando submetido ao tratamento térmico. Dessa forma, é possível verificar se o leite possui estabilidade térmica suficiente para suportar os processos de beneficiamento da indústria, especialmente o processo UHT.

A prova do álcool alizarol, em conjunto com o teste da acidez do leite são utilizados para identificar o leite instável não ácido (LINA), que é caracterizado como um conjunto de alterações, em que a matéria-prima apresenta acidez dentro dos padrões normais, mas reagem positivamente ao teste do álcool⁽²⁵⁾. Nesse estudo, nenhuma das propriedades que apresentaram teste de alizarol positivo, obtiveram acidez acima do limite permitido nas amostras, indicando a ocorrência de LINA.

No leite cru refrigerado das indústrias, a indústria 1 apresentou prova de alizarol positiva para o leite cru refrigerado, tendo a coloração amarelada. O leite cru desta mesma indústria apresentou acidez acima do limite máximo permitido, sendo de 0,67 g de ácido láctico/100 mL. Os leites pasteurizado e UHT da indústria 1, também tiveram acidez acima do permitido, o que pode ser explicado pela acidez muito elevada no leite cru refrigerado, quase quatro vezes superior ao máximo permitido.

Um leite cru de boa qualidade é necessário para que se possa produzir leite pasteurizado e UHT de qualidade. As relações entre as práticas nas propriedades produtoras de leite, a composição, as propriedades do

leite cru e a qualidade do leite e produtos lácteos estão intimamente associados⁽²⁶⁾.

Em relação à densidade, todas as amostras das propriedades estavam de acordo com o estabelecido pela legislação, que deve ser de 1,028 g/mL a 1,033 g/mL⁽⁴⁾. A indústria 1 apresentou densidade acima do máximo permitido para o leite pasteurizado, sendo esta de 1,037 g/mL. A densidade é utilizada como um dos parâmetros que buscam avaliar adulteração do leite por adição de água ou constituintes. No caso de fraudes por desnatamento de leite, a densidade tende a aumentar, pois a gordura possui uma densidade de 0,930 g/mL. No caso de fraudes por adição de água, a densidade do leite tende a diminuir, sendo que a densidade abaixo do nível pode indicar ainda problemas nutricionais ou problemas de saúde no animal⁽²⁴⁾.

Em relação às médias dos parâmetros físico-químicos e de composição do leite, as propriedades do Vale do Taquari apresentaram médias de gordura, ST e SNG maiores que as indústrias de laticínios da região e as indústrias apresentaram média de densidade maior que as propriedades analisadas. Acidez e lactose tiveram médias iguais, tanto nas indústrias quanto nas propriedades (Figura 1a). A temperatura do leite cru refrigerado das indústrias e propriedades apresentou média semelhante. A média da temperatura do leite cru refrigerado das indústrias foi de 4,20 °C e a do leite cru refrigerado das propriedades foi de 4,04 °C. O leite pasteurizado das indústrias apresentou média de temperatura de 3,85 °C e o leite UHT teve média de 25,05 °C. Isso porque o leite UHT das indústrias é armazenado em temperatura ambiente.

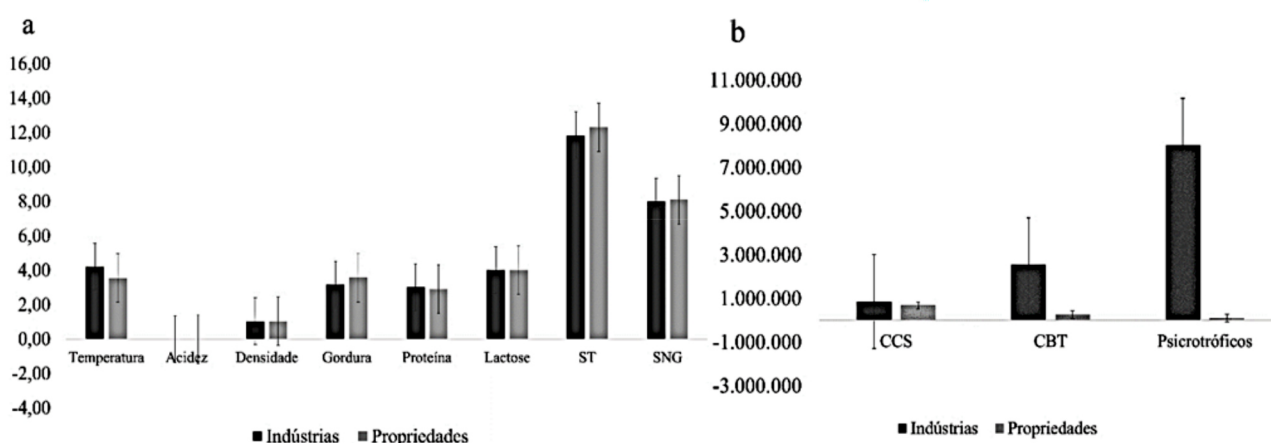


Figura 1. (a) Média dos parâmetros físico-químicos e de composição do leite das amostras de leite cru refrigerado das propriedades produtoras de leite e de leite cru refrigerado, pasteurizado e UHT das indústrias do Vale do Taquari - RS. Para a média da temperatura das indústrias foi considerado apenas o leite cru refrigerado. Figura com erro padrão. (b) Média de CCS, CBT e microrganismos psicrotróficos encontrados em amostras de leite cru refrigerado de propriedades produtoras e leite do Vale do Taquari-RS, com erro padrão.

A análise de CCS das propriedades demonstrou que 17 propriedades, o que corresponde a 53,2% das amostras, estavam com os níveis de CCS acima do permitido pela legislação, que é de no máximo 500.000 CS/mL⁽⁴⁾. Dentre essas propriedades, sete (P1, P4, P5, P14, P8, P19 e P20), o que corresponde a 21,2% das amostras, extrapolaram o máximo medido pelo método, tendo o nível de CCS estabelecido por estimativa. A CCS das propriedades variou de 133.000 CS/mL, na propriedade P28, à 1.812.000 CS/mL, na propriedade P4. A média de CCS das propriedades foi de 670.906,25 CS/mL (Tabela 1). Uma das amostras, P33, apresentou teor de gordura em torno de 10%, impossibilitando que o método mensurasse com precisão os parâmetros de composição do leite (CCS, proteína, lactose, ST e SNG) e a própria gordura. Isso pode ser devido à homogeneização insuficiente do leite no resfriador.

