

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
SISTEMA UNIVERSIDADE ABERTA DO BRASIL
CURSO LICENCIATURA EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS EAD

Thais Pricila Sartor

Qualidade microbiológica e físico-química do leite *in natura* em função do tempo de estocagem em usina de leite

Pato Branco

2021

Thais Pricila Sartor

Qualidade microbiológica e físico-química do leite *in natura* em função do tempo de estocagem em usina de leite

Trabalho referente a disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso I do 5º período do Curso de Graduação em Ciências Biológicas da Universidade Federal de Santa Catarina como parte dos requisitos para a obtenção do título de Licenciado em Ciências Biológicas.

Orientadora: Prof. Dra. Gislaine Fongaro

Pato Branco

2021

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Thais Pricila, Sartor

Qualidade microbiológica e físico-química do leite in natura em função do tempo de estocagem em usina de leite / Sartor Thais Pricila ; orientador, Gislaine Fongaro, 2021. 42 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Biológicas, Graduação em , Florianópolis, 2021.

Inclui referências.

1. . 2. Analisar a qualidade do leite in natura produzido em Pato Branco-PR frente à metodologias físico químicas e microbiológicas em função do tempo de armazenamento do produto (até 48h), considerando leites de diferentes condições microbiológicas (alta, mediana e baixa contagem bacteriana). . I. Fongaro, Gislaine . II. Universidade Federal de Santa Catarina. Graduação em . III. Título.

Thais Pricila Sartor

Determinação de qualidade de leite in natura frente à atividade redutase e contagem padrão de microrganismos

Este Trabalho Conclusão de Curso foi julgado adequado para obtenção do Título de “Licenciatura em Ciências Biológicas” e aprovado em sua forma final pelo Curso Ciências Biológicas.

Pato Branco, 29 de junho de 2021.

Prof^a. Viviane Mara Woehl
Coordenadora do Curso

Banca Examinadora:

Prof^a. Dr^a Gislaine Fongaro
Orientadora
Universidade Federal Santa Catarina - UFSC

Prof. Dr. Admir Giachini
Avaliador
Universidade Federal Santa Catarina - UFSC

Prof^a. MsC. Jacqueline Graff Avaliador
Universidade Federal Santa Catarina - UFSC

Este trabalho é dedicado ao meu filho Henrique que nascerá em setembro e a minha amada família.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos a Deus pela força e coragem durante esta caminhada, nos motivando a permanecer firmes em nosso objetivo.

A minha família e o meu filho Henrique que está chegando, alicerce da minha vida, pelo constante apoio, carinho e incentivo incondicional e tudo mais que se fez necessário para durante essa formação. Em especial agradeço o meu Marido Jefferson por todo apoio dado nesta etapa e nunca ter permitido que desista dessa formação.

A professora Gislaine Fongaro por todo apoio e dedicação durante todo o paciente trabalho de revisão, que se fez fundamental para a conclusão deste trabalho.

Aos colegas, amigos de graduação e ciências biológicas que fizeram parte desta formação e que vão continuar presentes em minha vida, agradeço pelo companheirismo durante toda esta etapa.

O homem não é nada além daquilo que a educação faz dele.

RESUMO

O leite é um alimento perecível, pois suas propriedades nutricionais são favoráveis ao crescimento microbiológico. Aliado a isso, as condições de saúde do bovino leiteiro, processo da ordenha, higienização do ambiente, condição e controle de refrigeração do leite são essenciais para garantir um padrão sanitário apropriado na produção leiteira até sua coleta e transporte para o laticínio. Assim, o controle microbiológico do leite antes de seu processamento é de grande importância, desde sua manipulação em propriedades produtoras, colheita, transporte até sua chegada e estocagem em área industrial. O leite *in natura* pode ser estocado por até 48 horas antes de seu processamento, sendo isso regulamentado pela Instrução Normativa 77 (2018), sob condição de que a contagem bacteriana total (CBT) do leite ainda na propriedade rural esteja em até 300.000 UFC/mL ou que em laticínios a CBT do que for estocado não ultrapassem as 900.000 UFC/mL. Assim, hipotetizou-se nesse estudo que leites estocados nos frigoríficos por até 48h possuem diferentes comportamentos na comunidade microbiológica, a depender da qualidade inicial do leite vindo de propriedades rurais, sendo que pode haver mudanças nas contagens microbianas sem haver modificações nos parâmetros físico-químicos no leite, o que geraria a falsa impressão de boa qualidade sanitária láctica. Assim, avaliou-se a qualidade do leite *in natura* produzido em Pato Branco-PR frente às metodologias físico-químicas e microbiológicas em função do tempo de armazenamento do leite sob refrigeração, considerando leites de diferentes condições microbiológicas (com e sem histórico de alta concentração microbiológica), avaliados por até 48 horas com análises a cada 12 horas. Avaliou-se parâmetros de temperatura, CBT, acidez, pH e tempo de redutase do leite. Os resultados mostraram que a CBT foi modificada desde o momento da chegada do leite no laticínio até às 48 horas de estocagem em tanque de armazenamento, porém sem alterações de parâmetros físico-químicos. Os resultados apontam para a necessidade de mensurar a contagem microbiana em função do tempo de estocagem e não apenas no campo de colheita do leite ou na sua chegada no laticínio, melhorando assim qualidade e segurança sanitárias do próprio leite e seus derivados.

Palavras-chave: Leite *in natura*; Armazenamento; Microbiologia aplicada.

ABSTRACT

Milk is a perishable food, as its nutritional properties are favorable to microbiological growth. Allied to this, the health conditions of dairy cattle, the milking process, environmental hygiene, condition and control of milk refrigeration are essential for the protection of adequate sanitation in the production of dairy until its collection and transport to the dairy. Thus, the microbiological control before its processing is of great importance, from its handling in milkproducing properties, harvesting, transporting to its arrival and storage in an industrial area. Fresh milk can be stored for up to 48 hours before processing, and this is regulated by Normative Instruction 77 (2018), under the condition that the total bacterial count (CBT) of the milk still on the rural property is up to 300,000 UFC / mL or that in dairy products the CBT than in storage does not exceed 900,000 UFC / mL. Thus, it was hypothesized in this study that milks stored in slaughterhouses for up to 48 hours have different behavior in the microbiological community, depending on the initial quality of the milk coming from rural properties, and there may be changes in microbial counts without changes in physical-chemical parameters in milk, which would generate the false impression of good lactic sanitary quality. Thus, the quality of fresh milk produced in Pato Branco-PR was evaluated against physical-chemical and microbiological methodologies as a function of milk storage time under refrigeration, considering milks of different microbiological conditions (with and without a history of high concentration microbiological), elaborated for up to 48 h with analyzes every 12 h. Parameters of temperature, CBT, acidity, pH and milk reductase time were recorded. The results induced that a CBT was modified from the moment the milk arrived in the dairy until 48 h of storage in a storage tank, but without changes in physical-chemical parameters. The results point to the need to measure the microbial count as a function of storage time and not just in the milk harvest field or on its arrival at the dairy, thus improving the quality and sanitary safety of the milk itself and its derivatives.

Keywords: Fresh milk; Storage; Applied microbiology.

