

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS  
ESCOLA DE VETERINÁRIA E ZOOTECNIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

**AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DO LEITE CRU REFRIGERADO DE  
SILOS DE ESTOCAGEM EM LATICÍNIOS DO ESTADO DE GOIÁS**

Valessa Teixeira Barbosa

Orientadora: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Cíntia Silva Minafra Rezende

Goiânia

2020

07/10/2020

SEI - Documento para Assinatura

Processo: 23070.032092/2020-11 Documento: 1602481



UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS  
ESCOLA DE VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

### TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO (TECA) PARA DISPONIBILIZAR VERSÕES ELETRÔNICAS DE TESES E DISSERTAÇÕES NA BIBLIOTECA DIGITAL DA UFG

Na qualidade de titular dos direitos de autor, autorizo a Universidade Federal de Goiás (UFG) a disponibilizar, gratuitamente, por meio da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações (BDTD/UFG), regulamentada pela Resolução CEPEC nº 832/2007, sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a [Lei 9.610/98](#), o documento conforme permissões assinaladas abaixo, para fins de leitura, impressão e/ou download, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data.

O conteúdo das Teses e Dissertações disponibilizado na BDTD/UFG é de responsabilidade exclusiva do autor. Ao encaminhar o produto final, o autor(a) e o(a) orientador(a) firmam o compromisso de que o trabalho não contém nenhuma violação de quaisquer direitos autorais ou outro direito de terceiros.

#### 1. Identificação do material bibliográfico

Dissertação     Tese

#### 2. Nome completo do autor

Valessa Teixeira Barbosa

#### 3. Título do trabalho

Avaliação da qualidade do leite cru refrigerado de silos de estocagem em laticínios do estado de Goiás

#### 4. Informações de acesso ao documento (este campo deve ser preenchido pelo orientador)

Concorda com a liberação total do documento  SIM     NÃO<sup>1</sup>

[1] Neste caso o documento será embargado por até um ano a partir da data de defesa. Após esse período, a possível disponibilização ocorrerá apenas mediante:

- a) consulta ao(a) autor(a) e ao(a) orientador(a);
- b) novo Termo de Ciência e de Autorização (TECA) assinado e inserido no arquivo da tese ou dissertação.

O documento não será disponibilizado durante o período de embargo.

Casos de embargo:

- Solicitação de registro de patente;
- Submissão de artigo em revista científica;
- Publicação como capítulo de livro;
- Publicação da dissertação/tese em livro.

**Obs. Este termo deverá ser assinado no SEI pelo orientador e pelo autor.**



Documento assinado eletronicamente por **Cintia Silva Minafra E Rezende, Professora do Magistério Superior**, em 07/10/2020, às 14:32, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **VALESSA TEIXEIRA BARBOSA, Discente**, em 07/10/2020, às 15:07, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site [https://sei.ufg.br/sei/controlador\\_externo.php?acao=documento\\_conferir&id\\_orgao\\_acesso\\_externo=0](https://sei.ufg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando o código verificador **1602481** e o código CRC **C2720390**.

VALESSA TEIXEIRA BARBOSA

**AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DO LEITE CRU REFRIGERADO DE  
SILOS DE ESTOCAGEM EM LATICÍNIOS DO ESTADO DE GOIÁS**

Dissertação apresentada junto ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás, para obtenção do título de Mestre.

**Área de concentração:** Saúde Animal, Tecnologia e Segurança de Alimentos

**Orientador:** Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Cíntia Silva Minafra Rezende

**Comitê de Orientação:**

Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Clarice Gebara M. S. Cordeiro Prof. Dr. Edmar Soares Nicolau.

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UFG.

Barbosa, Valessa Teixeira  
AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DO LEITE CRU REFRIGERADO DE  
SILOS DE ESTOCAGEM EM LATICÍNIOS DO ESTADO DE GOIÁS  
[manuscrito] / Valessa Teixeira Barbosa. - 2020.  
xii, 68 f.

Orientador: Prof. Dr<sup>a</sup> Cíntia Silva Minafra Rezende; co-orientador  
Dr<sup>a</sup> Clarice Gebara M. S. Cordeiro ; co-orientador Dr. Edmar Soares  
Nicolau.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Goiás, Escola  
de Veterinária e Zootecnia (EVZ), Programa de Pós-Graduação em  
Ciência Animal, Goiânia, 2020.

Bibliografia.

Inclui gráfico, tabelas.

1. leite cru. 2. bactérias. 3. armazenamento. 4. coleta. I. Rezende,  
Dr<sup>a</sup> Cíntia Silva Minafra , orient. II. Título.

CDU 639.09



UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS

ESCOLA DE VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

## ATA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO

Ata nº 554 da sessão de Defesa de Dissertação de **Valessa Teixeira Barbosa**, que confere o título de Mestre(a) em **Ciência Animal**, na área de concentração em **Saúde Animal, Tecnologia e Segurança de Alimentos**.

Aos **trinta e um dias do mês de julho de dois mil e vinte** a partir das **14h00min**, por meio de videoconferência realizou-se a sessão pública de Defesa de Dissertação intitulada **"Avaliação da qualidade do leite cru refrigerado de silos de estocagem em laticínios do estado de Goiás"**. Os trabalhos foram instalados pelo(a) **Prof.ª Dr.ª Clarice Gebara Muraro Serrate Cordeiro Tenório (EVZ/UFMG)**, representando a orientadora **Prof.ª Dr.ª Cintia Silva Minafra e Rezende**, com a participação dos demais membros da Banca Examinadora, de forma remota: **Prof.ª Dr.ª Karyne Oliveira Coelho (UEG)**, membro titular externo; **Prof.ª Dr.ª Mônica Maria Oliveira Pinho Cerqueira (UFMG)**, membro titular externo. Durante a arguição os membros da banca não sugeriram alteração do título do trabalho. A Banca Examinadora reuniu-se em sessão secreta a fim de concluir o julgamento da Dissertação, tendo sido(a) o(a) candidato(a) **aprovada** pelos seus membros. Proclamados os resultados pelo(a) **Prof.ª Dr.ª Clarice Gebara Muraro Serrate Cordeiro Tenório**, Presidente da Banca Examinadora, foram encerrados os trabalhos e, para constar, lavrou-se a presente ata que é assinada pelos Membros da Banca Examinadora, aos **trinta e um dias do mês de julho de dois mil e vinte**.

## TÍTULO SUGERIDO PELA BANCA



Documento assinado eletronicamente por **Clarice Gebara Muraro Serrate Cordeiro Tenório**, Professor do Magistério Superior, em 31/07/2020, às 17:13, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **KARYNE OLIVEIRA COELHO**, Usuário Externo, em 31/07/2020, às 17:16, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **MÔNICA MARIA OLIVEIRA PINHO CERQUEIRA**, Usuário Externo, em 31/07/2020, às 17:16, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site [https://sei.ufg.br/sei/controlador\\_externo.php?acao=documento\\_conferir&id\\_orgao\\_externo=0](https://sei.ufg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_externo=0), informando o código verificador **1466923** e o código CRC **9D1B2276**.

## AGRADECIMENTO

Agradeço a Deus por ter me intuído a decidir participar deste curso de pós graduação, onde tive a oportunidade de conhecer, conviver e aprender com pessoas que fizeram de mim um ser humano muito melhor que antes.

Agradeço a professora Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Cíntia Silva Minafra Rezende, por ter aceitado ser minha orientadora. Também ao professor Prof. Dr. Edmar Soares Nicolau, por ter contribuído como integrante do comitê de orientação, participando ativamente das negociações aos parceiros para viabilizar a execução do projeto. E em especial a professora Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Clarice Gebara M. S. Cordeiro que participou ativamente do meu desenvolvimento durante o curso, a execução do projeto e a elaboração da dissertação.