Conforme a legislação, a análise de CCS deve ser realizada apenas no leite cru refrigerado⁽⁴⁾. O leite cru refrigerado da granja leiteira deve ser analisado com frequência mensal e as análises do leite transportado nos caminhões-tanque devem ser realizadas diariamente⁽³⁾.

A CCS no leite pode estar relacionada à reação imune após a infecção da glândula mamária, denominada de mastite. A mastite pode ser subclínica, quando o número de leucócitos aumenta no leite sem alterações visuais aparentes, ou clínica, quando há alterações aparentes no leite. Em alguns momentos, isso pode estar combinado com sinais no úbere ou sinais clínicos sistêmicos no animal, que podem ser reconhecidos pelo agricultor. Uma grande quantidade de leucócitos, apresentados como CCS e alta CBT no leite podem resultar na produção de enzimas que degradam os seus componentes, como as gorduras e as proteínas, reduzindo a qualidade do leite e dos produtos lácteos. Isso afeta a vida de prateleira do produto e reduz a aceitação do consumidor⁽²¹⁾. Além disso, o úbere mastítico libera um grande número de microrganismos patogênicos (incluindo *Streptococcus* sp., *Staphylococcus* sp. e *Escherichia* sp.) que podem contaminar o leite a granel, tornando-se um problema de saúde pública⁽²⁷⁾.

Ao analisar a relação entre a CCS e os demais parâmetros de composição do leite (gordura, lactose, proteínas, ST e SNG) das propriedades, por meio da análise de correlação de Spearman, é possível verificar que os parâmetros apresentaram correlação positiva, apresentando maiores quantidades nas propriedades com maiores teores de CCS: gordura (rs= 0,1712), proteína (rs= 0,4185), SNG (rs= 0,2512) e ST (rs= 0,2594). A única exceção foi a lactose (rs= -0,4689), que apresentou correlação negativa, com menores níveis nas propriedades com maiores quantidades de CCS. Essa correlação é considerada fraca entre CCS e gordura, ST e SNG e moderada entre CCS e gordura e lactose. A correlação é significativa entre CCS e proteínas e entre

CCS e lactose ($p < 0,05$). Segundo Costa et al.⁽²⁸⁾, CCS acima de 200.000 CS/mL são indicativos de mastite subclínica, causando influência nos componentes do leite. Neste estudo, apenas quatro propriedades (P32, P28, P8, P3), representando 12,12% das amostras, apresentaram CCS abaixo de 200.000 CS/mL. Baggio e Montanhini⁽²⁹⁾, em seu estudo, também relataram correlação negativa entre lactose e CCS, fato que pode ser explicado devido à inflamação da glândula mamária causar lesões nas células alveolares, levando à diminuição da síntese de lactose.

A análise de CCS do leite cru refrigerado do caminhão-tanque das indústrias demonstrou que ambas estavam com a CCS acima do máximo permitido pela legislação⁽⁴⁾, sendo de 1.079.000 CS/mL, na indústria 1 e 638.000 CS/mL, na indústria 2 (Tabela 2). Na indústria 1, a quantidade de CS extrapolou a quantidade máxima obtida pelo método, tendo seu valor estabelecido por estimativa. A média de CCS nas indústrias, foi de 858.500 CS/mL, sendo superior à média de CCS das propriedades, de 670.906,25 CS/mL (Figura 1b). A média geral de CCS do leite da região do VT, levando em conta as propriedades e as duas indústrias, foi de 681.941,18 CS/mL. Para Ndahetuye et al.⁽²¹⁾, aumentar a qualidade e a segurança do leite em todo o mundo é altamente relevante, pois os regulamentos que protegem a saúde dos consumidores exigem a adesão às diretrizes de qualidade e segurança do leite, dentre elas a baixa CCS.

A análise multivariada dos componentes principais (PCA) dos parâmetros físico-químicos e de composição do leite demonstram que o componente 1, a temperatura, explica 32,42% dos resultados, e o componente 2, acidez, explica 23,91%. Juntos esses dois componentes explicam 56,33% dos resultados. É possível observar associação entre temperatura, gordura e ST e entre acidez, densidade, proteína, SNG e CCS (Figura 2).

As análises CBT das propriedades mostrou que 23 propriedades (69,70%) apresentaram contagens até 10⁴ UFC/mL. Apenas três propriedades (P16, P17 e P33), que correspondem a 9% das amostras analisadas, apresentaram CBT acima do limite estabelecido pela legislação (Tabela 3), que é de até 300.000 UFC/mL⁽⁴⁾. A amostra P16 obteve uma contagem de 596.000 UFC/mL. A amostra P33, que foi a mesma amostra que apresentou grande quantidade de gordura, teve uma contagem muito alta de 1.559.000 UFC/mL. A contagem bacteriana das propriedades produtoras de leite variou de 8.000 UFC/mL (P6, P8, P9 e P30) a 4.534.000 UFC/mL (P17). Na propriedade P17, o resultado extrapolou o máximo medido pelo método, sendo obtido por estimativa. A média geral da CBT das propriedades foi de 239.363 UFC/mL. A coleta do leite pelo caminhão-tanque, na região estudada, ocorre a cada dois dias, sendo que em 60% das propriedades analisadas nesse estudo, a coleta das amostras ocorreu no dia seguinte ou horas depois da coleta do caminhão-tanque, no caso de propriedades que

o recebiam nas primeiras horas da manhã. Dessa forma, o resfriador encontrava-se quase vazio, geralmente com o armazenamento de apenas uma ou duas ordenhas. As três propriedades (P16, P17 e P33) em que a CBT esteve acima do limite permitido, fazem parte dos 40% das propriedades em que a coleta das amostras ocorreu horas antes da coleta do caminhão-tanque (em propriedades em que a coleta ocorre no início da tarde). Dessa forma, nessas propriedades, o resfriador encontrava-se cheio, em

sua capacidade máxima, com leite de várias ordenhas, de até dois dias anteriores. Isso sugere que o tempo de armazenamento do leite no resfriador possa ter influência sobre o resultado da CBT encontradas nas propriedades produtoras de leite. A produção de leite nas propriedades analisadas neste estudo varia consideravelmente, de 1.500 litros/mês a 150.000 litros/mês. No entanto, a maioria das propriedades (85%), é composta por pequenos produtores, com média de 12.000 litros/mês.