LISTA DE TABELA

Tabela 1 - Características das amostragens de leite <i>In natura</i>	26
Tabela 2 - Temperatura e tempo de armazenamento do leite avaliado	27
Tabela 3 - Características iniciais dos leites (zero h de armazenamento)	29
Tabela 4 - Características iniciais dos leites (12h de armazenamento)	30
Tabela 5 - Características iniciais dos leites (24h de armazenamento)	30
Tabela 6 - Características iniciais dos leites (36h de armazenamento)	31
Tabela 7 - Características iniciais dos leites (48h de armazenamento)	32

Sumário

LISTA DE TABELA.....	10
1 INTRODUÇÃO.....	13
1.1 CONTAGEM BACTERIANA TOTAL	13
1.2 TESTE DE REDUTASE.....	14
2 OBJETIVOS.....	16
3 REFERENCIAL TEÓRICO.....	17
3.1 LEITE.....	17
3.2 REFRIGERAÇÃO	18
3.3 MICRORGANISMOS PRESENTES NO LEITE.....	19
3.4 ANÁLISE DE REDUTASE NO LEITE.....	20
3.5 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS DO LEITE	21
3.6 BACTÉRIAS MESÓFILAS.....	22
3.7 BACTÉRIAS TERMODÚRICAS	22
3.8 BACTERIAS PSICROTRÓFICAS.....	23
3.9 MICRORGANISMOS PATOGÊNICOS.....	23
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	25
4.1 AMOSTRAGENS, PROPRIEDADES E CARACTERÍSTICAS DO LEITE	25
4.2 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS DURANTE A ESTOCAGEM.....	26
4.2.1 ACIDEZ TITULÁVEL, PH E TEMPERATURA	26
4.2.1 REDUTASE	26
4.3 DETERMINAÇÕES DE CONTAGEM BACTERIANA TOTAL (CBT) DO LEITE ...	27
5 RESULTADOS	28

6	CONCLUSÃO.....	34
	REFERÊNCIAS	35

1 INTRODUÇÃO

A implementação da estocagem de leite *in natura* iniciou no Brasil na década de 90, em 2002 foi regulamentado pelo órgão Ministério da Agricultura e Abastecimento (MAPA). Trata-se da estocagem adequada do leite cru refrigerado, que pode acarretar muitas perdas econômicas devido a atividade acidificante de bactérias mesofílicas (BRASIL, 2002).

O leite é um alimento perecível, pois possui propriedades favoráveis ao crescimento microbiológico, rico em fontes de proteínas, lipídios, carboidratos, vitaminas e sais minerais, com aproximadamente 87,6% água, 12,4% de sólidos totais, 3,28% de proteína, 3,61% de gordura e 4,52% de lactose (NORO, 2006).

As condições que geram contaminação de microrganismo no fluido são geralmente a saúde do animal, a forma do processo da ordenha, a higienização do ambiente, resfriador, instrumento de ordenha, das glândulas mamárias do animal, a temperatura do armazenamento, pois a qualidade do leite inicia na propriedade, após o leite ser extraído do animal, e for contaminado não é possível realizar melhoria na qualidade, apenas mantê-la. O principal objetivo da refrigeração do leite é controlar o crescimento dos microrganismos mesófilos, pois a multiplicação de tais microrganismos geram a fermentação da lactose, liberando o ácido lático, acidificando o leite. Com uma refrigeração prolongada possuindo mais de 48 horas, ocorre o crescimento de bactérias psicotróficas, as quais possuem capacidade de desenvolverem com o produto sob refrigeração (GUERREIRO, 2005).

A qualidade do leite pode ser avaliada por meio da contagem padrão em placas de crescimento microbiano (mesófilos totais), bem como inferida pelo teste da redutase, por meio da redução do azul de metileno (TRAM).

1.1 CONTAGEM BACTERIANA TOTAL

A contagem bacteriana total (CBT) do leite *in natura* visa avaliar a qualidade microbiológica, verificando as condições de higiene no processo de obtenção do produto (Hill et al., 2011). A Contagem Bacteriana Total alta impacta na qualidade dos produtos que irá chegar a mesa do consumidor, possui importância econômica para a cadeia agroindustrial (SANTOS e FONSECA, 2001).

As bactérias são as principais contaminantes do leite, entre os agentes contaminadores possui com carga reduzida vírus e fungos, porém dependendo do processo em indústria tem sua devida importância. Ao analisar o conjunto dos microrganismos que estão constituindo contagem bacteriana total, observa-se que eles podem ser divididos em grupos distintos:

Microorganismos psicotróficos; microorganismos termofílicos; coliformes (BRITO, 2010).

Segundo a Instrução Normativa nº 76, de 26 de Novembro de 2018, nas propriedades rurais o leite cru deve apresentar médias geométricas trimestrais de Contagem de Bactéria Totais - CBT e Contagem Padrão em Placa - CPP inferiores a 300 mil UFC/mL e de Contagem de Células Somáticas - CCS abaixo de 500 mil CS/mL. Já nos estocadores o leite cru refrigerado antes de ser processado, deve apresentar limite máximo para Contagem Padrão em Placas de até 900 mil UFC/mL (novecentas mil unidades formadoras de colônia por mililitro). Cabe ressaltar que o método de contagem recomendado pela IN 77 leva em consideração o Método citometria em fluxo com conversão para a contagem padrão em placas ancoradas ao método de referência ISO 4833-1 segundo norma ISO 21187 / IDF 196.

1.2 TESTE DE REDUTASE

O teste de redutase tem como objetivo de estimar a atividade metabólica de bactérias presente no leite fresco, sendo um método simples e rápido, caracterizado pelo tempo de descoloração do azul de metileno (indicador) em função da atividade de oxirredução bacteriana. Portanto, quanto menor o tempo da redutase, maior é a quantidade de bactérias presentes no leite. Outros métodos analíticos para avaliação da carga microbiana do leite, não apresentam resultado quantitativo e sim presuntivo, ou seja, qualitativo. Como por exemplo, pode-se citar o teste de redutase com azul de metileno que corresponde a uma análise utilizada nos laticínios. Esse método analítico apesar de não indicar a quantidade de microrganismos permite que se faça uma estimativa da qualidade do leite (SANTOS e BARREIRO, 2010). Envolve apenas a utilização do azul de metileno e não demanda a utilização de equipamentos sofisticados, sendo por isso, considerado um método simples e

mais baixo custo cuja interpretação dos resultados é de fácil compreensão (SANTOS e VIEIRA, 2020).

Na Instrução Normativa 51 do Ministério da Agricultura (2002), estabelece que o tempo mínimo para redutase seja de 90 minutos, a normativa citada foi substituída por nova legislação IN 62 em que não cita a análise de redutase, que é utilizado como provas de qualidade do leite, tanto quanto a contagem padrão em placas (BRASIL, 2002).

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Analisar a qualidade do leite *in natura* produzido em 6 propriedades do município de Pato Branco-PR frente à metodologias físico-químicas e microbiológicas em função do tempo de armazenamento do produto (até 48h), considerando leites de diferentes condições microbiológicas (alta, mediana e baixa contagem bacteriana).

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Selecionar *leite in natura* provenientes de produtores em que se possuía variados históricos microbiológicos em teste de Contagem Bacteriana Total (CBT);
- Avaliar temperatura, CBT, acidez, pH e tempo de redutase em função de tempo de estocagem do leite por até 48h;
- Comparar resultados de qualidade microbiológica vs parâmetros físico-químicos em função do tempo de estocagem a cada 12 h, durante 48 h de armazenamento.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

O Brasil apresenta grande potencial no consumo e na produção de lácteos, possuindo grande crescimento na produção e também no mercado externo. Segundo Moraes (2005), mesmo com muita tecnologia, tratando-se de laticínios que possuem produtos *in natura* ocorre a desvalorização da matéria-prima, tratando-se de um alimento perecível, sendo inapropriado para o consumo humano. Segundo dados do Instituto Brasileiro Geografia e Estatística - IBGE, o Brasil é classificado o quarto maior produtor mundial de leite de vaca, com produção em 2015 de 35 bilhões de litros de leite, sendo as vacas ordenhadas um total de 21,75 milhões.

