

## AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DO LEITE CRU REFRIGERADO DE PROPRIEDADES RURAIS DO MUNICÍPIO DE OURO PRETO DO OESTE, RONDÔNIA

Juliana Rodrigues Santana<sup>1</sup>, Tiago Barcelos Valiatti<sup>2</sup>,  
Fabiana de Oliveira Solla Sobral<sup>3</sup>, Natália Faria Romão<sup>4</sup>

**Resumo:** O leite facilita o desenvolvimento de microrganismos patogênicos, devido seu alto valor nutritivo. Enquanto a qualidade do leite é determinada pela contagem bacteriana, a saúde do úbere se relaciona com a contagem de células somáticas. Outro fator importante são as análises físico-químicas influenciadas pela qualidade do leite no momento de produção. Esse estudo tem como finalidade avaliar a qualidade microbiológica, aspectos físico-químicos (determinação de densidade, amido, açúcar, pH, pesquisa de cloro e hipoclorito, teste de hidróxido de sódio, acidez e redutase) e contagem de células somáticas do leite em tanques de resfriamento, no município de Ouro Preto do Oeste-RO e sua adequação aos parâmetros da Instrução Normativa nº62 de 12/2011. Foram avaliados 12 tanques de resfriamento de leite, sendo um total de 24 amostras (parte inferior e superior). Os resultados demonstraram contagem bacteriana em todas as amostras acima de  $3,0 \times 10^5$  UFC/ml, valor determinado como regular pela Instrução Normativa nº 62 para a contagem de mesófilos aeróbios. Diferentemente, os resultados físico-químicos demonstraram que apenas 10% das amostras não estão dentro dos padrões estabelecidos pela legislação, referente a determinação de densidade, teste de acidez e teste de redutase, quando comparado aos demais testes realizados. Em relação a CCS, apenas as amostras 07, 09 e 10 apresentaram resultados superiores ao recomendado pela Instrução Normativa N°62, que preconiza resultado inferior a 400.000

- 
- 1 Bióloga graduada pelo Centro Universitário Luterano de Ji – Paraná (CEULJI/ULBRA). Mestranda em Agroecossistemas Amazônicos pela Universidade Federal de Rondônia (UNIR).
  - 2 Farmacêutico graduado pelo Centro Universitário Luterano de Ji – Paraná (CEULJI/ULBRA). Mestre em Microbiologia e Imunologia pela Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP). Doutorando no Programa de Pós-graduação em Infectologia da UNIFESP.
  - 3 Biomédica, Mestre em Mestre em Biologia Celular e Molecular Aplicada a Saúde pela Universidade Luterana Do Brasil (ULBRA).
  - 4 Bióloga, Mestre em Genética e toxicologia aplicada pela Universidade Luterana Do Brasil (ULBRA). Doutora em Biodiversidade e Biotecnologia da Amazônia Legal pela Rede BIONORTE. Docente do Centro Universitário São Lucas Ji – Paraná.

células/mL. Conclui-se que é necessário melhor manejo e o armazenamento do leite cru refrigerado a fim de diminuir a proliferação de microorganismos e consequentemente fornecer uma matéria-prima de qualidade para o consumidor.

**Palavras-chave:** tanque de resfriamento; células somáticas; pecuária leiteira.

## 1 Introdução

É incontestável o valor que a atividade leiteira adquiriu para o País, tanto na economia quanto na geração de empregos. Pesquisas afirmam que o setor envolve mais de 5 milhões de pessoas, com cerca de 1,3 milhão de produtores de leite (ZOCALL *et al.*, 2008). O Brasil é o quarto maior produtor de leite no mundo, com crescimento médio anual de 3,7% no período de 2013 a 2018, ficando atrás somente da Índia, Estados Unidos e Paquistão (STOCK *et al.*, 2020; ZOCALL, 2016). No Estado de Rondônia, a economia baseia-se na pecuária, onde inúmeras famílias vivem exclusivamente dessa atividade, englobando a produção leiteira com predomínio de pequenas propriedades, mesmo assim representa o oitavo lugar no ranking nacional de produção de leite (MARTELLI, 2012). As produtividades variam de inferior a 10 litros por dia realizados por pequenos produtores, até mesmo pecuaristas mais competitivos do mundo que utiliza as mais avançadas tecnologias para melhorar a produção (ZOCALL *et al.*, 2008).

Além de seu valor econômico, o leite é de suma importância para a alimentação humana, pois é o único alimento que por si só é capaz de sustentar a vida e o desenvolvimento de mamíferos, em função de suas qualidades nutricionais (PALMIQUIST, 2010), sendo que entre as diversas funções no organismo, destaca-se: obtenção diária de cálcio, formação da estrutura óssea além de ser fonte considerável de proteínas, vitaminas e minerais (PAULA *et al.*, 2010; MUNIZ *et al.*, 2013). Por esse fato inúmeras pesquisas afirmam que o consumo de produtos lácteos por longos períodos de tempo proporciona uma vantagem de sobrevivência global, visto que o leite é considerado um alimento nobre (PALMIQUIST, 2010; SILVA *et al.*, 2015).