Ao Sindileite – Sindicato das Indústrias de Laticínios no Estado de Goiás e ao Fundepec – Fundo de Desenvolvimento da Agropecuária em Goiás, sobretudo ao Médico Veterinário, Sr. Alfredo Luiz Correia que como parceiros financiaram e que sem essa parceria juntamente com as Indústrias e seus colaboradores que permitiram as coletas de amostras, não seria possível a realização do projeto.

A minha colega de curso Tainara Ribeiro de Souza e Raiany Soares de Paula que me auxiliaram em todas as dificuldades do curso e me estimularam a seguir em frente.

A minha família que sempre me incentivou e que é a razão da persistência e perseverança de todos os dias e que sem eles talvez nada mais importasse.

Enfim, quero demonstrar o meu agradecimento, a todos aqueles que, de um modo ou de outro, tornaram possível a realização da presente dissertação.

A todos o meu sincero e profundo Muito Obrigado!

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	13
<b>2. REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	15
2.1 A produção de leite.....	15
2.2 Avaliação de qualidade do leite cru.....	18
2.2.1 Avaliação físico-química.....	19
2.2.2 Avaliação microbiológica.....	24
<b>3. OBJETIVO</b> .....	33
<b>4. METODOLOGIA</b> .....	33
4.1. Coleta de amostras.....	33
4.2. Análises eletrônicas .....	36
4.3. Análises físico-químicas e microbiológicas por teste rápido .....	36
4.4. Análise estatística .....	37
<b>5. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	37
5.1 Características físico-químicas do leite cru .....	37
5.2 Características microbiológicas do leite .....	51
CONCLUSÕES .....	61
CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	62
REFERÊNCIAS .....	63

**LISTA DE FIGURAS**

<b>FIGURA 1</b> - Esquema de coleta de leite cru refrigerado dos silos de estocagem realizado nas indústrias de laticínios. ....	34
<b>FIGURA 2</b> - Evolução de CPP (UFC/mL) nas amostras de leite de nove silos de estocagem em função do tempo em minutos.....	52
<b>FIGURA 3</b> - Evolução de CPP (UFC/mL) nas amostras de leite de simulação de nove silos de estocagem em função do tempo em minutos.....	53
<b>FIGURA 4</b> - Evolução da presença de bactérias psicotróficas (UFC/mL) em silos em função do tempo em minutos .....	54
<b>FIGURA 5</b> - Evolução da presença de bactérias psicotróficas (UFC/mL) em silos em função do tempo em minutos (em log).....	55
<b>FIGURA 6:</b> Gráfico de Componentes Principais das Amostras de Simulação.....	56
<b>FIGURA 7:</b> Gráfico de Componentes Principais das Amostras do Silo.....	57

## LISTA DE TABELAS

<b>TABELA 1</b> - Média correspondente aos valores encontrados nas análises físico-químicas de todas as amostras analisadas durante o estudo (n = 100, média ± desvio padrão). .....	38
<b>TABELA 2</b> - Avaliação da qualidade físico-química e microbiológica do leite cru de silo de estocagem. Amostras de Silo - Coletas durante o esvaziamento do Silo para processamento. Amostras Simulação - Coletas durante a simulação de aumento de temperatura.....	39
<b>TABELA 3</b> - Avaliação da qualidade físico-química e microbiológica do leite cru de silo de estocagem. Amostras de Silo - Coletas durante o esvaziamento do Silo para processamento. Amostras Simulação - Coletas durante a simulação de aumento de temperatura.....	40
<b>TABELA 4</b> - Avaliação da qualidade físico-química e microbiológica do leite cru de silo de estocagem. Amostras de Silo - Coletas durante o esvaziamento do Silo para processamento. Amostras Simulação - Coletas durante a simulação de aumento de temperatura.....	41
<b>TABELA 5</b> - Avaliação da qualidade físico-química e microbiológica do leite cru de silo de estocagem. Amostras de Silo - Coletas durante o esvaziamento do Silo para processamento. Amostras Simulação - Coletas durante a simulação de aumento de temperatura.....	42
<b>TABELA 6</b> - Avaliação da qualidade físico-química e microbiológica do leite cru de silo de estocagem. Amostras de Silo - Coletas durante o esvaziamento do Silo para processamento. Amostras Simulação - Coletas durante a simulação de aumento de temperatura.....	43
<b>TABELA 7</b> - Avaliação da qualidade físico-química e microbiológica do leite cru de silo de estocagem. Amostras de Silo - Coletas durante o esvaziamento do Silo para processamento. Amostras Simulação - Coletas durante a simulação de aumento de temperatura.....	44
<b>TABELA 8</b> - Avaliação da qualidade físico-química e microbiológica do leite cru de silo de estocagem. Amostras de Silo - Coletas durante o esvaziamento do Silo para processamento. Amostras Simulação - Coletas durante a simulação de aumento de temperatura.....	45
<b>TABELA 9</b> - Avaliação da qualidade físico-química e microbiológica do leite cru de silo de estocagem. Amostras de Silo - Coletas durante o esvaziamento do Silo para processamento. Amostras Simulação - Coletas durante a simulação de aumento de temperatura.....	46
<b>TABELA 10</b> - Avaliação da qualidade físico-química e microbiológica do leite cru de silo de estocagem. Amostras de Silo - Coletas durante o esvaziamento do Silo para processamento. Amostras Simulação - Coletas durante a simulação de aumento de temperatura.....	47
<b>TABELA 11</b> - Comparação dos resultados de análises de leite cu de silo de estocagem, avaliando tempo de esvaziamento do silo, variação de temperatura e crescimento de micro-organismos no início e no final do processo entre os diferentes silos.....	48

<b>Tabela 12-</b> Coeficientes de correlação de Pearson e níveis de significância. ....	49
<b>Tabela 13-</b> Comparação dos resultados de análises de leite cu de silo de estocagem, avaliando tempo de esvaziamento do silo e crescimento de micro-organismos psicotróficos.....	58

## LISTA DE QUADROS

<b>QUADRO 1</b> – Quantidade de leite cru produzido e industrializado, segundo os trimestres no Brasil entre 2018 e 2019.....	16
<b>QUADRO 2</b> – Produtividade de leite de vaca nos 10 maiores países produtores entre 2016 e 2018.....	17
<b>QUADRO 3</b> – Média e variação dos componentes do leite de bovinos.....	22
<b>QUADRO 4</b> – Teores mínimos a serem cumpridos no controle de qualidade composicional do leite cru.....	23
<b>QUADRO 5</b> – Descrição das coletas e tempos para avaliação do leite cru refrigerado dos silos de estocagem (n=2).....	35