Cada ano possui mais exigências perante a qualidade e eficiência na produção leiteira, com isso os produtores necessitam realizar investimentos visando um produto com mais segurança para os consumidores (TRAVASSOS et al., 2016).

O leite é um produto de origem no úbere das vacas leiteiras sadias, extraído através da ordenha, com condições de higiene (BRASIL, 2002). Este produto deve possuir os parâmetros exigidos pelas legislações brasileiras da qualidade do fluido, composição química (sólidos totais, gordura, proteína, lactose e minerais), microbiológica (contagem total de bactérias) e sensoriais (sabor, odor, aparência), estas composições físico-químicas está relacionadas com o animal, os fatores da fisiologia, raça, nutrição e estações do ano (ZANELA, 2006).

A diversos fatores que influenciam na qualidade do leite cru, destacam-se a zootécnicos, alimentação, ao manejo, a saúde da glândula mamária e potencial genético dos rebanhos, além da forma de manejo do produto após a ordenha (GUERREIRO, 2005).

3.1 LEITE

O leite é um composto rico em proteínas, gorduras, carboidratos, sais minerais e vitaminas, por isso, é considerado o mais nobre dos alimentos (MÜLLER, 2002). É um produto elaborado em larga escala mundial, tendo uma importância na formação de empregos e renda de agricultores, especialmente aqueles que produzem em baixa escala.

Sendo assim, toda a cadeia produtiva do leite tem uma importância considerável no agronegócio nacional (TRAVASSOS et al., 2016).

Existem vários fatores que alteram a composição do leite, como alimentação, raça, época do ano, genética, saúde da glândula mamária entre outros (SIMILI e LIMA, 2007). A gordura é considerada o elemento que mais varia no leite, podendo oscilar de 1,5% a 7,0% sendo que a média é em torno de 3,5% (SIMILI e LIMA, 2007).

A gordura ou fração lipídica do leite possui uma constituição complexa, serve como fonte de energia e possui um alto valor de vitaminas A e D, por isso é importante no crescimento e desenvolvimento de mamíferos jovens. Além disso, possui altas concentrações de ácidos graxos de cadeia curta, os quais são voláteis e por esse motivo conferem o sabor e o aroma dos produtos lácteos, principalmente da manteiga e dos queijos (SIMILI e LIMA, 2007).

O extrato seco total transforma o leite em coprodutos e leite fluido, em que para realização de outro produto depende da qualidade da matéria prima. O leite é um produto oriundo da secreção das glândulas mamárias sendo um fluido viscoso que é constituído de uma fase líquida com partículas em suspensão. Possui composição aproximadamente de 87,3% água e 12,7% constitui todos os componentes do leite exceto a água, o extrato seco desengordurado possui todos os elementos do leite, menos a água e a gordura, em que distribui-se as proteínas totais, 3,3% a 3,5%; gordura, 3,5% a 3,8%; lactose, 4,9%; constituído também por minerais, 0,7%, e vitaminas. As proteínas do leite fornecem micronutrientes entre eles o cálcio e fósforo, os aminoácidos (SGARBIERI, 2005).

A composição do leite pode ser diversificada conforme o estágio de lactação do animal, alguns fatores também interferem nas propriedades do fluido são a: raça das vacas, alimentação temperatura ambiente manejo e intervalo entre as ordenhas, produção de leite e infecção da glândula mamária (SIMILI e LIMA, 2007).

3.2 REFRIGERAÇÃO

A refrigeração dos alimentos é de extrema importância para conservação, reduzindo a velocidade do crescimento de microrganismos (TOLEDO, 1991). A refrigeração evita a

multiplicação de muitos microrganismos, porém alguns se multiplicam bem em alimentos refrigerados como psicrófilos e psicotróficos, sendo agentes de deterioração de leite, carnes, pescado, ovos e frangos (FRANCO e LANDGRAF, 2002).

A multiplicação das bactérias pode ser evitada com a refrigeração do leite após a ordenha visando manter a qualidade do leite cru e seus derivados, porém para ser eficiente esse resfriamento, é de extrema importância manter a higiene adequada durante todas as etapas do processo da ordenha (SANTOS; PIRES; SANTOS, 2013). A recomendação para melhor eficiência no processo de resfriamento do leite, é que seja resfriado a 4°C logo após a ordenha. A temperatura máxima de resfriamento do leite nas propriedades rurais é de 7°C (BRASIL, 2003). Para conservação do leite nas indústrias, a contaminação inicial deve ser controlada mesmo a indústria seguindo todos os controles de temperatura perante as legislações, sendo que esse controle inicial começa nas propriedades rurais, quando realizado adequadamente garante a qualidade do produto (MARTINS, ARAUJO, et.al, 2003). Conforme a instrução normativa nº 62, de 29 de dezembro de 2011, estabelece que o tempo entre a ordenha do leite e o processamento seja no período de 48 horas, sendo o recomendado para manter a segurança do alimento este processamento entre 24 horas.

Manter a matéria prima estocada por um longo tempo afeta a qualidade do leite e derivados, proporcionando o desenvolvimento dos microrganismos psicotróficos (NORBERNG, FRIEDRICH, et.al, 2010). Além disso, ocorre a desnaturação do complexo das caseínas, com redução na dimensão das micelas e solubilização do cálcio, que podem gerar desestabilização na coagulação do leite tornando inadequado o processo. Já na fase lipídica está estocagem longa gera, via cristalização dos triglicerídeos, rompimento da membrana dos glóbulos de gordura, levando a anulação da estabilidade da emulsão e a aglomeração, com isso gera ação lipase naturais e alteração na análise sensorial do leite, devido a formação de espessa camada de creme ou de grumos de gordura no leite (LOURENÇO, 1998).

3.3 MICRORGANISMOS PRESENTES NO LEITE

O leite é um alimento ideal para o desenvolvimento de vários microrganismos, entre eles bactérias, leveduras, fungos e vírus, que podem afetar a qualidade do leite, acarretar

alterações nas características do fluido com contaminações, tornando inapropriado para o consumo humano ou para qualquer processamento.

A ausência de resfriamento associado a falha na higiene das ordenhas, ocorre o desenvolvimento das bactérias mesófilas, como *lactobacillus*, *streptococcus*, *lactococcus* e enterobactérias, possuem habilidade de desenvolver fermentar a lactose, o açúcar do leite, com isso ocorre a produção de ácido láctico, causando a acidificação do leite, com esse processo promove a coagulação da caseína, separando o leite em coágulo e soro. Para evitar a proliferação destas bactérias, basta realizar o processo de ordenha em condições de higiene adequada, cuidar da saúde do animal e resfriar o leite logo após o término do processo (SANTOS, 2000).

O grupo destas bactérias se desenvolve principalmente em temperaturas baixas (< 7 °C), são resistentes ao processo de pasteurização, devido a produção de enzimas. A pasteurização possui função de eliminar as bactérias psicotróficas, porém a pasteurização não elimina as enzimas desenvolvidas durante o crescimento microbiológico, por tanto estas continuam a agir, sendo responsáveis pela degradação de proteínas e gordura do leite. As bactérias psicotróficas são as mais críticas no controle de qualidade do leite (SANTOS, 2000).