Atualmente, a indústria de laticínios passa por intensa modernização, o que exige técnicas de higiene adequadas na produção, transporte e armazenamento, a fim de assegurar alimentos de qualidade ao consumidor e evitar a contaminação bacteriana, responsável por grandes prejuízos na produção (GUERREIRO *et al.*, 2005) já que o leite é um excelente meio para o desenvolvimento de microorganismos patogênicos.

A regulamentação da refrigeração do leite na zona rural sancionada através da Instrução Normativa (IN) nº51 de 2002 pelo Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA), foi o primeiro passo para reduzir a carga de microorganismos no leite, essa normativa definiu os padrões exigidos para obtenção do leite de qualidade, implantou a coleta a granel e seu resfriamento a 4°C em tanques de armazenamento, para que posteriormente seja levado

até os laticínios, assim a contagem bacteriana será pequena e os tanques de resfriamento contribuirão para a conservação da qualidade do leite. Segundo Lorenzetti (2006), o tempo de armazenamento nas propriedades leiteiras, as oscilações de temperaturas que são causadas a cada vez que um novo volume de leite é adicionado no tanque, e a higienização inadequada, são fatores determinantes para a qualidade do leite.

Posteriormente a Instrução Normativa nº 62 de 2011 estabelecida pelo Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento, descreve o leite sendo um produto vindo de ordenha sem interrupções, em condições adequadas de higiene, oriundo de vacas sadias e bem alimentadas, que apresente cor, aspecto, sabor e odor característico, além de definir a contagem de bacteriana, como um dos métodos mais eficiente para avaliação da qualidade do leite cru refrigerado. No ano de 2018, houve uma nova atualização nos padrões de produção leiteira, e atualmente estão em vigor as Instruções Normativas de nº76 e nº77.

Além da contagem bacteriana, as análises físico-químicas constituem um importante método de identificação da qualidade do leite cru armazenado em tanques de resfriamento, pois através desses exames é possível avaliar o valor alimentar, o rendimento do leite, além de identificar diversas fraudes (FERNANDES *et al.*, 2010), para que assim as indústrias possam atender os mais diversos requisitos para comercialização de um produto singular e de acordo com o que é exigido pela legislação (PAULA *et al.*, 2010).

A contagem de células somáticas é outro fator importante que está diretamente relacionada a higiene da ordenha e conseqüentemente na produção de um leite de qualidade (ZOCALL *et al.*, 2008). As células somáticas encontradas no leite, se tratam de células descamadas do epitélio secretor e principalmente de origem sanguínea, sendo em sua maioria, células de defesa do organismo, como os leucócitos (MACHADO *et al.*, 2000; JUNIOR *et al.*, 2013). A presença dessas células em elevadas quantidades pode implicar em prejuízos para os produtores, e para as indústrias de produtos lácteos, pois significa dificuldade no processamento, diminuição da produção, redução de tempo de vida nas prateleiras e alimentos com baixo valor comercial (CARVALHO *et al.*, 2007).

Considerando os aspectos citados, a importância do leite na alimentação humana, se torna visível a preocupação com a qualidade do leite disponível para consumo, portanto, este estudo tem por finalidade avaliar a qualidade microbiológica, fatores físico-químicos e contagem de células somáticas de leite cru armazenados em tanques de resfriamento, no município de Ouro Preto do Oeste – RO.

## **2 Materiais e métodos**

Foram analisadas amostras de leite de 12 tanques de refrigeração para avaliação da qualidade microbiológica, físico-químicas e contagem de células

somáticas. Dentre os 12 tanques analisados apenas, 3 pertenciam a produtores individuais, os demais eram tanques coletivos que recebiam leite de diversos produtores. A coleta foi realizada com auxílio de um coletor de aço inoxidável logo após a homogeneização do tanque. Após a coleta, foram aferidas as temperaturas das mesmas com auxílio de um termômetro e acondicionadas em caixas isotérmicas, contendo gelo, sendo posteriormente transportadas para o laboratório de microbiologia do Centro Universitário Luterano de Ji-Paraná, RO.

## 2.1 Análises microbiológicas

Para a realização das análises microbiológicas foram coletadas duas amostras de cada um dos 12 tanques de resfriamento de leite (parte inferior e parte superior) a fim de fazer uma comparação entre as partes, tais amostragens foram adquiridas em dias alternados totalizando assim 24 amostras.

As análises microbiológicas foram realizadas utilizando-se Petrifilm 3M TM®, *Rapid Coliform Count Plate* (AOAC® 986.33 & 989.10) para a pesquisa de mesófilos aeróbios. Primeiramente foi diluída 1 mL da amostra em 9 mL de água peptonada 0,1%, sendo, em seguida, realizadas as diluições decimais, com transferências sucessivas de alíquotas de 1mL em tubos de ensaio contendo o mesmo diluente, até a diluição  $10^{-8}$ . Foram então inoculadas 1 mL das diluições em placas 3M Petrifilm TM®, em seguidas foram incubadas em estufa a 35°C por 48 horas. Decorrente às 48 horas foi realizada a contagem das colônias crescentes no meio, onde o resultado foi expresso em UFC/mL.