## RESUMO

O leite bovino é a principal matéria prima de produção de laticínios e possui elevado valor nutritivo, por fornecer nutrientes indispensáveis à nutrição humana. Embora a indústria de laticínios controle rigorosamente a qualidade microbiana ao longo das linhas de processamento de leite, um grande número de bactérias que pode causar alteração na sua qualidade é identificado durante o armazenamento em silos. Portanto, objetivou-se avaliar a qualidade do leite cru refrigerado em silos de estocagem em indústrias de laticínios do estado de Goiás e estudar a influência do tempo e da temperatura de estocagem sobre o crescimento de micro-organismos durante o processo de esvaziamento do silo para o beneficiamento do leite. Foram selecionadas seis indústrias de laticínios no estado de Goiás, onde foram escolhidos aleatoriamente um ou dois silos de estocagem para o monitoramento durante o esvaziamento do silo. Foram coletadas amostras durante o esvaziamento de cada silo, em duplicata, a cada trinta minutos. Também foram avaliadas amostras de leite dos mesmos silos durante simulação de aumento de temperatura de 2 a 7°C. Foram avaliados a duração de esvaziamento do silo; a temperatura de início do processo e a cada 30 minutos até o final do processo e o volume de leite no silo ou balão de estocagem. Foram avaliadas as características físico-químicas (estabilidade ao alizarol a 72%, pH, acidez titulável, gordura, proteína, lactose, ST, SD) e as características microbiológicas (Contagem Padrão em Placas, contagem de micro-organismos mesófilos aeróbios, psicrotróficos, coliformes a 35°C e *E. coli*). Foi possível observar que a maioria das indústrias ainda tem dificuldades em manter a temperatura do leite nos silos de estocagem inferior a 4°C, com CPP dentro do permitido pela legislação. Observou-se que a interferência do tempo durante o esvaziamento do silo de estocagem na qualidade do leite foi mais significativa que o aumento da temperatura. É possível afirmar que é necessário garantir as condições que minimizem o crescimento de micro-organismos desde a obtenção do leite para que haja menor impacto na qualidade do leite e seus derivados.

Palavras chave: leite cru, bactérias, armazenamento, coleta.

## ABSTRACT

Bovine milk is the main raw material for dairy production and has a high nutritional value, as it provides essential nutrients for human nutrition. Although the dairy industry strictly controls microbial quality along milk processing lines, a large number of bacteria that can cause changes in its quality are identified during storage in silos. Therefore, this work aimed to evaluate the quality of refrigerated raw milk in storage silos in dairy industries in the state of Goiás and to study the influence of storage time and temperature on the growth of microorganisms during the silo emptying process for the processing of milk. Six dairy industries were selected in the state of Goiás, where one or two storage silos were randomly chosen for monitoring during the emptying of the silo. Samples were collected during the emptying of each silo, in duplicate, every thirty minutes. Milk samples from the same silos were also evaluated during simulation of a temperature increase of 2 to 7 ° C. The duration of emptying of the silo was evaluated; the temperature at the beginning of the process and every 30 minutes until the end of the process and the volume of milk in the silo or storage tank. The physicochemical characteristics (alizerol 72% stability, pH, titratable acidity, fat, protein, lactose, total solids, and non-fat total solids) and the microbiological characteristics (total bacterial count, aerobic count, psychrotrophic, total coliforms and *E. coli*). It was possible to observe that the majority of the industries still have difficulties in maintaining the temperature of the milk in the storage silos below 4 ° C, with TBC within the allowed by the Brazilian law. It was observed that the time interference during the emptying of the storage silo on the milk quality was more significant than the increase in temperature. It is possible to affirm that it is necessary to guarantee the conditions that minimize the growth of microorganisms since obtaining the milk so that there is less impact on the quality of the milk and dairy products

*Keywords:* raw milk, bacteria, storage, collect

## 1. INTRODUÇÃO

A produção de laticínios é uma atividade cada vez mais competitiva, exigindo busca contínua de aumento da produção e melhoria da qualidade, visando atender a demanda nacional e conquistar mercados internacionais<sup>1</sup>. O leite bovino é a principal matéria prima de produção de laticínios e possui grande importância na nutrição humana, devido ao seu elevado valor nutritivo, por fornecer nutrientes indispensáveis na garantia da saúde<sup>2</sup>. Contudo, a presença de grande quantidade de água, aliada à presença de proteínas, gorduras, carboidratos, minerais e vitaminas, torna este alimento mais vulnerável a alterações físico-químicas e microbiológicas<sup>3</sup>.

O Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) publicou em novembro de 2018 a Instrução Normativa (IN) nº 76, que trata dos Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade do leite e a IN nº 77 que estabelece os critérios e procedimentos para a produção, acondicionamento, conservação, transporte, seleção e recepção do leite. A coleta do leite seguro e de qualidade também foi outra preocupação, sendo abordadas metodologias de trabalho da fazenda, instalações e equipamentos, até a capacitação dos colaboradores responsáveis pelas atividades cotidianas, o controle de mastite, da brucelose e da tuberculose<sup>4, 5</sup>.

O leite cru possui uma das mais diversas comunidades microbianas detectadas nas matrizes alimentares. Essa população microbiana pode causar mudanças na segurança e na qualidade do leite, tanto no leite cru como em derivados. Para que o leite passe pelas etapas da cadeia produtiva necessárias para a garantia de sua qualidade e se torne um produto competitivo no mercado, do produtor até o consumidor final, o controle de qualidade do mesmo é realizado em diferentes momentos<sup>6-8</sup>.

Estudos comprovam que as características físico-químicas do leite cru são influenciadas diretamente pelas condições de armazenamento, bem como pelo tempo transcorrido entre a coleta das amostras e a realização de suas análises<sup>2,9,10</sup>. Embora a indústria de laticínios controle rigorosamente a qualidade microbiana ao longo das linhas de processamento de leite, um grande número de bactérias que podem causar alteração na qualidade é identificado constantemente durante o armazenamento em silos<sup>7,6,11</sup>. As bactérias prejudiciais do leite provocam transformações indesejadas pela indústria, como modificações de cor e sabor do leite, coagulação e decomposição de proteínas e lipídios<sup>8</sup>. A ação deteriorante

das bactérias consiste inicialmente em metabolizar a lactose e produzir ácido láctico, causando aumento da acidez e diminuição do pH<sup>8,9</sup>.

No estudo de Wentz e colaboradores<sup>1</sup>, a Contagem Padrão em Placas do leite (CPP) mostrou-se diretamente influenciada pelo tempo de armazenamento e pela temperatura de armazenagem. No estudo de Tribst, observou-se que, além do aumento da temperatura e tempo de armazenagem serem diretamente proporcionais ao aumento da CPP, outro fator determinante na qualidade deste alimento é a característica da microbiota no tempo inicial do armazenamento<sup>12</sup>.

Os principais micro-organismos contaminantes do leite são bactérias mesófilas, que se multiplicam rapidamente quando o leite não é armazenado sob refrigeração adequada, e as psicotróficas, que são capazes de se multiplicar mesmo em temperaturas baixas<sup>13, 14</sup>. A taxa de multiplicação bacteriana depende da temperatura de armazenamento do leite, sendo recomendado que o leite depois da ordenha chegue a 4°C em até três horas<sup>15</sup> para retardar essa multiplicação.

O tempo de estocagem do leite desde a ordenha até o processamento pode levar a um crescimento bacteriano<sup>16</sup>. Atualmente, com a intensificação dos processos produtivos e aumento de produção, a granelização e a refrigeração do leite possibilitaram a diminuição do problema com bactérias mesófilas, porém, aumentaram o desafio de controle do crescimento das bactérias psicotróficas<sup>17</sup>. O longo período de estocagem sob refrigeração, ou a estocagem sob temperaturas inadequadas, associado à falta de higiene antes, durante e depois da ordenha, aumenta o desenvolvimento dos micro-organismos, comprometendo a qualidade do leite<sup>11</sup>.

Alta Contagem Padrão em Placas e de células somáticas estão associadas com o aumento da atividade enzimática que altera os componentes do leite podendo resultar em defeitos no produto final. A capacidade de deterioração depende de vários fatores, incluindo o tipo de enzima, sua especificidade, sua estabilidade térmica, a temperatura de processamento e de armazenamento, o pH, a umidade, e a presença de inibidores no leite<sup>12,13</sup>.