3.4 ANÁLISE DE REDUTASE NO LEITE

O teste de redutase é utilizado para estimar aproximadamente a quantidade de bactérias presente no leite cru. O leite cru é incubado a uma temperatura de 37°C, com uma substância indicadora do potencial de óxido-redução, como azul de metileno, é um corante que altera a coloração com o crescimento das bactérias, o crescimento das mesmas é inversamente proporcional ao tempo de redutase, ou seja, quanto maior o número de bactérias presentes no fluido, mais rapidamente ocorrerá a redução da substância indicadora, voltando a coloração branca. Sendo este resultado dado em tempo e não em número de bactérias, a qualidade do leite pode ser observada conforme a quadro 1 (TRONCO, 2013).

Quadro 1: Relação do tempo x classe do leite.

<i>Tempo em horas</i>	<i>Classe</i>
5 ou mais	Leite de qualidade ótima
3 horas ou mais	Leite bom (qualidade satisfatória)
Entre 1 e 3 horas	Leite ligeiramente contaminado
1 a 2 horas	Leite bastante contaminado
Menos de 1 hora	Leite altamente contaminado

FONTE: Adaptado de TRONCO, 2013.

3.5 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS DO LEITE

O leite possui valor nutricional elevado, contendo vitaminas, sais minerais, gorduras, proteínas, carboidratos e água, tornando este alimento um meio para o crescimento dos microrganismos. Inicia-se a contaminação na sala de ordenha, em que possui microrganismos nos tetos das vacas, pela forma que esse leite for manipulado, higiene de superfícies, armazenamento, transporte e distribuição. No Brasil, de modo geral, o leite é obtido sob condições higiênico-sanitárias deficientes, e em consequência, apresenta elevados números de microrganismos, o que constitui um risco à saúde da população, principalmente quando consumido sem tratamento térmico (CATÃO; CEBALLOS, 2001). Para Silva (2008), este controle é fundamental, desde a obtenção de leite cru nas propriedades rurais até a embalagem do produto final, pois a sua produção de forma higiênica inadequada torna o alimento um veículo de transmissão de doenças aos consumidores.

Para o consumo humano é de extrema importância, o controle microbiológico do leite e produtos lácteos, sem este controle o leite e os produtos lácteos tornam-se inapropriados, pois a proliferação das bactérias altera as propriedades do produtos, determinadas contaminações, refletem em problemas sanitários e diminuição econômicas (PADILHA, 2001).

As bactérias que contaminam o leite podem ser divididas em três grupos principais: mesófilas, que se multiplicam bem na faixa de temperatura de 20 a 40°C, termodúricas, que sobrevivem à pasteurização e psicrotróficas, que se multiplicam em temperaturas baixas (7°C ou menos). (FONSECA e SANTOS, 2000). As bactérias psicrotróficas são

responsáveis por produzir enzimas termoestáveis, que acarretam a coagulação do produto, consequentemente gerando cheiro e sabor desagradáveis (ADAMS, 1975).

3.6 BACTÉRIAS MESÓFILAS

As bactérias mesófilas contaminam o leite devido a higienização no manejo da ordenha e estocagem, com sua presença ocorre fermentação da lactose do leite, acidificando o leite com a proliferação de ácido láctico consequentemente diminuindo a qualidade do alimento. Quando ocorre uma acidificação significativa no leite fluido, consequentemente diminui o pH chegando ao ponto isoelétrico da caseína desestabilizando as micelas formando grumos tornando o alimento impróprio para o processamento (SPEXOTO, 2003). Os microrganismos mesófilos quando encontrado na alta Contagem de Bactérias Totais (CPP), com destaque para os mesófilos aeróbios, influência na acidez com resultando a acidez alta devido o ácido láctico liberado, pois deterioram o leite através da fermentação da lactose. A temperatura ideal para esses microrganismos é entre 20°C a 40°C, porém podem se desenvolver, em temperaturas baixas (RIBEIRO, 2012). O controle das bactérias mesófilas pode ser controlado mantendo a matéria-prima refrigeradas com baixas temperaturas, sendo que, mesmo com a refrigeração pode ocorrer a proliferação das bactérias psicotróficas (SANTOS; PIRES; SANTOS, 2013).

3.7 BACTÉRIAS TERMODÚRICAS

Estes microrganismos são capazes de sobreviver ao tratamento térmico pasteurização (63°C por 30 minutos ou 72°C por 15 segundos) e produzem esporos que são formas de resistência contra condições adversas, esses esporos são inertes, não se multiplicando e nem apresentou atividade metabólica, resistentes ao calor, para inativação necessita cerca de 20 minutos a 120°C (SANTOS,2010). Os termodúricos se proliferam em ambientes de manejo de ordenha inadequado, entre eles glândulas mamárias sujas de lama, higienização desapropriada de equipamentos ou estocadores (equipamentos danificados também inibem

a higienização adequada). Parte das rejeições dos alimentos em prateleiras como leite pasteurizado e de produtos lácteos cremosos sucedem pelo desenvolvimento de bactérias psicotróficas termodúricas (BRITO, 2010).

3.8 BACTERIAS PSICOTRÓFICAS

As espécies de bactérias que contaminam o leite são Gram-negativas e Grampositivas, estas bactérias possuem proliferação, entre 0 °C e 7 °C, e de crescimento de temperatura baixa, de até - 10 °C. A contaminação no alimento ocorre por uso de água inadequada (sem cloro) para higienização de utensílios de armazenamento, por higienização dos utensílios e mastite (PINTO, 2006). As bactérias psicotróficas são os principais deterioradores de leite cru refrigerado e de seus derivados, elas hidrolisam e proteína a gordura do leite através da produção de proteases, lipases e fosfolipases. Grande maioria das bactérias não sobrevive à pasteurização, porém possuem enzimas hidrolíticas que ermorresistentes, resistindo até mesmo em temperaturas elevadas é o caso do leite UHT, neste caso o leite UHT fica estocado para garantir que não possua contaminação antes de ir para as prateleiras no caso de contaminação por essa enzima é muito prejudicial para qualidade do produto, além do leite UHT tem seus derivados que acabam interferindo na qualidade e rendimentos (ARCURI, 2004). Quando o leite cru é refrigerado por um longo tempo, pode equacionar o comprometimento da qualidade com a proliferação de bactérias psicotróficas (PINTO et al., 2006).

3.9 MICRORGANISMOS PATOGÊNICOS

O leite é considerado de qualidade boa quanto possui baixa carga bacteriana, ausência de microrganismos patogênicos, a contagem de células somáticas baixas e livre de qualquer tipo de substâncias químicas (SANTOS, 2006). O leite contaminado por microrganismos

pode gerar muitas doenças infecciosas que são transmitidas para o ser humano. Entre os microrganismos patogênicos existem dois grupos importantes na contaminação em laticínios: os não patogênicos, que devido a acidez ou produção de enzima alteram as propriedades do leite, e os patogênicos, que nos alimentos são responsáveis por toxinfecções (MORAES, 2005). Os principais causadores de contaminação no leite, podem atingir diversas bactérias de milhões por mL, sendo os microrganismos patogênicos como deterioradores (BRITO,2001).

Entre os patogênicos atualmente mais graves estão *Salmonella*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Campylobacter jejuni*, *Yersinia enterocolitica* e *Staphylococcus aureus*. As bactérias identificadas como agentes patógenos do leite são as *Escherichia coli* e a *Listeria monocytogenes*. Os surtos de doenças por esses microrganismos são raros porém severos (BRITO, 2010). Na indústria de alimentos a contaminação gerada por esses microrganismos possui um elevado perigo para a saúde do consumidor, principalmente se tratando de grupos populacionais vulneráveis como, pacientes imunodeprimidos, idosos, crianças e gestantes, além de um surto alimentar acarreta prejuízos econômicos (REZER, 2010).