## 2.2 Análises físico-químicas

Foram realizadas as seguintes análises físico-químicas: determinação de densidade a 15 °C, determinação de amido, determinação de açúcar, pesquisa de cloro e hipoclorito, neutralizante de acidez (teste de hidróxido de sódio), teste de acidez através do método Dornic, teste de redutase (determinado pela Instrução Normativa nº51) e determinação de pH. Realizou-se os métodos conforme determina a IN nº 68 do MAPA e como sugerem Paula *et al.* 2010.

Para a determinação da densidade a 15°C foi adicionado 250 mL do leite, homogeneizado e resfriado em uma proveta, onde foi imerso lentamente um termolactodensímetro, girando a 360° para remover a tensão superficial. Após a estabilização foi feita a leitura da densidade e temperatura, sendo anotada para posterior conversão, quando necessário.

O método qualitativo utilizado para identificação do amido foi realizado adicionando 10 mL da amostra em um tubo de ensaio, aquecendo no bico de Bunsen, em seguida, acrescentou 5 gotas do reagente lugol e observou a coloração formada. Como resultado, a cor marrom indicou a presença do amido, já a formação de flocos azuis ou a coloração do lugol, mostrou ausência da substância.

Para identificação da fraude através da adição de açúcares, a análise foi feita transferindo 2 mL da amostra para um tubo de ensaio, acrescentando 2 mL de ácido clorídrico, homogeneizando e posteriormente sendo levado ao banho-maria por exatamente 2 minutos. O resultado mostrou-se positivo quando houve coloração rósea imediata, caso contrário, negativo. Vale resaltar que também é considerado negativo, caso a coloração rósea não seja imediata.

Para identificar a fraude de neutralização com agentes alcalino, utilizando o hidróxido de sódio foram realizadas análises da seguinte maneira: pipetou-se 5 mL da amostra em um tubo de ensaio, onde foram acrescentadas 4 gotas de azul de bromotimol, homogeneizou e em seguida procedeu a leitura, sendo que a coloração azul esverdeado indicou resultado positivo e cor amarelo, resultado negativo.

Para realizar o teste de acidez pelo método Dornic, foi adicionado 10 mL da amostra do leite homogeneizada em um becker, acrescido de 4 gotas de fenolftaleína a 1%. Foi titulado com solução Dornic até obter o ponto de viragem, que se dá pelo aparecimento de uma leve coloração rósea. O volume gasto no titulador foi anotado e expresso em graus Dornic.

Para determinação do pH foi utilizado um pHmetro digital, que após sua estabilização e calibração foi feito a leitura das amostras, contidas em beckers de 50 mL.

Para prova da redutase, foi misturado 10 mL de leite com 1 mL de azul de metileno, que tem a capacidade de indicar o potencial de oxido-redução. Posteriormente, o tubo foi colocado em banho-maria a uma temperatura constante de 37 °C e analisado até a redução da substância indicadora.

### **2.3 Contagem de células somáticas**

Para a contagem de células somáticas (CCS) foi utilizado o kit Somaticell®, seguindo a metodologia estabelecida pelo fabricante. Este teste, tem como base a propriedade das células somáticas aumentar a viscosidade do leite quando entra em contato com reagente específico, sendo assim, quanto maior a viscosidade do leite maior a quantidade de células somáticas.

Com o tubo na posição vertical, foi adicionado reagente até a marca de 02 mL, em seguida com ajuda de uma pipeta foi acrescentado 02 mL de leite atingindo assim a marca de 04 mL. O tubo permaneceu mantido em posição vertical e a solução foi agitada com auxílio de um canudo fazendo em média 30 movimentos de sobe e desce, por um período de 20 a 24 segundos. Depois de realizada a homogeneização, o tubo foi fechado com a tampa própria até o seu travamento e virado, deixando a tampa para baixo por 30 segundos cronometrados. Posteriormente o tubo foi virado novamente aguardando 5 segundos para a leitura do líquido remanescente na escala graduada do próprio tubo (Langoni *et al.*, 2012).

Como o estudo foi desenvolvido dentro do período de vigência da Instrução Normativa nº62, a mesma foi utilizada para interpretação dos resultados.

### 3 Resultados e discussões

#### 3.1 Análises microbiológicas

Dentre os diversos fatores que influenciam na qualidade do leite, o manejo e o armazenamento são critérios importantes que garantem um produto singular (GUERREIRO *et al.*, 2005). A Tabela 1 evidencia os resultados encontrados nas análises microbiológicas onde se observa que todas as amostras coletadas estavam acima do limite determinado pela Instrução Normativa nº 62 de 2011, para a contagem de mesófilos aeróbios, considerando que os valores estabelecidos eram de  $3,0 \times 10^5$  UFC/ml.

Tabela 1: Contagem de Mesófilos Aeróbios nas amostras de leite cru refrigerado expressos em Unidades Formadoras de Colônias (UFC) por mL de Leite.