Entretanto, a qualidade microbiológica do leite depende, principalmente, da limpeza e higienização de utensílios e equipamentos de ordenha que entram em contato com o leite e da higiene de ordenha, especificamente da higienização e secagem dos tetos antes da ordenha. Esses fatores ajustados de maneira correta aliados a um controle de mastite eficiente são fundamentais para a obtenção de leite de alta qualidade<sup>10</sup>.

Dessa forma, é importante o entendimento da influência do tempo e da temperatura correlacionados ao desempenho de micro-organismos no leite cru armazenados em silos de estocagem, pois pesquisas mostram que, mesmo sob refrigeração, alguns micro-organismos

continuam a desenvolver-se, afetando a qualidade do leite<sup>13, 18</sup>. Um ponto importante a ser investigado é a influência do tempo de esvaziamento do silo de estocagem do leite cru refrigerado durante o beneficiamento do leite, bem como a influência da variação de temperatura decorrente deste esvaziamento na qualidade microbiológica do leite.

## **2. REVISÃO DE LITERATURA**

### **2.1 A produção de leite**

O leite é um alimento de origem animal, amplamente difundido por possuir alto valor nutritivo, com paladar distinto, agradável, doce e suave. Segundo o Art. 475 do Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA), “entende-se por leite, sem outra especificação, o produto oriundo da ordenha completa, ininterrupta, em condições de higiene, de vacas sadias, bem alimentadas e descansadas”<sup>19</sup>.

Além disso, o RIISPOA define que o leite deve apresentar concentração de gordura mínima de 3g/100g; acidez entre 0,14 e 0,18 (em gramas de ácido láctico/ 100 mL); densidade a 15°C entre 1,028 e 1,033 g/mL; lactose mínima de 4,3g/100g; Sólidos Totais, SD - Sólidos Desengordurados mínimo de 8,4g/100g; Sólidos Totais, S - mínimo de 11,4g/100g; índice crioscópico entre -0,512°C e -0,536°C<sup>19</sup>. O consumo de leite e de seus derivados fornece proteínas e minerais essenciais à promoção do crescimento e manutenção da vida para o ser humano, como cálcio, magnésio, potássio, fósforo, vitaminas A e C<sup>20</sup>.

A evidência mais antiga do consumo de leite de origem animal por humanos é do período neolítico, cerca de 6.000 anos atrás<sup>21</sup>. O período neolítico se caracteriza pela troca da caça pela agricultura e pelo início do chamado estilo de vida sedentário, juntamente com o surgimento de novas formas de cultura agrícola<sup>21</sup>. O consumo humano do leite de origem animal começou a crescer rapidamente na Europa após o surgimento da agricultura e a domesticação do gado durante o período neolítico<sup>22</sup>.

Utilizar o leite fresco ou em forma de queijo como alimento foi uma alternativa durante a Antiguidade e a Idade Média, uma vez que a conservação do leite era um problema<sup>23</sup>. Na Europa em 1830 com o avanço da organização de transportes em grandes cidades através da Revolução Industrial, ocorreu a oportunidade de se transportar leite fresco de propriedades rurais às cidades<sup>24</sup>. Foram desenvolvidos novos instrumentos na indústria de processamento do

leite. Um dos mais conhecidos é o equipamento para pasteurização, técnica esta que foi descoberta e desenvolvida em 1864 por Louis Pasteur e depois sugerida para ser usada no leite em 1886 pelo químico microbiologista alemão Franz Von Soxhlet<sup>25</sup>. Estas inovações fizeram com que o leite ganhasse tempos de conservação maiores e processamento mais higiênico<sup>23</sup>.

O início da atividade leiteira nacional se deu em 1532, quando ocorreu o desembarque em São Vicente dos primeiros 32 bovinos europeus trazidos por Afonso de Souza. Entretanto, permaneceu insignificante por mais de três séculos. Entretanto, o desenvolvimento da pecuária na década de 1870 foi favorecida com a crise no setor cafeeiro, modernizando as propriedades no segmento pecuário. Mas em 1888 a criação de gado aumentou significativamente em torno das grandes cidades do Sul ao Nordeste, logo após a abolição da escravidão. Até a década de 1950, a atividade caminhou morosamente, sem grandes evoluções tecnológicas<sup>26</sup>.

Entre 1975 e 1985 a produção de leite de vaca subiu de 7,9 milhões de toneladas para 12 milhões de toneladas no Brasil. A partir da segunda metade da década de 1990, o crescimento anual foi de 4,05% em média; já na primeira década do ano 2000, 4,2% ao ano. Em 2013 o acréscimo foi de 6% em relação a ano anterior totalizando 34,3 milhões de toneladas, diferente da média do início da década que apresentou 4,5% de crescimento. De 2013 para 2014, a produção cresceu 2,3%, alcançando 35,1 milhões de toneladas. Estima-se que a produção tenha sido de 17 bilhões de litros em 2018 e 18 bilhões de litros em 2019<sup>27</sup>. O Quadro 1 mostra a relação da quantidade de leite cru produzido e industrializado e variação, durante os anos 2018 e 2019 no Brasil<sup>27</sup>.

**Quadro 1:** Quantidade de leite cru produzido e industrializado, segundo os trimestres no Brasil entre 2018 e 2019.

Período	Quantidade de leite cru (mil litros)			
	Produzido		Industrializado	
	2018	2019	2018	2019
<b>Total do ano</b>	17.754.228	18.362.666	17.726.187	18.333.725
<b>Total do 1º Trimestr</b>	6.019.432	6.213.799	6.013.287	6.205.673
<b>Total do 2º Trimestr</b>	5.478.583	5.854.924	5.467.170	5.846.880
<b>Total do 3º Trimestr</b>	6.256.214	6.293.943	6.245.730	6.281.172

Fonte: Adaptado de IBGE<sup>27</sup>

As regiões Sudeste com 50% e Sul 23% juntos representam a maior produção de leite nacional. Entre os estados, Minas Gerais lidera a produção nacional, com 30%, ficando São Paulo em segundo lugar com 14% da produção<sup>27</sup>. O Brasil é o terceiro maior produtor mundial de leite, como mostra o Quadro 2, com 33 milhões de toneladas nos anos de 2016 e 2017.

Dentre os Estados brasileiros, Goiás é um dos maiores produtores de leite, responsável por 9,11% da produção do país e 75,64% da produção da Região Centro-Oeste<sup>27</sup>.

Os anos de 2015 e 2016 foram de crise no mercado internacional de lácteos. Em 2017 o litro de leite voltou a US\$ 0,35 recuperando o mercado, e apresentou o valor de US\$ 0,32/L em 2018. Em valores convertidos para o real e corrigidos para a inflação, a média dos últimos 10 anos foi o equivalente a R\$ 1,10 por litro, no cenário internacional.