Sendo uma preocupação para saúde pública a contaminação de microrganismos patogênicos no leite cru, devido ao risco elevado para o consumidor. O leite *in natura* proveniente desta contaminação pode gerar contaminação cruzada para os demais produtos lácteos processados em indústria de alimentos (ARCURI, 2006)

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 AMOSTRAGENS, PROPRIEDADES E CARACTERÍSTICAS DO LEITE

Foram selecionados leites *in natura* provenientes de propriedades leiteiras e que possuíam históricos de positivities em ensaios de CBT. Para isso, realizou-se parceria com um laticínio que recebe leite da região do município de Pato Branco, Paraná. O leite foi coletado diretamente do tanque de estocagem e 6 unidades produtoras leiteiras (única coleta). Abaixo, segue a Tabela 1 com os dados das unidades produtoras e histórico de contaminação microbiana.

Tabela 1: Características das amostragens de leite *in natura*.

Propriedades	Histórico de CBT – UFC/mL (média dos últimos 3 meses)
Propriedade 1	18.000
Propriedade 2	11.000
Propriedade 3	312.000
Propriedade 4	195.000
Propriedade 5	824.000
Propriedade 6	97.000

Um total de 1,5 L de leite de cada propriedade foi coletado e as amostras avaliadas em duplicata ao chegar na usina de leite do laticínio parceiro na cidade de Pato Branco-PR.

Na tabela 2, consta a temperatura inicial de chegada das amostras na usina de laticínio e o monitoramento a cada 12 horas.

Tabela 2: Temperatura e tempo de armazenamento do leite avaliado.

Tempo de armazenamento	Temperatura das amostras
00:00	8,0 °C
12:00	6,5 °C
24:00	6,2 °C
36:00	6,0 °C
48:00	6,5 °C

4.2 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS DURANTE A ESTOCAGEM

As análises físico-químicas foram realizadas nas dependências do laticínio parceiro, sendo aferidas: Acidez, pH, temperatura e teste de redutase.

4.2.1 ACIDEZ TITULÁVEL, PH E TEMPERATURA

A determinação da acidez titulável está descrita na Instrução Normativa nº68, com o método de Dornic, é expressa em graus Dornic (°D) ou em porcentagem (%) de ácido láctico, sendo que 1°D ou 0,1g de ácido láctico/L (MAPA, 2006) . Já o pH foi avaliado usando pHmetro e a temperatura usando termômetro digital do tipo espeto.

4.2.1 REDUTASE

O método utilizado para esta análise seguiu a IN 51, 2002. Trata-se de método simples, utilizando 1 mL de azul de metileno e 10mL de leite em um tubo de ensaio. O material foi incubado em banho maria à 37°C durante o tempo de mudança de coloração do indicador azul de metileno.

4.3 DETERMINAÇÕES DE CONTAGEM BACTERIANA TOTAL (CBT) DO LEITE

A análise de CBT foi realizada pelo método de citometria de fluxo, considerando a conversão de células contadas à contagem padrão em placas, como recomenda a IN 77, ancorada ao método de referência ISO 4833-1 segundo norma ISO 21187 / IDF 196. Resumidamente o leite é adicionado de brometo de etídio, para que o DNA e RNA das bactérias sejam corados. Este leite é injetado em capilar e por citometria de se contabiliza o número de bactérias. A contagem bacteriana é expressa individual de bactérias (CIB) e posteriormente convertida em UFC/mL. A determinação de CBT das amostras de leite foi realizada no laboratório da Associação Paranaense de Criadores de Bovinos da Raça Holandesa – APCBRH, situada na cidade de Curitiba – PR. Para isso, 50 mL de leite foram coletados às 12, 24, 36 e 48h de estocagem, conforme Tabela 2. Vale ressaltar que as amostras foram coletadas em frascos estéreis fornecidos pela APCBRH, contendo conservante azidiol que atua impedindo a deterioração do leite entre a coleta e sua análise bacteriana.

5 RESULTADOS

O armazenamento da matéria prima teve uma variação de temperatura entre 6 e 6,5°C, sendo que as mesmas chegaram no laboratório com temperatura inicial de 8°C, em função do armazenamento em geladeira. Segundo a IN 77, 2018, a temperatura exigida para o resfriamento do leite é de até 4 °C, de acordo com Leite 2006 ou de até 10°C por até 10 dias.

Na Tabela 3 apresentam-se as características iniciais em zero h de coleta dos leites avaliados.

Tabela 3. Características iniciais dos leites (zero h de armazenamento).

Amostra/ Propriedades	Acidez (°Dornic)	pH	Tempo redutase (horas)	(UFC/mL)
Propriedade 1	14	6,79	6:35	20.000
Propriedade 2	14	6,82	7:30	13.000
Propriedade 3	14	6,80	7:25	275.000
Propriedade 4	14	6,80	7:50	148.000
Propriedade 5*	14	6,82	7:30	1.012.000
Propriedade 6	15	6,78	7:50	94.000

*contagem microbiana elevada.

Na tabela 3, como análise inicial observa-se que todas as análises atendiam os parâmetros da legislação IN 76/2018, exceto a CBT da propriedade 5, já que o limite é de 300.000 UFC/mL e tal propriedade apresentou 1.012.000.

Na tabela 4, após 12 horas de armazenamento é possível observar que a propriedade 5 aumentou a contagem da CBT e conseqüentemente diminuiu os demais parâmetros

físicoquímicos, porém os mesmos se mantiveram dentro dos padrões recomendados pelas legislações. Já às 12 h de estocagem a propriedade 3 apresentou também teve a CBT acima de 300.000 UFC/mL. Essa contagem microbiana diz respeito a microrganismos totais, bactérias, leveduras e fungos, estando os leites vindos das propriedades 3 e 5 inconformes com a IN 76/2018.

Tabela 4. Características iniciais dos leites (12 h de armazenamento).

Amostra/ Propriedades	Acidez (°Dornic)	pH	Tempo da reductase (horas)	UFC/mL
Propriedade 1	14	6,79	05:50	22.000
Propriedade 2	14	6,81	06:50	17.000
Propriedade 3	15	6,79	05:20	834.000
Propriedade 4	14	6,80	06:30	153.000
Propriedade 5	14	6,81	05:40	1.754.000
Propriedade 6	15	6,74	05:50	104.000

Na tabela 5 após 24 horas de armazenamento, o desenvolvimento de a contagem da propriedade 3 aumentou aproximadamente 4,5 vezes. Os rebanhos que apresentam mastite podem vir a contribuir para elevação significativa da CBT no leite, dependendo do tipo de microrganismo causador da infecção, a severidade da mastite e a quantidade de animais infectados. Se caso o rebanho tenha um animal contaminado por mastite clínica, pode contaminar o leite com estreptococos em níveis acima de 10.000.000 UFC/mL. Um dos principais causadores desta doença nos animais é o *Streptococcus sp* (SANTOS, 2001).

Tabela 5. Características iniciais dos leites (24 h de armazenamento).