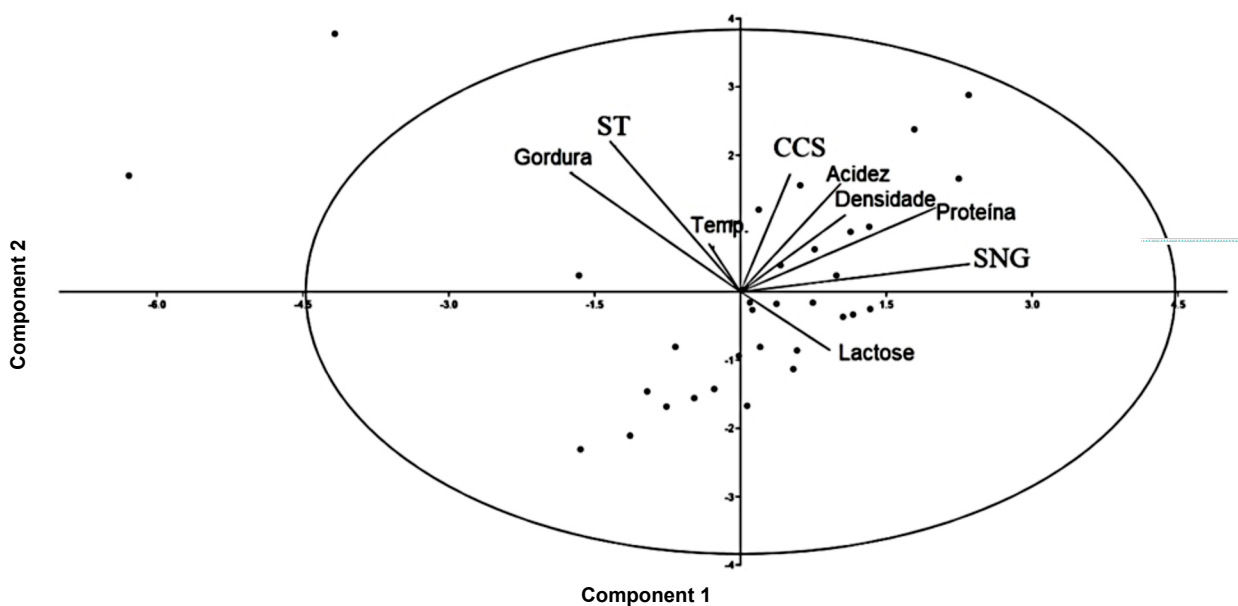


Figura 2. Gráfico de ordenação da análise multivariada dos principais componentes dos parâmetros físico-químicos e de composição do leite das amostras de leite cru refrigerado de propriedades produtoras de leite do Vale do Taquari - RS. ST: Sólidos totais; SNG: Sólidos não gordurosos; Temp.: Temperatura.

O leite é um meio ideal para o crescimento de vários microrganismos, incluindo patógenos, devido ao seu alto teor de água, pH neutro e composição química⁽⁶⁾. A contagem bacteriana total é usada para avaliar até que ponto os processos de obtenção do leite afetaram a sua qualidade e segurança. Para Ndahuetuye et al.⁽²¹⁾, a CBT deve ser interpretada com cautela, pois diferentes tipos de bactérias podem contaminar o leite, sendo provenientes de diversas fontes. Esses microrganismos se proliferam no leite, pois o leite contém inúmeros nutrientes para seu crescimento e desenvolvimento.

A diferença de CBT nas amostras analisadas indica que cada propriedade pode ser considerada como um nicho particular contendo uma microbiota dinâmica. As práticas de manejo nas propriedades, os sistemas de ordenha e o tipo de alojamento têm um grande efeito na CBT e na composição bacteriana do leite e podem explicar as diferenças entre as propriedades⁽²⁷⁾.

Nas análises de CBT do leite cru refrigerado do caminhão-tanque das indústrias pode-se observar que a indústria 1 possui CBT acima da quantidade máxima

permitida pela legislação vigente (Tabela 2), que é de até 900.000 UFC/mL, para o leite antes do processamento das indústrias⁽⁴⁾. A quantidade de microrganismos no leite cru da indústria 1 também extrapolou o valor máximo medido através do método, tendo uma estimativa em 4.599.000 UFC/mL. A indústria 2 apresentou resultados de CBT dentro dos limites da legislação vigente, tendo uma CBT de 466.000 UFC/mL. A média da CBT das indústrias foi de 2.532.500 UFC/mL superior à média das propriedades produtoras de leite, que foi de 239.363 UFC/mL (Figura 1b). A média geral das amostras de leite cru refrigerado do Vale do Taquari foi de 1.387.431 UFC/mL. Cabe ressaltar que a indústria 1 apresentou também acidez nas amostras dos três tipos de leite, prova de alizarol positiva e CCS acima do limite estabelecido, para o leite cru refrigerado, e densidade fora dos padrões estabelecidos pela legislação, para o leite pasteurizado.

A contaminação microbiológica do leite cru ocorre principalmente na propriedade leiteira, e as bactérias podem estar nos equipamentos de ordenha, locais de armazenamento do leite ou no interior do úbere. Ao

contrário do que se pensava, o leite não é estéril dentro do úbere, nem mesmo em vacas saudáveis, sendo que esses microrganismos podem entrar no leite através da via entero-mamária⁽²⁷⁾. As amostras das propriedades

produtoras de leite desse estudo demonstram grande variação dos parâmetros microbiológicos e CCS e, devido a isso, o desvio padrão e o erro padrão das amostras foi extremamente alto (Tabela 1 e Tabela 3).