**Quadro 2-** Produtividade de leite de vaca nos 10 maiores países produtores entre 2016 e 2018.

Países	Produção (toneladas)			Rebanho (cabeças)			Produtividade (kg/cabeça)		
	2016	2017	2018	2016	2017	2018	2016	2017	2018
Estados Unidos	96.366.267	97.761.519	98.690.477	9.312.400	9.368.500	9.432.100	10.348	10.435	10.463
Índia	78.098.880	83.633.570	89.833.590	49.128.270	50.905.190	52.841.810	1.590	1.643	1.700
Brasil *	33.680.401	33.312.149	33.839.864	19.559.095	16.851.782	16.357.485	1.722	1.977	2.069
Alemanha	32.672.340	32.598.198	33.064.833	4.217.700	4.199.010	4.100.863	7.746	7.763	8.063
Rússia	29.528.984	29.867.213	30.345.525	7.199.922	7.043.569	6.726.438	4.101	4.240	4.511
China	31.018.548	30.772.422	31.165.090	12.717.879	12.014.621	5.574.969	2.439	2.561	5.590
França	25.627.060	25.539.489	25.541.269	3.637.015	3.596.837	3.552.436	7.046	7.101	7.190
Nova Zelândia	21.671.520	21.372.000	21.392.000	5.202.467	5.043.813	5.010.334	4.166	4.237	4.270
Turquia	16.786.263	18.762.319	20.036.877	5.431.714	5.969.046	6.377.907	3.090	3.143	3.142
Paquistão	15.529.000	16.115.000	16.722.000	12.625.000	13.101.000	13.595.000	1.230	1.230	1.230
Reino Unido	14.662.000	15.267.000	15.311.000	1.897.000	1.897.000	1.881.000	7.729	8.048	8.140
<b>SUBTOTAL</b>	<b>395.641.263</b>	<b>405.000.879</b>	<b>415.942.525</b>	<b>130.928.462</b>	<b>129.990.368</b>	<b>125.450.342</b>	<b>3.022</b>	<b>3.116</b>	<b>3.316</b>
<b>TOTAL</b>	<b>665.596.536</b>	<b>677.670.685</b>	<b>682.022.516</b>	<b>276.573.845</b>	<b>275.384.484</b>	<b>264.958.330</b>	<b>2.407</b>	<b>2.461</b>	<b>2.574</b>

Fonte: EMBRAPA<sup>29</sup>

Por se tratar de um alimento rico nutricionalmente e que possui uma microbiota natural, o leite é considerado um alimento de alto consumo mundial, porém de alta perecibilidade. Uma vez que a demanda para consumo é elevada, deve-se assegurar que, durante toda a cadeia de obtenção e processamento do leite, o mesmo se mantenha em condições higiênico-sanitárias adequadas, a fim de assegurar a saúde da população consumidora<sup>28, 30</sup>.

No ano de 1952 foi sancionado pelo então presidente do Brasil Getúlio Vargas o Decreto 30.691, com o Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA) que tornava obrigatória a pasteurização do leite, bem como a inspeção e o carimbo do Serviço de Inspeção Federal (SIF). Classificando ainda o leite em tipos A, B e C de acordo com os critérios e normas de extração de leite, métodos de processos e de comércio<sup>32</sup>.

O RIISPOA de 1952 vigente até 2017, e a Portaria 56/1999 do Ministério da Agricultura que regulamentava a qualidade do leite, criou o Programa Nacional de Melhoria da Qualidade do Leite (PNQL)<sup>26, 33</sup>. O programa apresentava os novos parâmetros regulatórios da qualidade do leite nacional, base da Instrução Normativa nº 51.

A regulamentação de produção, identidade e critérios do leite tipo A, tipo B e tipo C, além dos leites cru e pasteurizado e o transporte do leite a granel juntamente com o Regulamento Técnico da coleta de leite cru refrigerado foi aprovado pela IN 51<sup>34</sup>. Além disso, estabeleceu parâmetros importantes para a qualidade do leite no Brasil para a Contagem de Células Somáticas e Contagem Padrão em Placas. Ela ficou vigente de 2002 até 2011 e foi substituída pela IN 62<sup>35</sup>, que ficou em vigor até maio de 2019, quando foram especificados novos padrões de identidade e qualidade do leite cru refrigerado, do pasteurizado e do tipo A, através das Instruções Normativas IN 76 e 77<sup>04,05</sup>.

A IN 76/2018 fixa as características que o leite cru refrigerado, o leite pasteurizado e o leite tipo A devem apresentar. E a IN 77/2018 estabelece as normas de produção, armazenamento, preservação, transporte, triagem e recebimento do leite cru em empresas registradas nos órgãos de inspeção oficial. Com a publicação das novas IN, foram revogadas as IN 51/2002, 22/2009, 62/2011, 07/2016 e 31/2018<sup>04</sup>.

## 2.2 Avaliação de qualidade do leite cru

Parâmetros físico-químicos e microbiológico determinam a qualidade do leite. A alimentação do rebanho, genética e raça do animal interferem diretamente nos teores de sólidos como proteína, gordura, lactose, sais minerais e vitaminas presentes no leite. Fatores ligados a cada animal, como o período de lactação, o escore corporal ou situações de estresse também interferem na qualidade composicional<sup>38</sup>.

Por ser um produto de grande relevância à alimentação das populações mundiais, além de ser um alimento exigente em relação à sua conservação, o leite é objeto de vários testes e avaliações. As análises realizadas a fim de determinar os parâmetros exigidos por normas

técnicas legais em todo país sofrem pouca ou nenhuma variação em função dos requisitos e métodos utilizados. De modo geral, são avaliadas características físico-químicas e sensoriais como sabor, odor, cor e aparência e são definidos parâmetros microbiológicos de baixa contagem de bactérias, ausência de micro-organismos patogênicos, baixa contagem de células somáticas, ausência de conservantes químicos e de resíduos de antibióticos, pesticidas ou outras drogas<sup>04,05</sup>.

### 2.2.1 Avaliação físico-química

A qualidade físico-química do leite é estabelecida na legislação brasileira pela avaliação dos seguintes parâmetros: estabilidade ao alizarol a 72%, acidez titulável, densidade relativa e índice crioscópico; e pela avaliação da composição: gordura, proteína, lactose e sólidos totais e desengordurado, além de pesquisas por fraudes, avaliando os reconstituintes da densidade ou do índice crioscópico, neutralizantes da acidez e substâncias conservadoras<sup>04</sup>.

#### a) Parâmetros de acidez do leite

A acidez do leite reflete sua composição e seu estado de conservação. A ação de micro-organismos que metabolizam a lactose propicia o aumento do ácido láctico, conseqüentemente aumentando a acidez. A partir do uso do teste do alizarol a 72%, pode-se identificar, por colorimetria, se o leite está normal, ácido ou com acidez menor do que o normal (leite alcalino) e também pode-se estimar se o leite apresentará estabilidade quando submetido a tratamento térmico na indústria<sup>39</sup>.

O leite com baixa estabilidade térmica é identificado como aquele que forma precipitado ou grumos quando exposto ao teste do alizarol ou fervura e, por este motivo, é rejeitado. Utiliza-se uma solução preparada com álcool e alizarina a 72% volume/volume (v/v). Para realização do teste, são misturados volumes iguais da solução de alizarol a 72% e da amostra de leite, e observa-se a formação de grumos e alteração de cor.

O leite em condições adequadas para captação deve apresentar coloração de rosa a vermelho tijolo e sem coagulação, o que demonstra que o leite está com acidez normal (0,14 a 0,18 gramas de ácido láctico/100 ml). Se houver a formação de coloração amarela e/ou a

presença de coagulação, o leite é considerado ácido ou instável termicamente. Caso o leite apresente comportamento alcalino, a reação irá demonstrar uma cor roxa ou violeta azulada<sup>40</sup>.

O leite in natura é ligeiramente ácido, apresentando pH entre 6,6 e 6,8. Este pH e a acidez natural são conferidos pelos constituintes naturalmente presentes no leite como a caseína, fosfatos, albumina, citrato e gás carbônico dissolvido (CO<sub>2</sub>), que tem efeito tamponante<sup>40</sup>.

No entanto, a acidez não mede a contagem bacteriana do leite. A implicação usual de contaminação havendo altos valores de acidez no leite é devido ao elevado teor de ácido láctico. A causa mais provável dessa relação é a conversão da lactose a ácido láctico por bactérias. Sendo assim, alta contagem bacteriana implica alta concentração de ácido láctico que, por sua vez, implica em alta acidez e redução no pH<sup>41</sup>.