Amostra/ Propriedades	Acidez (°Dornic)	pH	Tempo da redutase (horas)	UFC/mL
Propriedade 1	14	6,75	05:40	55.000
Propriedade 2	14	6,79	06:40	21.000
Propriedade 3	15	6,69	05:00	3.602.000
Propriedade 4	14	6,75	06:10	220.000
Propriedade 5	14	6,74	05:30	1.901.000
Propriedade 6	15	6,69	05:30	194.000

Na tabela 6 é possível observar a elevação no CBT significativa na propriedade 3, mantendo os parâmetros físico-químicos.

Tabela 6. Características iniciais dos leites (36 h de armazenamento).

Amostra/ Propriedades	Acidez (°Dornic)	pH	Tempo da redutase (min)	UFC/mL
Propriedade 1	14	6,71	05:20	133.000
Propriedade 2	14	6,78	06:00	62.000
Propriedade 3	15	6,68	04:30	8.311.000
Propriedade 4	14	6,75	06:00	351.000
Propriedade 5	15	6,72	05:10	2.031.000
Propriedade 6	15	6,67	05:20	618.000

No leite *in natura* a partir de 36h o tempo da redutase foi diminuído, em função do crescimento microbiano. A Instrução Normativa 51 (IN51), para qualidade do leite cru, prevê a possibilidade do uso do teste de redutase por meio da prova da redução do azul de metileno

com no mínimo 90 minutos, conhecida como TRAM. O método é baseado na redução do corante azul de metileno, funciona como receptor de íons H⁺ resultantes da ação da desidrogenase do metabolismo microbiano. O tempo de redução é inversamente proporcional ao número de bactérias redutoras presente no leite, quanto maior a contaminação do leite mais rapidamente a solução irá descolorir voltado para cor original branca. Esta metodologia é de baixo custo, simples e rápida, muito utilizadas na indústria de produtos lácteos para avaliar a qualidade microbiana geral do leite fluido *in natura* (PEREIRA, 2012).

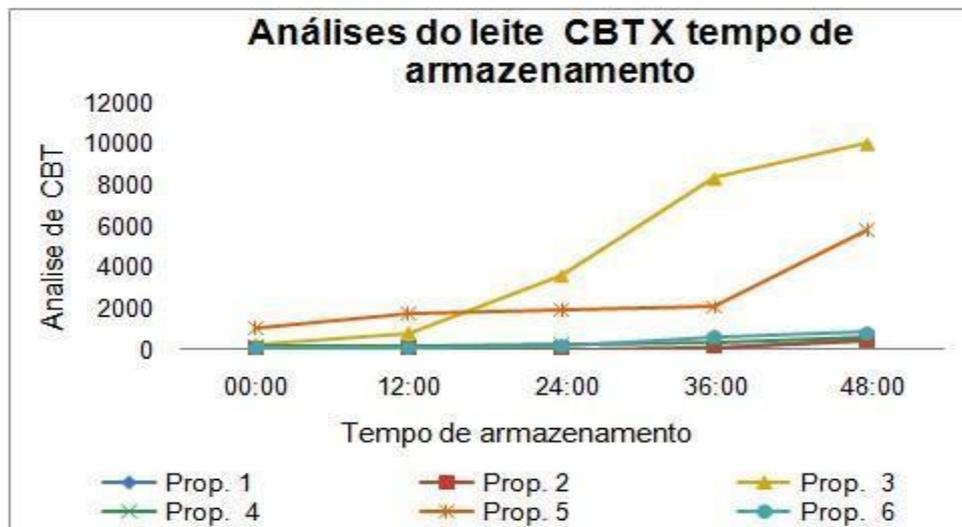
Na tabela 7 após 48 horas de armazenamento, foi possível observar que houve uma alteração com a elevação da CBT e leve alteração nos parâmetros físico-químicos, sendo que, segundo Cabral (2016) elevados níveis de CBT possuem grande influência na qualidade do leite fluido e de seus derivados, com alteração nos parâmetros físico-químicos, elevando o ácido láctico, interferindo na estabilidade da caseína, no pH e acidez indesejada, gerando a formação de grumos em teste de estabilidade térmica do leite. A acidez do leite pode ocorrer pela ação de bactérias mesófilas, que consomem a lactose e produzem ácido láctico, conseqüentemente diminuindo o pH do leite, ocorrendo devido ao longo tempo de armazenamento e o elevado índice de CBT.

Tabela 7. Características iniciais dos leites (48 h de armazenamento).

Amostra/ Propriedades	Acidez (°Dornic)	pH	Tempo da reductase (horas)	UFC/mL
Propriedade 1	14	6,69	05:10	533.000
Propriedade 2	14	6,78	05:30	400.000
Propriedade 3	16	6,64	01:00	9.991.000
Propriedade 4	14	6,73	05:20	611.000
Propriedade 5	15	6,70	04:30	5.791.000
Propriedade 6	16	6,66	05:00	832.000

Quando comparamos a cinética de crescimento microbiano ao longo do tempo de estocagem (Gráfico 1), observa-se que o crescimento microbiano sofreu aumento aparente após 12h de armazenamento, apresentado em contagem bacteriana total.

Gráfico 1. Análises do leite de acordo com a contagem bacteriana total por tempo de armazenamento.



De maneira geral das propriedades, os resultados apontam que nas amostras n° 3 e 5 (propriedades com histórico de maior contaminação microbiana do leite coletado) às 12 h de armazenamento continha 834.000 e 1.754.000 (UFC/mL), respectivamente, indicando alta proliferação microbiana que pode oferecer riscos à qualidade do produto. Já nas amostras com menor histórico de contaminação microbiana, propriedades n° 1 e 2, tiveram contagens de 22.000 e 17.000 (UFC/mL), respectivamente, às 12 h de armazenamento. Intermediariamente, as amostras que continham histórico de contaminação mediana, propriedades n° 4 e 6, às 12 h de armazenamento, tiveram 153.000 e 104.000 UFC/mL.

De acordo com a legislação vigente da IN 77, permite-se a armazenagem por até 48h, considerando que a contagem bacteriana total seja de até 900.000 (UFC/mL) nos estocadores. É importante ressaltar que as análises microbianas são realizadas em até 48h, a qualquer tempo, sendo evidente que a proliferação microbiana aumenta em função do tempo de estocagem. Outro fator importante é manter a refrigeração constante desde o início da recolha em propriedades rurais.

Pode-se verificar também que as alterações em CBT ao longo das 48h não correspondem às grandes modificações nos perfis físico-químicos, ressaltando a necessidade de testes tanto físico-químicos, quanto bacterianos, bem como a revisão e maiores estudos dos tempos de redutase previstos em legislação.

É importante ressaltar que a temperatura, às falhas na higiene das ordenhas e tanques de armazenamento contribuem para a contaminação com bactérias mesófilas, como os lactobacilos, estreptococos, lactococos e enterobactérias, que possuem habilidade de se desenvolver e fermentar lactose, levando a produção de ácido lático, causando a acidificação do leite, que desencadeia a coagulação da caseína, separando o leite em coágulo e soro – vulgo

“azedo” (SANTOS, 2001).

Segundo Santos (2006) uma boa qualidade no leite cru acarreta uma baixa carga bacteriana, ausência de microrganismos patogênicos, reduzida contagem de células somáticas e ausência de resíduos de substâncias químicas. Segundo Mendonça (2012), o manejo e higiene da ordenha têm muita relevância na contagem bacteriana do leite, sendo que as glândulas mamárias podem abrigar bactérias do ambiente. A alta Contagem Padrão em Placas reflete nas falhas na higiene realizada na produção do leite, desde o manejo do animal, ordenha e o resfriamento do produto final (ARCURI, 2006; BELOTI, 2011; RADOSTITIS, 2002). Segundo Cassoli (2013), dentre os fatores que interferem na CBT são: higienização de equipamentos de ordenha e utensílios, manuseio no processo da ordenha do animal na higienização dos tetos antes e após a ordenha, temperatura de armazenamento do leite e, mastite.