Amostra	Local	Tipo do tanque	Contagem de Mesófilos Aeróbios (UFC/mL)	Local	Tipo do tanque	Contagem de Mesófilos Aeróbios (UFC/mL)
1	Parte Inferior	Individual	$2,2 \times 10^6$	Parte Superior	Individual	$1,4 \times 10^7$
2		Coletivo	$2,4 \times 10^7$		Coletivo	$3,3 \times 10^6$
3		Coletivo	$4,4 \times 10^6$		Coletivo	$6,1 \times 10^6$
4		Coletivo	$1,0 \times 10^7$		Coletivo	$7,4 \times 10^6$
5		Coletivo	$4,0 \times 10^8$		Coletivo	$6,6 \times 10^8$
6		Coletivo	$1,1 \times 10^7$		Coletivo	$1,6 \times 10^7$
7		Coletivo	$3,6 \times 10^6$		Coletivo	$1,0 \times 10^7$
8		Coletivo	$3,0 \times 10^7$		Coletivo	$8,9 \times 10^7$
9		Coletivo	$6,9 \times 10^6$		Coletivo	$2,8 \times 10^6$
10		Coletivo	$8,5 \times 10^6$		Coletivo	$3,2 \times 10^6$
11		Individual	$8,9 \times 10^5$		Individual	$1,2 \times 10^6$
12		Individual	$7,1 \times 10^5$		Individual	$9,9 \times 10^5$

As maiores contagens mesofílicas podem estar associadas a diferentes origens e graus de contaminação, mostrando que é de suma importância o esforço de toda a cadeia leiteira para evitar desenvolvimento de microrganismos, enquanto as menores contagens bacterianas podem ser resultantes de uma constante homogeneização do leite nos tanques (LORENZETTI, 2006).

Os resultados apresentaram contagens superiores ao preconizado pela legislação para microrganismos mesófilos aeróbios em todos os tanques analisados, seja ele individual ou coletivo, mostrando que a quantidade de produtores que armazenam leite em tanques de resfriamento não influencia na contagem de bactérias mesófilas.

Menezes et., al (2015), em seu estudo sobre a qualidade microbiológica do leite cru produzido no norte de Minas Gerais observou contagens de microrganismos mesófilos de  $35,5 \times 10^6$  UFC/mL, também acima do recomendado pela Instrução Normativa nº 62 e destaca as práticas higiênicas inadequadas como um dos principais fatores da contaminação.

A qualidade inicial do leite é determinante para a qualidade do leite pasteurizado, pois uma matéria-prima de má qualidade posteriormente a pasteurização não se recupera totalmente, sendo assim, fundamental garantir um produto satisfatório (OLIVEIRA *et al.*, 2006).

Junior et., al (2014) verificaram o impacto da implantação de boas práticas de higiene em 92 propriedades da região norte central do estado do Paraná, onde constataram que houve diminuição da carga microbiana nas propriedades que implantaram das boas práticas, demonstrando a importância desta na qualidade do leite.

A falta de informação é o principal problema entre os produtores para que estes atuem diretamente no controle da taxa de contaminação de seu produto, sendo necessária a intervenção de órgãos governamentais na prestação de assistência a esses produtores (LUZ *et al.*, 2011)

Nero *et al.*, (2009) destaca que a refrigeração é uma ferramenta fundamental para promover uma qualidade do leite, sendo, portanto, recomendado que em todos os locais que produzem leite se tenha um tanque para refrigeração do leite.

O comprometimento da qualidade do leite se dá por vários fatores, dentre eles, as condições de higiene da ordenha, pois, o local de ordenha, utensílios e água utilizada influenciam diretamente a carga microbiana do leite, que é um excelente meio para proliferação de bactérias (LUZ *et al.*, 2011). Portanto, quanto mais limpo estiver o ambiente menor será a chance de microrganismos contaminarem o leite.

### **3.2 Análises físico-químicas**

Diversos fatores influenciam na produção de um leite de qualidade no que se refere a seus aspectos físico-químicos, portanto conhecer a estabilidade dos principais componentes deste produto é fundamental para realização de testes que tenham a finalidade de comprovarem se o leite consumido pela população está de acordo com os padrões determinados pela legislação (FERNANDES *et al.*, 2010).

A legislação brasileira considera fraude a adição de água, subtração de qualquer dos seus componentes, adição de substâncias conservadoras ou de quaisquer elementos estranhos á sua composição; for de um tipo e se apresentar rotulado como de outro de categoria superior. Inicialmente, as adulterações tinham como principal objetivo o aumento do volume do leite, por meio da adição de água, posteriormente foram surgindo novos meios de mascarar esse aumento de volume irregular, surgindo assim adição de substâncias conservadoras, neutralizantes e reconstituintes de densidade, como por exemplo, sal, açúcar, amido entre outros (ABRANTES et., al 2014).

As Tabelas 2 e 3 indicam os resultados obtidos das análises físico-químicas das amostras de leite cru provenientes de tanques de refrigeração no município de Ouro Preto do Oeste- RO.

Tabela 2. Resultados de análises físico-químicas das amostras de leite cru refrigerado provenientes do município de Ouro Preto do Oeste-RO.