Outra forma de avaliação da acidez do leite é através da acidez titulável. O teste do alizarol a 72% é considerado qualitativo, por se basear em colorimetria. No teste da acidez titulável, o hidróxido de sódio (NaOH), que é uma substância de caráter alcalino, é usado para neutralizar o ácido do leite até o ponto de viragem, de forma que é possível determinar quantitativamente o grau de acidez do leite, se tornando um teste mais confiável<sup>42</sup>.

A fenolftaleína é utilizada como elemento indicador no teste de acidez titulável. Quando adicionada ao leite o mesmo permanece com coloração inalterada em meio ácido, entretanto à medida que o meio se torna alcalino apresenta-se a cor rosa, mensurando a quantidade necessária para neutralizar a acidez da solução. Portanto o NaOH é adicionado ao leite até que o leite adquirira a coloração rósea, apontando indiretamente a concentração de ácido láctico. A acidez titulável é expressa na prática em graus Dornic (°D) ou em porcentagem (%) de ácido láctico<sup>43</sup>. A IN 76 preconiza que o leite cru refrigerado deve atender aos parâmetros de acidez titulável entre 0,14g e 0,18g expressa em gramas de ácido láctico/100 mL e de estabilidade ao alizarol na concentração mínima de 72% v/v<sup>04</sup>.

Entretanto, existe ainda uma alteração da estabilidade do leite denominada LINA (Leite Instável Não Ácido), que resulta em modificação na qualidade do leite pela instabilidade da proteína quando submetida à análise utilizando o álcool, ou a solução alcóolica de alizarol a 72%, apresentando o surgimento de coágulos, com acidez abaixo de 18°D<sup>44</sup>

Desta forma, o LINA não é considerado leite ácido, porém como no teste apresenta precipitação o mesmo é rejeitado pelos laticínios. São inúmeras as variáveis que podem causar essas alterações e algumas alternativas podem solucionar esse problema. Vários fatores vêm sendo estudados para identificar aqueles que predispõem à ocorrência do LINA, dentre eles fatores nutricionais como baixa disponibilidade de matéria seca, uso de sal aniônico e

desbalanceamento de energia e proteína nas dietas totais; e fatores não nutricionais que tratam de tempo de lactação dos animais, estresse térmico e enfermidades da glândula mamária<sup>45</sup>.

#### b) Densidade relativa

A temperatura influencia diretamente a densidade do leite, por isso quando se realiza a mensuração da densidade é necessário corrigi-la de acordo com a temperatura observada segundo determina a IN 76, na temperatura de 15 °C. Por isso, este parâmetro é chamado de densidade relativa<sup>04</sup>.

Correlacionando o peso e o volume do leite determina-se a densidade do leite a 15°C ou com correção da temperatura. A densidade do leite é, em média, 1,032 g/mL, podendo variar entre 1,028 e 1,034 g/mL<sup>04, 43</sup>. A densidade abaixo do mínimo fornece uma indicação de dissolução dos sólidos do leite, possivelmente por adição de água e, eventualmente, poderá indicar também problemas de saúde da vaca, ou mesmo problemas nutricionais. A concentração de gordura e sólidos não-gordurosos está diretamente relacionada à densidade do leite, uma vez que a gordura apresenta densidade inferior à da água, diminuindo a densidade relativa quando em alta concentração, enquanto que os sólidos não-gordurosos têm densidade maior<sup>41</sup>.

#### c) Índice crioscópico

O índice crioscópico ou ponto de congelamento do leite é uma propriedade físico-química usada para identificar a adulteração pela adição de água ao leite. O ponto de congelamento da água é 0°C, valor superior ao índice crioscópico do leite uma vez que o índice crioscópico diminui à medida que se aumenta a concentração de sólidos, e o leite tem cerca de 13% de sólidos. O leite de composição normal, não adulterado, possui índice crioscópico entre -0,512 °C e -0,536 °C e a adição de água faz com que o índice crioscópico se aproxime da temperatura de congelamento da água pura<sup>46</sup>.

O crioscópio eletrônico é o aparelho mais utilizado para realizar a determinação do ponto de congelamento do leite, nele utiliza-se uma amostra de 2,5 mL de leite que é resfriada até a -3,0°, havendo cristalização desta amostra, induzida por vibração mecânica. A primeira vez que se utilizou o ponto de congelamento ou índice crioscópico de forma qualitativa no leite com o intuito de identificar fraudes por adição de água foi em 1920 por Julius Hortvet. Por essa razão os dados referentes à crioscopia do leite são expressas em escala Hortvet (°H) que é diferente da padronização da escala Celsius (°C)<sup>47</sup>. A relação entre ambas é dada por:

- Índice crioscópico, °H = 1,03562 x Índice crioscópico em °C
- Índice crioscópico, °C = 0,9656 x Índice crioscópico em °H

O artigo quarto da IN 76/2018 e o RIISPOA preconizam que o leite cru refrigerado deve apresentar índice crioscópico entre -0,530°H e -0,555°H, equivalentes a -0,512°C e a -0,536°C, respectivamente<sup>04,19</sup>.

#### d) Avaliação da composição: gordura, proteína e sólidos desengordurados

O leite de vaca é composto por água, lactose, gordura, proteínas, minerais e vitaminas<sup>40, 48, 49</sup>, sendo considerado um alimento altamente nutritivo. Um maior rendimento industrial na produção de lácteos é determinado pelo teor de sólidos presentes no leite<sup>50</sup>. A média e variação dos componentes do leite bovino estão descritos no Quadro 3:

**Quadro 3:** Média e variação dos componentes do leite de bovinos.

Constituinte	Teor médio (%) <sup>a</sup>	Teor mínimo (%) <sup>b</sup>	Valores médios (%) Cent Oeste 2018 <sup>c</sup>
Água	87,1	-	-
Lactose	4,6	4,3	4,53
Gordura	4,0	3,0	3,55
Proteínas	3,3	2,9	3,27
Minerais	0,7	-	-
Outros	0,15	-	-

Fonte: <sup>a</sup>Adaptado de Walstra<sup>40</sup>; <sup>b</sup>IN 76/2018<sup>04</sup>; <sup>c</sup>MAPA, 2019<sup>51</sup>

Todos os componentes do leite, exceto a água, determinam os sólidos totais (ST). O teor de sólidos desengordurados (SD) é a diferença entre o ST e o teor de gordura. Estes parâmetros são muito importantes para a indústria, pois a partir deles é possível prever o rendimento na fabricação de derivados lácteos como queijos e outros<sup>52</sup>. A IN 76 estabelece teores mínimos para ST e SD no leite cru refrigerado de 11,4g/100g e 8,4g /100g, respectivamente<sup>04</sup>.

Na indústria, o teste mais utilizado para avaliação, é o cálculo que leva em consideração os resultados de densidade (D) e de teor de gordura (G), determinados previamente. Para isso, o ST é calculado pela fórmula de Fleishmann<sup>53</sup>:

$$\% \text{ Sólidos Totais} = 1,2 G + 2,665 [(100 D - 100)/D]$$

Onde: D = densidade; G = % gordura.

A gordura é um dos componentes majoritários do leite e o teor médio no leite cru é em torno de 3,9g/100g, enquanto que a IN 76 estabelece teor mínimo de 3%. Fatores como raça do animal, período de lactação, alimentação, entre outros, influenciam no teor de gordura do leite bem como na variação dos demais componentes expostos no Quadro 2 <sup>43</sup>. Diversos produtos lácteos requerem que o leite usado como matéria-prima tenha teor de gordura específico para a padronização das características sensoriais<sup>54</sup>.