6 CONCLUSÃO

Conclui-se por meio dos resultados obtidos neste trabalho que a CBT no leite foi modificada desde o momento da chegada da matéria-prima na indústria beneficiadora até às 48 h de sua estocagem em tanques de armazenamento. Porém, os parâmetros físico-químicos do leite não oscilam durante esse tempo de armazenamento, ressaltando-se a importância da realização de análises microbianas como um método de monitoramento periódico ao longo de sua estocagem, visando segurança sanitária do leite e de seus derivados.

REFERÊNCIAS

ADAMS, D.M.; BARACH, J.T.; SPECK, M.L. Heat resistant proteases produced in milk by psychrotrophic bacteria of dairy origin. *Journal of Dairy Science*, Sanvov, v. 58, n. 6, p. 828- 834, 1975.

ARCURI, E.F. et al. Efeito do crescimento de *Pseudomonas* sp. proteolítica na estabilidade do leite ao etanol. In: CONGRESSO NACIONAL DE LATICÍNIOS, 21., Juiz de Fora, MG. **Revista do ILCT** v.59, n.339, p.140-144, 2004.

ARCURI, E. F.; BRITO, M. A. V. P.; BRITO, J. R. F.; PINTO, S. M.; ANGELO, F. F.; SOUZA, G. N. Qualidade microbiológica do leite refrigerado nas fazendas. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.58, n.3, p.440-446, 2006.

BELOTI, V.; JÚNIOR, C.J.R.; TAMANINI, R.; YAMADA, A.K.; CAVALETTI, L.;

NOVAES, D.G.; SILVA, F.F; GIOMBELLI, C.J.; MANTOVANI, F.D.; SILVA, M.R.

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

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e abastecimento. Instrução Normativa nº62, 26 de agosto de 2003. Métodos Analíticos para Análises Microbiológicas para o controle de Produtos de Origem Animal e Água. Brasília: Ministério da Agricultura, 2003.

BRASIL. Instrução Normativa nº 51, de 20 de setembro de 2002. Aprova os regulamentos técnicos de produção, identidade e qualidade do leite tipo... *Diário Oficial da União*, Brasília, p.13, 21 set. 2002. Seção 1.

BRITO, P. V. A. MARIA, IDENTIFICANDO FONTES E CAUSAS DE ALTA CONTAGEM BACTERIANA TOTAL DO LEITE DO TANQUE, 2010. ACESSO <[HTTPS://PT.ENGORMIX.COM/PECUARIA-LEITE/ARTIGOS/IDENTIFICANDOFONTES-CAUSAS-ALTA-T38039.HTM](https://pt.engormix.com/pecuaria-leite/artigos/identificandofontes-causas-alta-t38039.htm)> EM 24 DE ABRIL DE 2021.

CABRAL, F. Jakeline; SILVA, A. P. Silva; CARVALHO, S. Thiago; BRASIL, B. Rafaella;

GIOVANNINI, I. Cristiane; BALDUÍNO S. Rodrigo; COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO LEITE

REFRIGERADO EM FUNÇÃO DAS CONTAGENS DE CÉLULAS SOMÁTICAS E

CONTAGEM BACTERIANA TOTAL , 2016. Acesso <Neves [Http://www.uece.br/ciencia_animal/dmdocuments/2016_p3a12.pdf](http://www.uece.br/ciencia_animal/dmdocuments/2016_p3a12.pdf)> em 28 de maio de 2021.

CATÃO, R. M. R.; CEBALLOS, B. S. O. Listeria spp., Coliformes Totais e Fecais e E.coli no leite cru e pasteurizado de uma indústria de laticínios, no Estado da Paraíba (Brasil). Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas, 21(3):282-287. Set-Dez.2001.

CASSOLI D. Aerte, Contagem bacteriana total (CBT): entendendo as análises, 2013. acesso

<<https://www.milkpoint.com.br/colunas/clinica-do-leite/contagem-bacteriana-totalentendendo-o-processo-de-analise-205260n.aspx>>. em 25 de maio de 2021.

GUERREIRO, P. K., MACHADO, M. R., BRAGA, G. C., GASPARINO, E., &

FRANZENER, A. S. Qualidade microbiológica de leite em função de técnicas profiláticas no manejo de produção. Ciência e Agrotecnologia, 2005. Acesso

<<http://www.scielo.br/pdf/cagro/v29n1/a27.pdf>> em 23 de novembro de 2019

FONSECA, L.F.L.; SANTOS, M.V. Qualidade microbiológica do leite. In:

_____.
Qualidade do Leite e Controle de Mastite. São Paulo: Lemos Editorial, 2000, p. 151-161.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. Microbiologia de alimentos. São Paulo: Atheneu, p. 196, 2002.

HILL, J. A. G.; SILVEIRA, A. L. F. da; MIGLIORINI, F.; et al.; Qualidade do leite na região sudoeste do Paraná. Londrina: IAPAR, 2011. 56 p. (IAPAR, Boletim técnico, 76).

IBGE. **Estatística da Produção Pecuária.** 2015. Disponível em:

<ftp://ftp.ibge.gov.br/Producao_Pecuaria/Fasciculo_Indicadores_IBGE/abat-e-leite-couro-ovos_201602caderno.pdf>. Acesso em: 23 de setembro 2017.

LIVNEY, Y. D. Milk proteins as vehicles for bioactives. *Current Opinion in Colloid & Interfaces Science*, Israel, v. 15, p. 73– 83, 2010.

LORENÇO-Neto JPM. Leite resfriado: Matéria prima da queijaria moderna. *Leite Derivados* 1998; 41:18-34.

MARTINS, M.L.; ARAÚJO E.F.; MORAES C.A.; MANTOVANI H.C.; VANETTI M.C.D.

2003. Diversidade genética de bactérias psicrotróficas proteolíticas isoladas de leite cru granelizado. *Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes*. 58: 54-60.

MENDONÇA, L. C.; GUIMARÃES, A. S.; BRITO, M. A. V. P. Higienização do tanque de refrigeração. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 2012, 2 p. (Embrapa Gado de Leite.

Comunicado Técnico, 65).

MORAES, C. R.; FUENTEFRIA, A. M.; ZAFFARI, C. B.; CONTE, M.; ROCHA, J. P. A. V.; SPANAMBERG A. Qualidade microbiológica de leite cru produzido em cinco municípios do Estado do Rio Grande do Sul, Brasil. Acta Sci Vet. 2005; 259-64.

MÜLLER, E.E.; **Qualidade do leite, células somáticas e prevenção da mastite**. Anais do II Sul- Leite: Simpósio sobre Sustentabilidade da Pecuária Leiteira na Região Sul do Brasil.

Maringá :UEM/CCA/DZO – NUPEL, p. 206-217. 2002.

NORO, G., GONZÁLIZ, F. H., CAMPOS, R., & DÜRR, J. W. (2006). Fatores ambientais que afetam a produção e a composição do leite em rebanhos assistidos por cooperativas no Rio Grande do Sul. Revista Brasileira de Zootecnia, 35, 1123-1135.

NÖRNBERG, M. B. L.; FRIEDRICH, R. S. C.; WEISS, R. D. N.; EDUARDO C TONDO, E. C.; BRANDELLI, A. Proteolytic activity among psychrotrophic bacteria isolated from refrigerated raw milk. International Journal of Dairy Technology. v. 63, N. 1, 2010.