Amostra	Tipo tanque	Temperatura na coleta	pH	Determinação da Densidade	Pesquisa Cloro e Hipoclorito	Determinação de Amido
1	Individual	14,7°C	6,7	1,0316	Negativo	Negativo
2	Coletivo	11,3°C	6,72	1,0321	Negativo	Negativo
3	Coletivo	14,3°C	6,69	1,0322	Negativo	Negativo
4	Coletivo	13,7°C	6,73	1,0324	Negativo	Negativo
5	Coletivo	14,3°C	6,74	1,0315	Negativo	Negativo
6	Coletivo	12,8°C	6,71	1,0314	Negativo	Negativo
7	Coletivo	16,9°C	6,71	1,0318	Negativo	Negativo
8	Coletivo	14,5°C	6,74	1,0328	Negativo	Negativo
9	Coletivo	17,8°C	6,76	1,0310	Negativo	Negativo
10	Coletivo	18,2°C	6,74	1,0320	Negativo	Negativo
11	Individual	4,9	6,7	1,0360	Negativo	Negativo
12	Individual	6,1	6,72	1,0320	Negativo	Negativo

Tabela 3. Resultados de análises físico-químicas das amostras de leite cru refrigerado provenientes do município de Ouro Preto do Oeste-RO.

Amostra	Tipo tanque	Determinação açúcar	Neutralizante acidez (NaOH)	Teste acidez (Dornic)	Teste Redutase horas/redução
1	Individual	Negativo	Negativo	23°D	Acima de 5h
2	Coletivo	Negativo	Negativo	17°D	Acima de 5h
3	Coletivo	Negativo	Negativo	21°D	Acima de 5h
4	Coletivo	Negativo	Negativo	29°D	Abaixo de 3h
5	Coletivo	Negativo	Negativo	29°D	Abaixo de 1h
6	Coletivo	Negativo	Negativo	25°D	Abaixo de 4h
7	Coletivo	Negativo	Negativo	19°D	Acima de 5h
8	Coletivo	Negativo	Negativo	20°D	Abaixo de 1h
9	Coletivo	Negativo	Negativo	17°D	Abaixo de 4h
10	Coletivo	Negativo	Negativo	15°D	Abaixo de 4h
11	Individual	Negativo	Negativo	16 °D	Acima de 5h
12	Individual	Negativo	Negativo	14 °D	Acima d 5h

O pH apresentou variação entre 6,6 a 6,7, se enquadrando dentro do padrão recomendada pela legislação vigente (6,4 a 6,8). Paula *et al.* (2010), em seu estudo sobre o leite cru refrigerado provenientes das propriedades leiteiras da região sul fluminense, também encontraram os mesmos resultados. Já Oliveira *et al.* (2010), pesquisando sobre a composição físico-químico do leite, em diferentes fases de lactação, encontrou valores de pH bem variados que chegaram até 7,4. O pH, constitui um importante indicador da qualidade sanitária do leite, pois indica o nível de acidez do produto, constituindo um dos testes indispensáveis para analisar a qualidade do leite.

A densidade do leite é uma relação entre sua massa e o seu volume, normalmente medida a 15°C ou corrigida para essa temperatura. Entre as principais vantagens desse teste, destaca-se a possibilidade de identificar se há adição fraudulenta de água no leite. Nesse estudo, no teste de determinação da densidade os resultados variaram entre 1,031 e 1,036 g/mL, com maior densidade no tanque 11 (1,036 g/mL), portanto apenas 01 amostra não se encontra dentro do padrão determinado pela Instrução Normativa 62, que determina uma variação aceitável entre 1,028 e 1,034 g/mL. Mesmo assim, a maioria dos tanques analisados não apresentaram alteração no leite em relação ao teste de densidade.

Semelhantemente, Fernandes *et al.* (2010), Firmino *et al.* (2010), Mendes *et al.* (2010) e Paula *et al.* (2010), evidenciam resultados que também se

encontram dentro das normas da legislação vigente, apresentando resultados entre 1,028g/mL e 1,031 g/mL. Em contrapartida, Belloti *et al.*, (2011) avaliou 103 amostras de leite cru refrigerado no município de Sapopema/PR, das quais 9,7% apresentaram densidade inferior a 1,028 g/mL, portanto fora do padrão considerado normal. Vale ressaltar que a densidade pode variar principalmente devido a adição de água no leite.

Na pesquisa de cloro e hipoclorito, todas as amostras analisadas apresentaram resultado negativo para esse parâmetro e, portanto, estão de acordo com a Instrução Normativa N°62 (12/2012). Vários estudos obtiveram esse mesmo resultado (Fernandes *et al.*, 2010, Pereira *et al.*, 2010), mostrando que é possível produzir uma matéria-prima de qualidade que irá se refletir na produção dos derivados do leite. Em contrapartida, Firmino *et al.*, (2010) encontrou resultados positivos na pesquisa de cloro e hipoclorito em 36,0% das amostras analisadas, na região de Rio Pomba-MG, podendo indicar elevada incidência de mastite ou adição fraudulenta de sal ao leite.

O amido, devido principalmente ao baixo custo e a facilidade de execução, vem sendo utilizado na fraude do leite para aumentar o volume, o peso ou simplesmente para disfarçar a adição de água, pois promove um efeito espessante, mascarando o teste de densidade. No entanto, nenhuma amostragem avaliada apresentou resultado positivo para a análise de amido, indo de encontro com o resultado encontrado por Firmino *et al.*, (2010) que obteve o mesmo resultado, na cidade de Rio Pomba, Minas Gerais. Pereira *et al.* (2010) em seu estudo de caracterização do leite cru comercializado no município de lavras, Minas Gerais, também não encontrou amido presente nas 10 amostras em teste. Resultado similar também foi apresentado por Campos *et al.* (2011) e Fernandes *et al.* (2010), portanto assim com os trabalhos citados, o leite em questão analisados estão em conformidade com a legislação em vigor.