Tabela 3. Contagem de microrganismos dos parâmetros microbiológicos analisados, média, desvio e erro padrão de amostras de leite cru refrigerado de propriedades leiteiras do Vale do Taquari – RS. nd: não determinado

Unidade	CBT UFC/mL	Psicrotróficos UFC/mL	Coliformes totais NMP/mL	Coliformes termotolerantes NMP/mL
Níveis	até 300.000	nd	nd	nd
P1	13	2	16	1
P2	15.000	9.000	21	0
P3	22.000	4.000	21	1
P4	113.000	2.000	110	21
P5	20.000	2.300	110	3
P6	8.000	5.000	14	1
P7	26000	1.000	14	3
P8	8.000	2.000	21	6
P9	8.000	1.500	110	110
P10	26.000	3.000	6	6
P11	37.000	4.000	21	2
P12	86.000	20.000	21	16
P13	52.000	70.000	21	2
P14	191.000	90.000	110	16
P15	50.000	1.800	3	3
P16	596.000	100.000	21	16
P17	4.534.000	2.000.000	110	15
P18	13.000	10.000	21	6
P19	15.000	10.000	110	6
P20	46.000	30.000	110	110
P21	122.000	2.000	16	2
P22	91.000	100.000	16	2
P23	21.000	500.000	21	1
P24	45.000	10.000	110	1
P25	15.000	200	1	1
P26	23.000	200	110	1
P27	21.000	900	2	1
P28	31.000	600	1	1
P29	11.000	100	6	2
P30	8.000	10	16	1
P31	24.000	10.000	2	1
P32	49.000	200	110	110
P33	1.559.000	20.000	16	2
Média	239.363.64	91.266.97	42,97	14,24
Desvio padrão	820.663.21	354.012.59	45,34	31,24
Erro padrão	142.589.12	61.625.68	7,89	5,43

O leite pasteurizado da indústria 1 apresentou contagem de microrganismos mesófilos de 9.700 UFC/mL. Na indústria 2, a contagem de microrganismos mesófilos foi bem inferior, sendo de 510 UFC/mL. A IN n° 76/2018⁽⁴⁾ não estabelece as quantidades máximas de microrganismos mesófilos para o leite pasteurizado. O leite UHT de ambas as indústrias não apresentou crescimento de colônias, tendo a contagem de microrganismos mesófilos igual a zero (Tabela 2). Conforme a Portaria 370/1997, a quantidade de mesófilos aeróbicos não deve ultrapassar 100 UFC/mL no leite UHT⁽⁵⁾.

O tratamento térmico no leite, pasteurização ou

UHT, é aplicado para garantir a segurança microbiológica dos produtos lácteos. Além disso, permite a inativação de microrganismos e enzimas deteriorantes e, dessa forma, melhora a qualidade e prolonga a vida útil dos produtos⁽⁶⁾.

A pasteurização visa reduzir o número de qualquer microrganismo patogênico a um nível em que não haja nenhum perigo significativo para a saúde do público consumidor, resultando ainda em uma vida útil de prateleira de cerca de dez dias, sob condições de refrigeração. Já o tratamento UHT, com temperaturas de 135 °C por alguns segundos, pode garantir uma vida útil ao leite de até seis meses, em temperatura ambiente, quando mantido em

frasco fechado⁽¹⁾.

As análises de microrganismos psicrotróficos no leite cru refrigerado das propriedades produtoras de leite demonstraram que a maior parte das propriedades obtiveram contagens até 10^3 UFC/mL (13 propriedades) e 10^4 UFC/mL (9 propriedades), seguido de 10^2 UFC/mL (6 propriedades) e 10^5 UFC/mL (3 propriedades). Uma propriedade (P17) apresentou contagem de psicrotróficos até 10^6 UFC/mL, sendo a mesma de 2.000.000 UFC/mL. A quantidade de microrganismos psicrotróficos variou de apenas 10 UFC/mL, na propriedade P30, a até 2.000.000 UFC/mL, na propriedade P17 (Tabela 3). A média de microrganismos psicrotróficos das propriedades foi de 91.266,97 UFC/mL, sendo inferior à média de CBT encontrada no leite cru das propriedades produtoras de leite, de 239.363,64 UFC/mL.

A propriedade P17 apresentou a maior média na contagem de microrganismos psicrotróficos, formação de grumos no teste de alizarol, além de CCS e CBT acima do limite estabelecido pela legislação. A propriedade P17 estava com o seu resfriador em sua capacidade máxima, sendo o leite proveniente de várias ordenhas, e a temperatura estava em $4,5\text{ }^{\circ}\text{C}$, no momento da coleta, maior do que a média geral das temperaturas das propriedades ($4,04\text{ }^{\circ}\text{C}$).

Os microrganismos psicrotróficos não são considerados um componente importante da microbiota do úbere bovino e a sua presença no leite cru refrigerado provavelmente ocorre devido à contaminação durante e/ou após a ordenha, sendo o equipamento de ordenha, na maioria das vezes, o responsável pela contaminação. Esses microrganismos produzem enzimas proteolíticas e lipolíticas extracelulares durante o seu crescimento no leite cru e estas enzimas permanecem ativas após o tratado térmico. As bactérias psicrotróficas podem crescer consideravelmente durante o armazenamento refrigerado e, tanto seu metabolismo, quanto a produção de enzimas extracelulares, podem reduzir a qualidade e a vida de prateleira do leite comercial e de outros produtos lácteos⁽³⁰⁾.

A quantidade de microrganismos psicrotróficos, no leite cru das propriedades produtoras de leite (com uma média de 91.266,97 UFC/mL) representa 38,12% da CBT (com uma média de 239.363,64 UFC/mL). Ribeiro Junior et al.⁽²⁰⁾, em seu estudo, encontraram um percentual de 78% de psicrotróficos em relação à contagem bacteriana total. Para Mariotto et al.⁽³¹⁾, o leite de boa qualidade não deve possuir uma contagem de psicrotróficos maior que 10% da contagem de microrganismos mesófilos (ou CBT), sendo que essa proporção aumenta gradativamente em leites contaminados.