PADILHA, M. R. F. et al. Pesquisa de bactérias patogênicas em leite pasteurizado tipo C comercializado na cidade de Recife, Pernambuco, Brasil. Revista Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, Uberaba, 34(02), Mar-Abril, 2001. Disponível <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0037-86822001000200003> Acesso em 24 de novembro 2019.

PEREIRA, G. Juliano; MONTANHINIB M. T. Maíke; BARCELLOSC, C. Vinicius; PINTOA,

N. A. P. José; SANTOS, Luciano. Testes de Redutase para a Avaliação da Qualidade de Leite Cru Refrigerado, 2012. Disponível <Bersotcfile:///home/jefferson/Downloads/992Texto%20do%20artigo-3844-1-10-20150703.pdf> Acesso em 29 de maio 2021.

PETRUS R, LOIOLA C, OLIVEIRA C. Microbiological Shelf life of pasteurized milk in bottle and pouch. J. Food Sci 2010;75(1);36-40.

PEREIRA, G. Juliano; MONTANHINIB T. M, Maike; BARCELLOSC, C. Vinicius; PINTO, P. A. José; BERSOTC, S. Luciano. Testes de Redutase para a Avaliação da Qualidade de Leite Cru Refrigerado.

UNOPAR

Cient

Ciênc

Biol

Saúde

2012;

Disponível

<<https://revista.pgsskroton.com/index.php/JHealthSci/article/viewFile/992/953>> Acesso em 02 de outubro 2019.

QUEVEDO, Pedro S. et al. Correlação entre a contagem de mesófilos aeróbicos e a contagem de coliformes totais em leite pasteurizado tipo C. In: XIV CONGRESSO DE

INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 2006, Pelotas. Anais do XIV Congresso de Iniciação Científica. 2006.

PICININ, L. C. A. Qualidade do leite e da água de algumas propriedades leiteiras de Minas Gerais. 2003. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Universidade Federal do Estado de Minas Gerais.

PINTO, O. L. Cláudia, MARTINS, L. Maurílio, VANETTI, D. C, Maria. Qualidade

Microbiológica de Leite Cru Refrigerado e Isolamento de Bactérias Psicotróficas Proteolíticas.

Ciênc. Tecnol. Aliment., Campinas, 2006 Disponível <
<https://www.scielo.br/pdf/cta/v26n3/31769.pdf>> Acesso em 24 de abril 2021.

TRAVASSOS, G. F.; SOBREIRA, D. B.; GOMES, A. P.; CARNEIRO, A. V. Determinantes da eficiência técnica dos produtores de leite da mesorregião da Zona da Mata-MG. Revista de Economia e Agronegócio, v. 13, p. 63-92, 2016. Disponível <
<https://periodicos.ufv.br/rea/article/view/7577>> Acesso em 02 de outubro 2019

TOLEDO, R. T. Fundamentals of Food Process Engineering. New York: Chapman e Hall, p 398-436, 1991.

TRONCO, V. M. Manual para Inspeção da Qualidade do Leite. 5ª ed. Santa Maria: UFSM, 2013.

RADOSTITS, M. O.; GAY, C. C.; BLOOD, C. D.; HINCHCLIFF, W. K. Clínica Veterinária: um Tratado de Doenças dos Bovinos, Suínos, Caprinos e Equinos. Rio de Janeiro, RJ: Guanabara Koogan S.A, 2002. p.545-549.

REZER, A. P. S. Avaliação da Qualidade Microbiológica e Físico-Química do leite UHT integral comercializado no Rio Grande do Sul. 73 f. Dissertação

(Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria-RS, 2010.

RIBEIRO, M. T.; CARVALHO, A. C. Refrigeração. Agência de informação embrapa agronegocio do leite. Disponível em: ACESSO 06/05/2015.

RIBEIRO, Maria E. R. et al. Monitoramento da qualidade do leite da Região Metropolitana de Porto Alegre, RS. 2. Contagem de Células Somáticas. 2012. Disponível em: . Acesso em 24 abril 2021.

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

SANTOS, Aline S. PIRES, Christiano V. SANTOS, Jakline M. COSTA SOBRINHO, Paulo S. Crescimento de micro-organismos psicrotróficos em leite cru refrigerado. Alim. Nutr. Braz. J. Food Nutr., Araraquara, v. 24, n. 3, p. 297-300, jul./set. 2013. Disponível em: . Acesso em: 23 abr. 2021.

SANTOS, V. Marcos; leite: diferenças entre grupos de bactérias. MilkPont, abril 2000. Disponível < <https://www.milkpoint.com.br/colunas/marco-veiga-dos-santos/acao-bacterianasobre-a-qualidade-do-leite-diferencas-entre-grupos-de-bacterias-16155n.aspx>> Acesso em 02 de outubro 2019.

SANTOS, V Marcos; BARREIRO Juliana. Ocorrência de Bactérias Psicrotróficas em Leite Cru Refrigerado. . MilkPont, junho 1010. Disponível <

<https://www.milkpoint.com.br/colunas/marco-veiga-dos-santos/ocorrencia-de-bacteriaspsicrotroficas-em-leite-cru-refrigerado-63875n.aspx>> Acesso em 24 de abril 2020.

SANTOS, M.V.; FONSECA, L.F.L. 2006. Estratégias para Controle de Mastite e Melhoria da Qualidade do Leite. 1.ed. Barueri: Editora Manole, p.314.

SANTOS, R. N. S; VIEIRA, S. M. Avaliação da Qualidade Microbiológica AVALIAÇÃO DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA do Leite Cru Refrigerado por Meio do Teste de Redutase. Encontro de Desenvolvimento de Processos Agro Industriais, Uberaba, 2020. Disponível: <https://www.uniube.br/eventos/edepa/>> Acesso em 15 de julho 2021.

SCHUSTER, C. GONZALES, H. L; BUCHLE, J.; TIMM, C. D. Avaliação de equipamento alternativo para pasteurização lenta de leite previamente envasado. Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas, v. 26, n. 4, p. 828-831, 2006.

SGARBIERI, V. C. Propriedades fisiológicas-funcionais das proteínas do soro de leite. Revista de Nutrição, Campinas, v. 17, p. 397–409, 2004.

SGARBIERI, V. C. Revisão: Propriedades Estruturais e Físico Químicas das Proteínas do Leite. Brazilian Journal of Food Technology, Campinas, v.8, p. 43-56, 2005.

SILVA, M. C. D. et al. Caracterização microbiológica e físico-química de leite pasteurizado destinado ao programa do leite no Estado de Alagoas. Ciências e Tecnologia de Alimentos, Campinas, 28(1):226-230, Jan-Mar., 2008.

SIMILI, F. F.; LIMA, M. L. P. Como os alimentos podem afetar a composição do leite das vacas. **Pesquisa & Tecnologia**, vol. 4, n.1 Jan-Jun 2007.

SPEXOTO, A.A. Aplicação do sistema de análises de perigos e pontos críticos de controle (APPCC) em propriedades leiteiras. 2003. 157 p.

ZANELLA, E.L. et al. Problemas reprodutivos no sistema intensivo de suínos criados ao ar livre e formas de controle. In: ENCONTRO DO CONESUL DE TÉCNICOS ESPECIALISTAS EM SISCAL E SIMPÓSIO SOBRE SISCAL,2, 1999, Concórdia. Anais..., Concórdia: EMBRAPA-CNPSA, 1999. p. 60-64.