Assim como na pesquisa de Pereira *et al.* (2010), no presente trabalho, os testes físico-químicos realizados não detectaram a presença de açúcares. A adição desse reconstituente ao leite é uma prática imprópria, a fim de esconder alguma anormalidade do produto em relação a densidade, por esse fato a legislação não permite a adição de substâncias capazes de alterar e/ou fraudar a elaboração do leite cru. O resultado encontrado nessa pesquisa se difere e muito dos encontrados em outras pesquisas como o de Campos *et al.* (2011), que verificaram fraude em leite pasteurizado produzido na região de Brasília, Distrito Federal, onde encontraram adição de açúcar em larga escala e destaca que em certas marcas, foram identificadas esse reconstituente em 100% das amostras.

Dentre as adulterações, para diminuir o excesso de acidez no leite, a neutralização com agentes alcalinos, como por exemplo o hidróxido de sódio, é a mais praticada. A pesquisa de neutralizante de acidez (teste da presença de hidróxido de sódio) apresentou resultados negativos para todas as 12 amostras analisadas. Fernandes *et al.*, (2010), realizando o mesmo experimento, mas em

laticínio em Bicas-MG, obteve resultados negativos no teste de neutralizante de acidez. E afirma que, os produtores estão conscientes sobre a necessidade de produzir um leite de qualidade, conforme determina a Instrução Normativa N°62.

Os resultados encontrados para o teste de acidez através do método Dornic variaram entre 0,014 g/mL a 0,029, sendo que apenas 5 tanques (T2, T9, T10, T11 e T12) estão dentro das normas estabelecidas pela Instrução Normativa N°62, onde a aceitabilidade é de 0,14 a 0,18 g/mL. Semelhante, Battaglioni *et al.*, (2013), Tamanini *et al.*, (2011) encontraram valores acima de 0,18 g/mL e afirmam que além das bactérias ácido-láticas fermentativas, existem outros fatores que contribuem para a acidez, como por exemplo alta contagem de células somáticas e temperatura. Esses valores diferem dos encontrados por Fernandes *et al.*, (2010), Mendes *et al.*, (2010), Paula *et al.*, (2010), onde os resultados estão de acordo com o estabelecido pela legislação, e, portanto, conseguem passar pelo processo de pasteurização. O teste de acidez pelo método dornic permite avaliar com exatidão o teor de ácido láctico no leite através do indicador fenolftaleína.

Em relação a prova de reductase, observou-se uma variação de tempo inferior a 01 hora, indicando alto índice de contaminação bacteriana, até mesmo uma redução acima de 05 horas, sendo este último resultado expresso nos tanques 01, 03, 07, 11 e 12. A legislação preconiza um tempo de redução acima de 90 minutos, sendo assim, apenas os tanques 05 e 07 não estão de acordo com as normas, pois tiveram tempo de redução inferior a 01 hora. Fernandes *et al.*, (2010) também encontraram redução em tempos diferentes, variando entre 172 a 240 minutos, demonstrando uma considerável concentração de bactérias nas amostras.

### **3.3 Contagem de células somáticas**

A contagem de células somáticas pode aumentar quando, a atividade dos microrganismos da glândula mamária libera substâncias que estimulam a migração dos leucócitos, que são células de defesa, para tentar reverter o processo infeccioso, e geralmente, o aumento da CCS é a principal característica usada para o diagnóstico da mastite subclínica (MACHADO *et al.*, 2000). A Tabela 4 mostra os resultados encontrados na contagem de células somáticas, tanto na parte inferior quanto superior do tanque de resfriamento.

Tabela 4. Contagem de Células Somáticas (CCS) por mL de Leite armazenados em tanques de resfriamento de produtores do município de Ouro Preto D'Oeste – RO.

Amostra	Local	Tipo do tanque	Contagem de Células Somáticas	Local	Tipo do tanque	Contagem de Células Somáticas
1	Parte Inferior	Individual	89.000	Parte Superior	Individual	98.000
2		Coletivo	79.000		Coletivo	224.000
3		Coletivo	89.000		Coletivo	108.000
4		Coletivo	89.000		Coletivo	340.000
5		Coletivo	89.000		Coletivo	89.000
6		Coletivo	244.000		Coletivo	98.000
7		Coletivo	530.000		Coletivo	224.000
8		Coletivo	263.000		Coletivo	379.000
9		Coletivo	470.000		Coletivo	418.000
10		Coletivo	379.000		Coletivo	457.000
11		Individual	89.000		Individual	98.000
12		Individual	98.000		Individual	108.000

Na parte inferior do tanque as maiores contagens foram registradas no tanque 7 (530.000), tanque 8 (470.000) e tanque 10 (379.000), sendo que a maioria das amostras da parte inferior apresentaram resultados abaixo de 89.000 células/mL. Já na parte superior do tanque de resfriamento, nas amostras dos tanques 8 (379.000), tanque 9 (418.000) e tanque 10 (457.000), foram encontradas um maior número de células somáticas, e apenas 01 amostra (tanque 05) apresentou resultado inferior a 89.000 células/mL.