A contagem de microrganismos psicrotróficos para o leite cru refrigerado das indústrias foi de 10.000.000 UFC/mL, na indústria 1 e de 6.000.000 UFC/mL, na indústria 2 (Tabela 2). A média da quantidade de microrganismos psicrotróficos no leite cru das indústrias

analisadas foi de 8.000.000 UFC/mL, muito superior à média de psicrotróficos do leite cru das propriedades produtoras de leite, que foi de 91.266,96 UFC/mL (Figura 1b). Em relação à CBT, a média da contagem de microrganismos psicrotróficos, de 8.000.000 UFC/mL, foi mais de três vezes superior à média de CBT encontrada no leite cru das indústrias, de 2.532.500 UFC/mL.

De acordo com Paludetti, Kelly e Gleeson⁽³²⁾, os psicrotróficos mais comuns encontrados no leite cru durante o armazenamento refrigerado pertencem ao gênero *Pseudomonas* sp. e o leite com contagem de psicrotróficos superior a $5,0 \times 10^6$ UFC/mL deve ser rejeitado para processamento, devido a possível produção de enzimas por esses microrganismos. Em relação às quantidades de psicrotróficos encontradas nas propriedades desse estudo, nenhuma ultrapassou esse limite, e apenas uma propriedade (P17), o que representa 3% das amostras, apresentou contagens de psicrotróficos até 10^6 UFC/mL. De acordo com Ribeiro Junior et al.⁽²⁰⁾, que também obtiveram contagens abaixo de 10^5 UFC/mL, em seu estudo com leite cru, isso evidencia uma alta qualidade do leite produzido nas propriedades. Porém, em relação às indústrias, ambas apresentaram contagens entre 10^6 UFC/mL (indústria 2) e 10^7 UFC/mL (indústria 1), ultrapassando o limite considerado aceitável. Conforme esse mesmo autor, a deterioração do leite por psicrotróficos é perceptível quando a contagem atinge 10^6 UFC/mL.

A contagem de microrganismos psicrotróficos para leite pasteurizado das indústrias apresentou valores acima de 10^3 UFC/mL em ambas as indústrias, sendo 80.000 UFC/mL, na Indústria 1, e 40.000 UFC/mL, na indústria 2. O leite UHT das indústrias não mostram uma contagem de microrganismos psicrotróficos (Tabela 2). A quantidade de microrganismos psicrotróficos no leite pasteurizado das indústrias (80.000 UFC/mL, na indústria 1 e 40.000 UFC/mL, na indústria 2) foi muito superior à quantidade de microrganismos mesófilos do mesmo tipo de leite (9.700 UFC/mL, na indústria 1 e 510 UFC/mL, na indústria 2). Na indústria 1, a quantidade de psicrotróficos é quase oito vezes maior que a quantidade de mesófilos e na indústria 2, a quantidade de psicrotróficos é quase 80 vezes maior que a quantidade de mesófilos.

Embora a qualidade do leite fluido e dos produtos lácteos possa ser degradada por meio de diferentes mecanismos, sendo estes químicos e microbianos, o crescimento microbiano é predominante na deterioração. No caso do leite pasteurizado, uma das principais causas da deterioração microbiana do leite é a contaminação pós-pasteurização (CPP) com bactérias gram-negativas durante o processamento⁽³³⁾. Um grande número de bactérias pode causar problemas à qualidade dos leites processados. Esses microrganismos são do tipo psicrotróficos, termodúricos, termorresistentes e patogênicos. Microrganismos formadores de esporos e as enzimas termodúricas produzidas pelos psicrotróficos não são destruídos pela pasteurização e são

problemas comuns da qualidade do leite e dos produtos lácteos. Portanto, um maior controle da composição microbiana inicial do leite cru é de fundamental importância para a indústria de laticínios, a fim de reduzir ou limitar as perdas econômicas causadas por problemas de qualidade⁽²⁷⁾.

A quantidade de coliformes totais nas propriedades variou de 1 NMP/mL (duas propriedades) à 110 NMP/mL (dez propriedades) e a quantidade de coliformes termotolerantes variou de 1 NMP/mL (onze propriedades) a 110 NMP/mL (três propriedades). A média da quantidade de coliformes totais nas amostras das propriedades produtoras de leite do Vale do Taquari foi de 42,97 NMP/mL e a média de coliformes termotolerantes foi de 14,24 NMP/mL. As dez propriedades (P4, P5, P9, P14, P17, P19, P20, P24, P26, P32) que apresentaram contagem de coliformes totais em 110 NMP/mL, correspondem a 33,03% das amostras analisadas. Destas, apenas três (P9, P20 e P32), 10% das amostras, apresentaram essa mesma quantidade para os coliformes termotolerantes. Dentre estas dez propriedades,

sete (P4, P5, P14, P17, P19, P20, P26), apresentavam CCS acima do limite estabelecido pela legislação (Tabela 1). Das três exceções (P9, 924 e P32), duas estavam com CCS acima de 300 CS/mL, 365.000 (P9) e 467.000 (P24). A propriedade P32, que também apresentou a quantidade de coliformes termotolerantes em 110 NMP/mL, apresentou baixa CCS, com um valor de 190.000 CS/mL. A propriedade P17, que apresentou CCS, CBT, alizarol positivo e a maior contagem de psicotróficos, conforme já mencionado, também apresentou maiores quantidades de coliformes totais, evidenciando falhas de higienização da propriedade.

Nas indústrias, a quantidade de coliformes e termotolerantes no leite cru refrigerado foi de 110 NMP/mL para ambas, mostrando uma média superior à quantidade encontrada nas propriedades produtoras de leite (Figura 3a). O leite pasteurizado e o leite UHT das indústrias não demonstraram a presença de microrganismos do grupo dos coliformes.