Segundo a IN 76/2018, o leite cru deve obedecer aos seguintes teores mínimos de qualidade composicional:

**Quadro 4** - Teores mínimos a serem cumpridos no controle de qualidade composicional do leite cru

<b>Requisitos</b>	<b>Limites</b>
Gordura, g/100g	Mínimo de 3,0
Proteína total, g/100g	Mínimo de 2,9
Lactose anidra, g/100g	Mínimo de 4,3
Sólidos não gordurosos, g/100g	Mínimo de 8,4
Sólidos Totais, g/100g	Mínimo de 11,4
Acidez titulável, g/ ácido láctico/ 100ml	0,14 a 0,18
Estabilidade ao alizarol	Concentração mínima de 72%
Densidade relativa a 15°C/15°C, g/mL	1,028 a 1,034
Índice Crioscópico	-0,530°H a -0,555°H (equivalente a -0,512°C a -0,536°C)

Fonte: Adaptado de Instrução Normativa 76/2018<sup>04</sup>

A gordura pode ser aferida por diferentes métodos, através de métodos eletrônicos ou metodologias clássicas (Gerber e Rose-Gottlieb). Os métodos clássicos, por apresentarem custo relativamente baixo ainda são amplamente usados na indústria e recomendados entre os métodos oficiais para análise de leite. A metodologia tradicional para mensuração da concentração de gordura do leite é a do butirômetro ou de Gerber. Baseia-se no tratamento de um determinado volume de leite com ácido sulfúrico e álcool isoamílico, no butirômetro de Gerber. O princípio do método é a destruição da membrana dos glóbulos de gordura e a dissolução da caseína, facilitando a separação da gordura, seguido de centrifugação e leitura direta na escala do butirômetro<sup>55</sup>.

Nos laboratórios pertencentes à Rede Brasileira de Qualidade de Leite (RBQL), a determinação do teor de gordura é feita por meio de método eletrônico, utilizando um espectrômetro de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR). O software do equipamento utiliza um modelo matemático para calcular o teor de gordura a partir do espectro

de absorvância no infravermelho próximo produzido pela amostra de leite analisada. O método instrumental apresenta boa exatidão e precisão, além de ser bastante rápido<sup>43, 56</sup>, entretanto o custo do equipamento e de sua manutenção é elevado.

A qualidade nutricional do leite está estreitamente relacionada com as características físico-químicas e sensoriais. As análises físico-químicas visam avaliar o valor alimentar ou rendimento industrial e ainda detectar possíveis fraudes, o que ressalta a importância da avaliação composicional deste produto<sup>20, 57</sup>.

### 2.2.2 Avaliação microbiológica

Para que o leite seja considerado de boa qualidade, deve apresentar baixa carga bacteriana, baixa contagem de micro-organismos patogênicos, reduzida contagem de células somáticas e ausência de resíduos de substâncias químicas<sup>18</sup>. A concentração inicial de micro-organismos no leite é determinada logo após a ordenha, quando o leite já está acondicionado nos tanques de refrigeração<sup>58</sup>.

O estado sanitário do rebanho, bem como de higiene de obtenção, armazenagem e transporte estão diretamente relacionadas à carga microbiana do leite. Essa carga microbiana está ligada diretamente à contagem inicial de micro-organismos, ao tempo e à temperatura de resfriamento e ao período em que o leite permanece desde a ordenha até o seu processamento. O processo de higienização das ordenhadeiras e instalações e a qualidade da água utilizada são elementos que estão ligados à contaminação e difusão dos micro-organismos no leite cru<sup>59</sup>.

#### a) Micro-organismos indicadores da qualidade

São considerados como micro-organismos indicadores de condições higiênico-sanitárias os coliformes a 35°C, coliformes termotolerantes, enterococos e enterobactérias, sendo utilizada como indicador de contaminação de origem fecal (humanos e animais de sangue quente) a presença de *Escherichia coli*. Como indicadores da condição de deterioração do alimento e das condições ambientais são utilizados os micro-organismos aeróbios mesófilos, psicrotróficos, termófilos e bolores e leveduras<sup>60</sup>.

No leite, os micro-organismos psicrotróficos e termodúricos têm sido alvo de pesquisa durante vários anos, sendo o motivo de divulgação científicas sobre métodos de identificação microbiológicas, relacionadas com a efetividade de tratamentos térmicos,

condições higiênicas de processos e prováveis efeitos sobre a vida de prateleira de leite e derivados<sup>61</sup>.

Os mesófilos aeróbios são um dos grupos de micro-organismos pesquisados quando se avalia a qualidade do leite. O leite cru com a contagem elevada de mesófilos sugere a presença de bactérias patogênicas tais como *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* spp., *Escherichia coli*, *Streptococcus* sp., *S. agalactiae*; *Staphylococcus* sp. coagulase negativo; *Corynebacterium* sp. presentes no leite devido às condições higiênicas inadequadas<sup>62</sup>. O grupo dos micro-organismos aeróbios mesófilos inclui a maioria das bactérias acidificantes e/ou patogênicas do leite. O resfriamento do leite após a ordenha reduz significativamente a multiplicação dos aeróbios mesófilos, porém, favorece a multiplicação da microbiota psicrotrofica<sup>60, 63</sup>. Micro-organismos mesófilos crescem a temperaturas moderadas, isto é, entre 20 e 40 °C. No leite, os micro-organismos mesófilos são responsáveis pela sua fermentação e, conseqüentemente, afetam a qualidade de seus derivados<sup>63,70</sup>.

Com relação aos micro-organismos mesófilos, dependendo de onde se origine a amostra, seu aparecimento em elevado número, indica falhas nos mecanismos de higiene na sua produção, beneficiamento ou conservação. Estes micro-organismos, juntamente com os coliformes, são considerados os principais grupos de bactérias indicadoras da qualidade do leite, indicando qualitativamente, como este produto foi obtido<sup>66</sup>.

A IN 51/2002 provocou um grande avanço com a refrigeração do leite em toda a cadeia produtiva. O método de conservação através do frio nas propriedades rurais, trouxe a oportunidade da estocagem do leite nas fazendas, descentralizando as recepções de leite nos entrepostos, captando a granel nas mais diferentes distâncias, reduzindo o valor do transporte via coleta da matéria prima em dias alternados. Tal procedimento reduziu a perda do leite por acidificação, mas acarretou o problema da seleção térmica, como o favorecimento da multiplicação de bactérias psicrotóxicas e produção de enzimas termoestáveis (proteolíticas e lipolíticas), resultantes de sua atividade metabólica<sup>65</sup>.

A temperatura inferior a 7°C permite o desenvolvimento de bactérias psicrotóxicas, apesar desse grupo de micro-organismos apresentar temperatura ótima de crescimento de 20 a 30 °C, tendo se tornado o grupo predominantemente responsável pela degradação da qualidade do leite cru refrigerado e de produtos lácteos<sup>63</sup>. O termo micro-organismos psicrotóxicos foi utilizado em 1960, porém em 1976 a Federação Internacional de Laticínios (FIL/IDF) melhor designou como aqueles micro-organismos que são capazes de se multiplicar a 7 °C ou temperaturas mais baixas, mesmo não sendo temperaturas ideais para sua multiplicação<sup>60</sup>.

A microbiota predominante do leite cru é a mesma presente no úbere e pele dos animais e também nos objetos e equipamentos usados quando se procede a ordenha, com predominância, em circunstâncias habituais, dos micro-organismos Gram-positivos. No leite, os principais gêneros de bactérias psicrotólicas são: *Achromobacter*, *Acinetobacter*, *Alcaligenes*, *Flavobacterium*, *Pseudomonas*, *Bacillus* e *Clostridium*. Destes, *Pseudomonas* sp. é o mais frequente<sup>65, 66</sup>.