A Instrução Normativa N° 62 (12/2012) estabelece que a partir de 01 de julho de 2016, a contagem de células somáticas deve ser no máximo 400.000 células/mL. No contexto geral, apenas 3 tanques (T7,T9 e T10), estão com CCS superior ao recomendado pela legislação e 75% das amostras se enquadram nos padrões determinados pela IN62.

Filho *et al.*, (2011) encontrou resultados satisfatórios em relação a contagem de células somáticas, sendo que praticamente todas as amostras se encontraram dentro dos padrões estabelecidos pela legislação, mas salienta que apenas a CCS não pode ser levada em consideração ao se tratar da qualidade do leite, devendo utilizar outras análises como por exemplo a Contagem Bacteriana Total. Diferente desse estudo, Sollecito *et al.*, 2011, Janstch *et al.*, (2013), Lima *et al.*, (2015), encontrou altas contagens de células somáticas, o que mostra que o leite que chega nas indústrias apresenta anormalidades em relação a CCS.

Santos *et al.*, (2015) realizou um estudo sobre a qualidade microbiológica do leite cru refrigerado e da água utilizada em propriedades leiteiras da microrregião de Garanhuns-PE, e das 32 amostras analisadas, 43,7% estavam fora dos padrões estabelecidos pela IN 62.

#### 4 Conclusão

Pode-se concluir que 90% das amostras analisadas apresentaram-se dentro dos parâmetros determinado pela legislação em relação as análises físico-químicas e 75% estavam com contagem de células somáticas em níveis aceitáveis. Contudo, foi observado altas temperaturas, que provavelmente foi um fator determinante na elevada contagem de microrganismos mesófilos. Sendo assim, faz se necessário manter uma temperatura abaixo de 4°C nos tanques de resfriamento ou um transporte em menor tempo para as indústrias de processamento, a fim de diminuir a multiplicação desses microorganismos.

#### Referências

BATTAGLINI, A. P. P. *et al.* Caracterização físico-química e microbiológica do leite bovino estavel não ácido em funções das estações do ano. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v.35, n.1, p.26-32, 2013.

BRASIL. **Instrução Normativa N° 51**. Aprova os Regulamentos Técnicos 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 União. 18 de setembro, 2002. P. 55.

BRASIL.**Instrução Normativa N° 62**. 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. De 29 de dezembro de 2011. Diário Oficial União, 2011. P. 24.

BRASIL. **Instrução Normativa N° 76**. Aprova os Regulamentos Técnicos que fixam a identidade e as características de qualidade que devem apresentar o leite cru refrigerado, o leite pasteurizado e o leite pasteurizado tipo A. De 26 de novembro, 2018. Diário Oficial União, 2018, P.09.

BRASIL. **Instrução Normativa N° 77**. Estabelece os critérios e procedimentos para a produção, acondicionamento, conservação, transporte, seleção e recepção do leite cru em estabelecimentos registrados no serviço de inspeção oficial. De 26 de novembro de 2018. Diário Oficial União, 2018.P10.

BELOTI, V. *et al.* Qualidade microbiológica e físico-química do leite cru refrigerado produzido no município de Sapopema/PR. **Revista científica eletrônica de medicina veterinária**, ano IX, n.16, 2011.

CARVALHO, L.B. *et al.* Contagem de células somáticas e isolamento de agentes causadores de mastite em búfalas (*Bubalus bubalis*). **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária Zootecnia**, v.59, n.1, p.242-245, 2007.

CAMPOS, A. A. R. *et al.* Avaliação físico-química e pesquisa de fraudes em leite Pasteurizado integral tipo c produzido na região de Brasília, Distrito Federal. **Revista Instituto Laticínios Cândido Tostes**, v.66, n.379, p.30-34, 2011.

EMBRAPA. Gado de leite: **Panorama do leite**. Juiz de Fora. 2013. 11f.

FERNANDES, V. G.; MARICATO, E. Análises físico-químicas de leite cru de um laticínio em Bicas-MG. **Revista Instituto Laticínios Cândido Tostes**, v.65, n° 375, p.8, 2010.

FILHO, J.B.; CARVALHO, J. M. Contagem de células somáticas em leite cru refrigerado após implantação da instrução normativa 51, no nordeste. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v.13 n. 2, p. 137-142, 2011.

FIRMINO, F. C. *et al.* Detecção de fraudes em leite cru dos tanques de expansão da região de Rio Pomba, Minas Gerais. **Revista Instituto Laticínios Cândido Tostes**, v.65, n. 376, p.5-11, 2010.

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

JANTSCH, T.F. Avaliação estatística da qualidade microbiológica do leite em uma plataforma leiteira. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, ano. XI, n. 20 (periodico semestral), 2013.

JUNIOR, J.C.R. *et al.* Influência de boas práticas de higiene de ordenha na qualidade microbiológica do leite cru refrigerado. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**. v. 69, n. 6, p. 395-404, 2014.