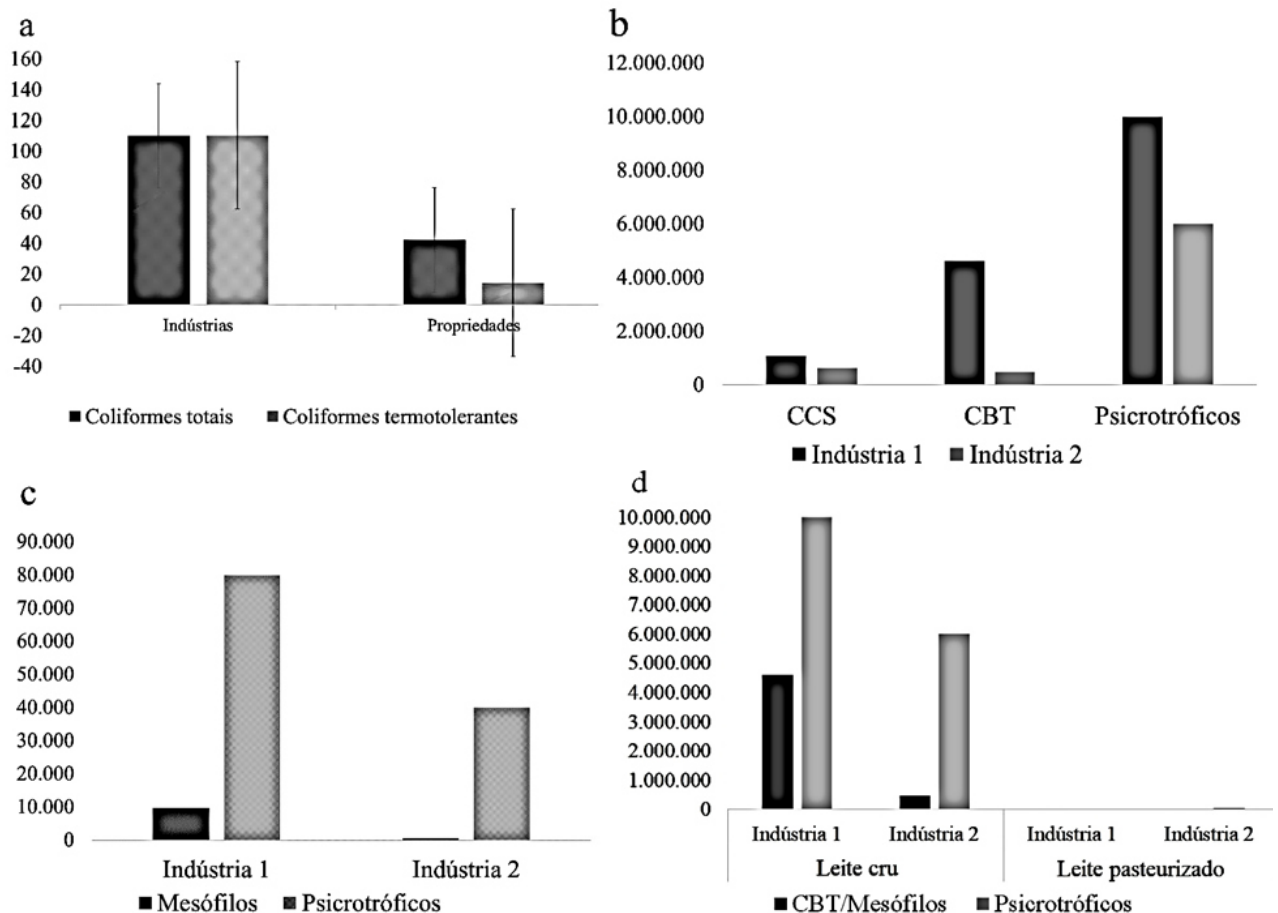


Figura 3. (a) Média da quantidade de coliformes totais e coliformes termotolerantes encontrados em amostras de leite cru refrigerado de indústrias do Vale do Taquari -RS e erro padrão; (b) Quantidade de CS, CBT e microrganismos psicotróficos encontrados no leite cru refrigerado das indústrias 1 e 2 do Vale do Taquari – RS; (c) Quantidade de microrganismos mesófilos e psicotróficos encontrados em amostras de leite pasteurizado das indústrias 1 e 2 do Vale do Taquari – RS; (d) Quantidade de microrganismos mesófilos (ou CBT) e microrganismos psicotróficos encontrados em leite cru refrigerado e em leite pasteurizado das indústrias do Vale do Taquari – RS.

A utilização de bactérias indicadoras, como é o caso do grupo dos coliformes totais e termotolerantes, teve como conceito inicial a investigação de contaminação fecal, servindo posteriormente como indicativo indireto de patógenos. No entanto, numerosos estudos ao longo dos anos mostraram uma falta de correlação entre a presença de indicadores e de patógenos nas amostras. Dessa forma, esses indicadores são atualmente utilizados como indicadores de saneamento. As bactérias do tipo coliformes podem ser encontradas em baixas quantidades, até 100 UFC/mL, no leite cru refrigerado de boa qualidade. Porém, a presença de grandes quantidades tem sido atribuída principalmente a condições insalubres de processamento. Os coliformes totais e termotolerantes não são microflora inerente ao leite cru e são introduzidos a partir do ambiente, úbere e equipamentos de ordenha⁽⁸⁾. Em casos de *Escherichia coli* em número elevado, podem ocorrer surtos de origem alimentar⁽²¹⁾.

O fato de o leite cru refrigerado das indústrias apresentarem maiores quantidades de CBT, psicrotróficos e coliformes totais e termotolerantes do que o leite cru refrigerado das propriedades produtoras de leite do Vale do Taquari, pode ser explicado pelo tempo de armazenamento do leite, que pode ocasionar a proliferação de microrganismos, principalmente psicrotróficos, que se multiplicam em baixas temperaturas. No caso dos microrganismos do grupo dos coliformes, a contaminação pode ser proveniente do ambiente, no momento da coleta do leite pelo caminhão-tanque. Já, a maior quantidade de CCS, pode ser explicada pelo fato de que o leite do caminhão-tanque é proveniente de várias propriedades, o que acaba por misturar leite com elevada CCS e leite com níveis aceitáveis, ocasionando o aumento geral de CCS no leite do caminhão-tanque.