LANGONI, H.; PENACHIO, D. S.; NOBREGA, D. B. Somaticell® as a screening method for somatic cell count from bovine milk. **Revista Ciência Rural**, v.6, n.42, p.1095-101, 2012.

LIMA, A.C.R.M. *et al.* Microbiological profile of milk produced on dairy farms in the state of São Paulo according to the standards of normative instruction 62 of the brazilian ministry of agriculture, livestock and food supply. **Acta Veterinaria Brasilica**, v.9, n.2, p.114-125, 2015.

LORENZETTI, D. K. Influência do tempo e da temperatura no desenvolvimento de microrganismos psicotróficos no leite cru de dois Estados da Região Sul. [Monografia]. Curitiba – PR. 71f. 2006.

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

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

MARTELLI S. F. Fatores que afetam a produtividade do leite em propriedades da zona rural do município de Ji-paraná- Rondônia. [Monografia]. Ji-Paraná-RO, 2012. 12f.

MENDES, C. G. *et al.* Análises físico-química e pesquisa de fraude no leite informal comercializado no município de Mossoró, RN. **Ciencia Animal Brasileira**, v.11, n. 2, p. 349-356, 2010.

MENEZES I. R. *et al.* Qualidade microbiológica do leite cru produzido no Norte de Minas Gerais. **Revista Brasileira de Ciências Veterinárias**, v.22, n.1, p. 58-63, 2015.

MUNIZ L. C.; MADRUGA S. W.; ARAUJO C. L. Consumo de leite e derivados entre adultos e idosos no Sul do Brasil: um estudo de base populacional. **Revista Ciência & Saúde Coletiva**, v.18, n.12, p.3515-3522, 2013.

NERO, L. A.; VIÇOSA, G.N.; PEREIRA, F.E.V. Qualidade microbiológica do leite determinada por características de produção. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 29, n.2, p.386-390, 2009.

OLIVEIRA, A. X. *et al.* Enumeração de coliformes totais e bactérias mesófilas em leite pasteurizado tipo C comercializado na cidade de Salvador, Bahia. **Revista Higiene Alimentar**. v. 21, n. 150, p.235, 2006.

OLIVEIRA, E.N.A. *et al.* Composição físico-química de leite em diferentes fases de lactação. **Revista Acadêmica Ciência Agrária Ambiental**, v.8 n.4, p.409-415, 2010.

PALMQUIST, D. L. Great discoveries of Milk for a healthy diet and a healthy life. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, p.465-477, 2010.

PAULA, F. P.; CARDOSO, C. E.; RANGEL, M. A. C. Análises físico-químicas do leite cru refrigerado provenientes das propriedades leiteiras da região sul fluminense. **Revista eletronica TECCEN**, v.3, n. 4, p. 7-18, 2010.

PEREIRA, C. G. *et al.* Caracterização físico-química do leite cru comercializado no município de Lavras- MG. **Revista Inst. Laticínios Candido Tostes**, n.372, p.18-25, 2010.

PETRIFILM: **Placas para contagem de mesófilos aeróbios**. Instrução de uso. 3M do Brasil Ltda. Disponível em: <http://www.solutions.3m.com.br>. Acesso em: 17 set. 2016.

PETRIFILM: **Guia de interpretação para contagem de aeróbios**. Disponível em: [www.multimedia.3m.com](http://www.multimedia.3m.com)>. Acesso em: 21 set. 2016.

RIBEIRO JUNIOR, J. C.; BELOTI, V.; SILVA, L. C. C.; TAMNINI, R. Avaliação da qualidade microbiológica e físico-química do leite cru refrigerado produzido na região de Ivaiporã, Paraná. **Revista Inst. Laticínios Cândido Tostes**, v. 68, n. 392, p. 5-11, 2013.

SANTOS, J.F.*et al.* Qualidade microbiológica do leite cru refrigerado e da água utilizada em propriedades leiteiras da microrregião de Garanhuns-pe, **Acta Veterinaria Brasilica**, v. 9, n.1, p.71-76, 2015.

SOLLECITO, N. V.; LOPES, L. B.; LEITE, R.C. Contagem de células somáticas, perfil de sensibilidade antimicrobiana e microrganismos isolados de mastite em búfalos: uma breve revisão. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 33, n.1, p. 18-22, 2011.

TAMANINI, R.; BELOTI, V.; RIBEIRO JUNIOR, *et al.* Contribuição ao estudo da qualidade microbiológica e físico-química do leite UHT. **Revista Inst. Laticínios Cândido Tostes**, v.66, n. 382, p.27-33, 2011.

STOCK, L.A., RESENDE, J.C., LEILTE, J.L.B. Produção mundial de leite: tendências nos principais países. **EMBRAPA: Anuário Leite 2020**. P.29.

ZOCALL, R.; CARNEIRO, A. V. Conjuntura atual do leite brasileiro. **Revista Balde Branco**, ano XLIV, n.528, p. 94-95, 2008.

ZOCALL, R. Alguns números do leite. **Revista Balde Branco**. São Paulo. Setembro, 2016. Disponível: [www.baldebranco.com.br/algunsnumerosdoleite](http://www.baldebranco.com.br/algunsnumerosdoleite). Acesso em: 19 set. 2016.