Ao comparar a quantidade de CCS, CBT, mesófilos, psicrotróficos e coliformes totais e termotolerantes das duas indústrias analisadas, pode-se constatar que a indústria 1 apresentou maior quantidade de CCS, CBT e psicrotróficos (Figura 3b), no leite cru refrigerado e maior quantidade de mesófilos e psicrotróficos, no leite pasteurizado (Figura 3c), em relação à indústria 2. Dessa forma, o leite da indústria 2 apresenta qualidade microbiológica superior ao leite da indústria 1. A indústria 1 necessita de uma maior atenção nas formas de armazenamento e beneficiamento do leite, além de verificar eventuais contaminações pós-processamento. A contagem de psicrotróficos e CCS são 40% e 70%, respectivamente, superiores na indústria 1 em relação à indústria 2. A CBT da indústria 1 é 10 vezes maior que a CBT da indústria 2. Em relação ao leite pasteurizado, a contagem de mesófilos é 19 vezes maior na indústria 1 em relação à indústria 2, e a contagem de

psicrotróficos é exatamente o dobro que a contagem encontrada na indústria 2.

Apesar disso, é possível verificar a redução da CBT e do número de microrganismos mesófilos e psicrotróficos do leite cru refrigerado das indústrias para os leites pasteurizado e UHT. Isso indica que, de uma forma geral, os processos de beneficiamento das indústrias têm sido eficazes (Figura 3d) na diminuição de microrganismos. Essa redução chega a ser de 100% do leite cru refrigerado para o leite UHT, pois o mesmo não apresentou o crescimento de mesófilos, psicrotróficos ou presença de coliformes totais e termotolerantes. O leite pasteurizado das indústrias também não apresentou microrganismos do grupo coliformes, reforçando a questão da eficiência desse processo térmico na eliminação deste grupo de microrganismos.

Conclusão

As análises físico-químicas demonstraram que duas propriedades apresentaram acidez acima do estabelecido pela legislação para o leite cru refrigerado. As análises de composição do leite demonstraram que todas as propriedades e as indústrias estavam de acordo com o estabelecido para a lactose, proteína, gordura, EST e ESD, com exceção da propriedade 17 que apresentou excesso de gordura. A CCS demonstrou-se acima do limite estabelecido para 53,2% das propriedades e para as duas indústrias analisadas. As análises microbiológicas demonstraram que três propriedades e a indústria 1 estavam com a CBT acima do limite estabelecido. A indústria 1 apresentou ainda acidez acima do permitido nos três tipos de leite, cru refrigerado, pasteurizado e esterilizado, e densidade acima do estabelecido para o leite pasteurizado. As indústrias demonstraram maiores quantidades de CCS, CBT, psicrotróficos e coliformes totais e termotolerantes que as propriedades produtoras de leite do Vale do Taquari. O leite cru das propriedades demonstrou ter uma qualidade superior ao leite cru refrigerado encontrado nos caminhões-tanque das indústrias, fato que pode ser ocasionado devido a falhas no resfriamento ou períodos de armazenamento prolongados. O leite cru refrigerado e pasteurizado da indústria 2 apresentou uma qualidade microbiológica e físico-química superior à do leite cru refrigerado e pasteurizado da indústria 1. A avaliação da qualidade do leite produzido é de extrema importância para a identificação de possíveis falhas no processo produtivo, sendo essencial para a implantação de melhorias em todas as etapas da cadeia produtiva.

Conflito de interesses

Os autores declaram não haver conflito de interesses.

Contribuições do autor

Conceituação: T. Müller, M.J.Maciél e C. Rempel. *Curadoria de dados:* T. Müller. *Análise formal:* T. Müller. *Investigação:* T. Müller. *Metodologia:* M.J.Maciél. *Recursos:* M.J.Maciél e C. Rempel. *Gerenciamento do projeto:* C. Rempel. *Validação:* T. Müller. *Visualização:* T. Müller. *Supervisão:* M.J.Maciél e C. Rempel. *Redação (esboço original):* T. Müller. *Redação (revisão e edição):* M.J.Maciél e C. Rempel.

Referências

1. Oever SPVD, Mayer HK. Analytical assessment of the intensity of heat treatment of milk and dairy products. *International Dairy Journal*, 121 (105097), 2021. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2021.105097>.
2. IBGE, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - Pesquisa Trimestral do Leite - 2º trimestre de 2021, Acesso em novembro de 2021, Disponível em: https://www.ibge.gov.br/estatisticas/economicas/agricultura-e-pecuaria/9209_pesquisa-trimestral-do-leite.html?=&t=destaques
3. Brasil, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - MAPA, Instrução Normativa nº 77, de 26 de novembro de 2018, Oficializa os critérios e procedimentos para produção, acondicionamento, conservação, transporte, seleção e recebimento de leite cru em estabelecimentos cadastrados no o serviço oficial de fiscalização, na forma desta Instrução Normativa e seu Anexo, Diário Oficial da União, Brasília.
4. Brasil, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - MAPA, Instrução Normativa nº 76, de 26 de novembro de 2018, Oficializa os regulamentos técnicos que estabelecem as características de identidade e qualidade que o leite cru refrigerado deve apresentar, leite pasteurizado e pasteurizado tipo A leite, nos termos desta Instrução Normativa e do Anexo Único, Diário Oficial da União, Brasília.
5. Brasil, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - MAPA, Portaria nº 370, de 4 de setembro de 1997, Regulamento de inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal e regulamento técnico de identidade e qualidade de U,H,T (U,A,T) leite, Diário Oficial da União, Brasília.
6. Kilic-Akyilmaz M, Ozer B, Bulat T, Topcu A. Effect of heat treatment on micronutrients, fatty acids and some bioactive components of milk. *International Dairy Journal*, 126 (105231), 2021. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2021.105231>.
7. Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - MAPA. Instrução Normativa nº 55, de 30 de setembro de 2020. Altera a Instrução Normativa nº 76, de 26 de novembro de 2018. Diário Oficial, Brasília, 30 de setembro de 2020.
8. Metz M, Sheehan J, Feng PCH. Use of indicator bacteria for monitoring sanitary quality of raw milk cheeses - a literature review. *Food Microbiology*, 103283, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2019.103283>.
9. ISO. International Organization for Standardization. ISO 13366-2:2006. Leite - Enumeração de células somáticas - Parte 2: Orientação sobre a operação de contadores fluoro-óptico-eletrônicos.
10. ISO. International Organization for Standardization. ISO. 9622:2013. Leite e produtos lácteos líquidos - Diretrizes para aplicação da espectrometria no infravermelho médio.
11. Gasparotto, PHG, Daud C, Silva FRC, Filho JVD, Marchi PGF, Souza FA, Gujanswski CA, Rodrigues DS. Analyzes of alizarol, acidity and formaldehyde of uht milk commercialized

in the municipality of Ji-Paraná – Rondônia. *Journal Veterinary Science - Public health*. 7 (2), 084-096, 2020.

12. Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento -MAPA. Manual de Métodos Oficiais para Análises de Alimentos de Origem Animal, 2ª ed, 2019.

13. ISO. International Organization for Standardization. ISO 6731:2010. Leite, creme de leite e leite evaporado - Determinação do teor de sólidos totais (método de referência).

14. ISO. International Organization for Standardization. ISO 22662: 2007. Leite e produtos lácteos - Determinação do teor de lactose por cromatografia líquida de alta eficiência (método de referência).

15. NMKL – Nordval Internacional. NMKL 40. 2005. 2ª ed. Fedt. Determinação em leite pelo método do butirômetro (Gerber).

16. ISO. International Organization for Standardization. ISO 8968-1:2014. Leite e produtos lácteos - Determinação do teor de nitrogênio - Parte 1: Princípio de Kjeldahl e cálculo de proteína bruta.

17. ISO. International Organization for Standardization. ISO 21187:2004. Leite. Determinação quantitativa da qualidade bacteriológica - Orientação para estabelecer e verificar uma relação de conversão entre os resultados do método de rotina e os resultados do método âncora.

18. Apha. Métodos padrão para o exame de produtos lácteos, 17ª ed., 2004.

19. ISO. International Organization for Standardization. ISO 4831:2006. Microbiologia de alimentos e rações - Método horizontal para detecção e enumeração de coliformes - Técnica do número mais provável.

20. Ribeiro Júnior JC, Oliveira AM, Silva FG, Tamanini R, Oliveira ALM, Beloti V. The main spoilage-related psychrotrophic bacteria in refrigerated raw milk. *Journal of Dairy Science*, 101 (1), 75-83, 2018. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13069>.

21. Ndahetuye JB, Artursson K, Båge R, Ingabire A, Karege C, Djangwani J, Nyman, A, Ongol MP, Tukei M, Persson Y. Milk Symposium review: Microbiological quality and safety of milk from farm to milk collection centers in Rwanda. *Journal of Dairy Science*, 103 (11), 9730-9739, 2020. <https://doi.org/10.3168/jds.2020-18302>.

22. Carrillo-Lopez LM, Garcia-Galicia IA, Tirago-Gallegos JM, Sanchez-Veja R, Huerta-Jimenez M, Ashokkumar M, Alarcon-Rojo AD. Recent advances in the application of ultrasound in dairy products: Effect on functional, physical, chemical, microbiological and sensory properties. *Ultrasonics Sonochemistry*, 73 (105467), 2021.

23. Arbelo DDR, Braccini VP, Jiménez ME, Erhardt MM, Richards NSPS. Análise microbiológica e físico-química do leite produzido no município de Santana do Livramento – Rio Grande do Sul. *Pesquisa. Sociedade e Desenvolvimento*, 10 (6), e24310615561, 2021. DOI: <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v10i6.15561>.

24. Panciere BM, Ribeiro LF. Detecção e ocorrência de fraudes no leite fluido ou derivados. *Getec*, 10 (26), 1-17, 2021.

25. Manske GA, Schogor ALB, Ribeiro LF. Leite instável não-acido: revisão. *Getec*, 10 (28), 84-92, 2021.

26. Priyashantha H, Lundh A. Graduate Student Literature Review: Current understanding of the influence of on-farm factors on bovine raw milk and its suitability for cheesemaking. *Journal of Dairy Science*, 104 (11), 12173-12183, 2021. <https://doi.org/10.3168/jds.2021-20146>.

27. Skeie SB, Haland M, Thorsen IM, Narvhus J, Porcellato D. Bulk tank raw milk microbiota differs within and between farms: A moving goalpost challenging quality control. *Journal of Dairy Science*, 102, 1959-1971, 2019. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-14083>.
28. Costa HN, Lahen CFA, Malacco VMR, Belli AL, Carvalho AU, Facury EJ, Molina LR. Frequency of microorganisms isolated at different stages of lactation and milk production loss associated with somatic cell count and to mastitis-causing pathogens. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 71 (2), 393-403, 2019. <http://dx.doi.org/10.1590/1678-4162-10185>.
29. Baggio AP, Montanhini MTM. Qualidade de leite cru produzido na região do Norte Pioneiro do Paraná. *Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal*, 14 (3), 1 – 9, 2020. <http://dx.doi.org/10.5935/1981-2965.20200030>.
30. Narvhus JA, Bækklund ON, Tidemann EM, Ostlie HM, Abrahamsen RK. Isolates of *Pseudomonas* spp. from cold-stored raw milk show variation in proteolytic and lipolytic properties. *International Dairy Journal*, 123 (105049), 2021. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2021.105049>.
31. Mariotto LRM, Daniel GC, Gonzaga N, Mareze J, Tamarini R, Vanerli B. Potencial deteriorante da microbiota mesófila, psicrotrofica, termodúrica e esporulada do leite cru. *Ciência Animal Brasileira*, 21, e44034, 2020.
32. Paludetti LF, Kelly AL, Gleeson D. Effect of thermoresistant protease of *Pseudomonas fluorescens* on rennet coagulation properties and proteolysis of milk. *Journal of Dairy Science*, 103, 4043–4055, 2020. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-17771>.
33. Lau S, Trmicic A, Martin NH, Widemann M, Murphy SI. Development of a Monte Carlo simulation model to predict pasteurized fluid milk spoilage due to post-pasteurization contamination with gram-negative bacteria. *Journal of Dairy Science*, n. 105, 2021. <https://doi.org/10.3168/jds.2021-21316>.