#### b) Contagem Padrão em Placas

A caseína pode ser instabilizada pela elevada concentração de ácido láctico oriundo do metabolismo da lactose utilizada por vários gêneros de bactérias. Diversas bactérias, sobretudo psicrotólicas, podem também degradar lipídeos e proteínas. As alterações causadas por estas enzimas são responsáveis por limitações na utilização da matéria-prima e comprometem as propriedades sensoriais e a vida de prateleira dos produtos lácteos. O número de bactérias no leite cru é um parâmetro de inferência da qualidade dos procedimentos de ordenha e acondicionamento do leite nas fazendas e que influencia o rendimento na indústria e a segurança do leite<sup>18, 67</sup>.

O processamento do leite pode ficar comprometido em função de alta concentração de bactérias, que pode causar alteração de pH, coagulação, presença de gás, surgimento de sabor amargo, precipitados sem acidificação, aumento de viscosidade, alteração de cor e também produção de sabores e odores indesejáveis<sup>18, 64, 69</sup>.

A Contagem Padrão em Placas (CPP) reflete a contaminação microbiana do leite, oriunda das condições de higiene na obtenção e das condições de estocagem e armazenamento do mesmo. A carga microbiana é expressa em Unidades Formadoras de Colônia (UFC). Secretado de glândula mamária sadia, o leite possui número de bactérias variando de 100 UFC/ml a 43.000 UFC/ml<sup>68</sup>.

A IN 76/2018 e suas atualizações determina que nos tanques de armazenamento de leite, sendo este individual ou comunitário, o resultado de médias geométricas trimestrais de Contagem Padrão em Placas não ultrapasse 300.000 UFC/mL. Já o destinado à fabricação de leite tipo A e seus derivados deve apresentar médias geométricas trimestrais de Contagem Padrão em Placas de no máximo 10.000 UFC/mL. Antes do seu processamento no estabelecimento beneficiador, a IN 76 preconiza que o leite cru refrigerado deve apresentar limite máximo para Contagem Padrão em Placas de até 900.000 UFC/mL<sup>04</sup>.

Com relação à avaliação das médias geométricas trimestrais do leite abordada acima, a IN 76 infere que a determinação da CPP, da Contagem de Células Somáticas (CCS), dos componentes do leite cru e pesquisa de resíduos de antibióticos, devem ser realizadas mensalmente em Laboratórios credenciados pelo MAPA e pertencentes à RBQL. Os resultados da CPP e CCS são avaliados considerando a média geométrica sobre um período de três meses consecutivos. Para este processo, são utilizados métodos analíticos internacionais da Federação Internacional de Laticínios<sup>43</sup>.

A contaminação inicial do leite pode estar ligada aos micro-organismos presentes nas estruturas do equipamento de ordenha e do tanque, bem como por materiais utilizados na ordenha (baldes, latões), pelas mãos do operador de ordenha, e também pode estar relacionada aos micro-organismos presentes no interior da glândula mamária e na parede externa do úbere e tetos. Na ausência de boas práticas de higiene e manutenção adequada dos equipamentos, a inclusão de contaminantes pode ocorrer em todas as etapas do processo<sup>43</sup>. Fatores como a temperatura e tempo de armazenamento do leite são importantes, pois estão diretamente ligados à multiplicação dos micro-organismos, afetando a CPP<sup>69</sup>. A determinação de CPP é feita por citometria de fluxo, que é o método preconizado pela ISO 9622<sup>56</sup>.

### c) Contagem de Células Somáticas

As células de defesa (leucócitos) que passam do sangue para o interior da glândula mamária somada às células de descamação do epitélio do úbere compõem as células somáticas. A contagem de células somáticas (CCS) é utilizada para avaliação de saúde da glândula mamária de vacas. Em animais saudáveis, as células predominantes no leite são macrófagos (35-79%), linfócitos (16-28%), neutrófilos (3-26%) e células epiteliais (2-15%). A CCS na glândula mamária sadia varia de 20.000 a 50.000 células/mL, entretanto considera-se o valor limite de até 200.000 células/mL para ausência de infecção intramamária<sup>18,36</sup>.

As infecções intramamárias são consideradas como o principal fator de aumento de CCS, porém outros fatores podem influenciar na variação deste indicador, como a suscetibilidade individual do animal, a ordem do parto, período de lactação e estação do ano. Para acompanhar os níveis de enfermidades da glândula mamária em rebanhos produtores de leite a CCS é uma ferramenta muito importante<sup>58, 70</sup>.

Avaliações realizadas por Dohoo e Leslie demonstraram que o limite de 200.000 células/mL foi o mais indicado para estimar nova infecção intramamária<sup>71</sup>. Para a confirmação da doença, em amostras compostas de leite, geralmente é utilizado o limiar de 200.000 CS/mL,

portanto um animal com CCS acima deste valor é considerado com mastite subclínica. A CCS do leite é uma ferramenta importante para o diagnóstico da doença e é internacionalmente aceita como um critério para avaliar a saúde da glândula mamária de uma vaca<sup>72</sup>.

Entretanto, a IN 76 estabelece que o leite cru refrigerado deve apresentar médias geométricas trimestrais inferiores a 500.000 CS/mL. Ainda, a norma preconiza que deve-se ter o mínimo de uma amostra mensal, de três meses consecutivos, de cada tanque para compor as médias geométricas<sup>04</sup>.

Diversos fatores podem influenciar na CCS. Vacas produtoras de leite estão sob estresse da produção de leite e sua imunidade pode abaixar, o que contribui para o aumento da CCS. A alta CCS do leite afeta não apenas negativamente a produção, mas também a composição e a qualidade do leite, e as vacas mais jovens devido à sua baixa capacidade de produção de leite, tendem a ter uma CCS mais baixa<sup>58, 73</sup>.

Na IN 77/2018 é prevista a determinação de CCS no leite pelo método instrumental baseado na citometria de fluxo, em que se utiliza um reagente com a capacidade de se ligar ao DNA das células somáticas, sendo possível quantificá-las por meio de fluorescência molecular. O equipamento utilizando um software próprio, mensura a concentração de células somáticas por mL através da análise um determinado volume de leite<sup>55</sup>.

A avaliação da CCS tem o objetivo de orientar o gerenciamento da saúde dos rebanhos. Além disso, através da CCS é possível monitorar a saúde da glândula mamária dos animais quanto à efetividade das medidas de prevenção e tratamento das infecções<sup>71</sup>; conhecer a epidemiologia da doença no rebanho (prevalência, incidência), orientar a definição de estratégias para implementação e acompanhamento de programas de controle de mastite subclínica; monitorar a eficácia dos esquemas de tratamento da mastite, principalmente a terapia de secagem; identificar deficiências de manejo e possibilitar a recomendação de procedimentos específicos e efetivos<sup>58, 74</sup>.

### 2.3 Fatores que influenciam os parâmetros da qualidade do leite cru

Os principais fatores que influenciam os resultados de avaliação da qualidade do leite cru são: o manejo, a saúde da glândula mamária, o tempo, a temperatura de armazenamento e as condições de transporte<sup>75</sup>. Além disso, os micro-organismos presentes no leite cru são influenciados pelas diferentes estações do ano, pelas práticas de produção e manuseio na

propriedade rural, localizações geográficas, temperaturas de armazenamento do leite e distâncias entre a propriedade rural e os locais de beneficiamento<sup>76</sup>.

Diferentes alterações nos produtos lácteos, como leite pasteurizado, leite UAT e queijos podem ocorrer dependendo do tempo de armazenamento do leite cru utilizado para sua fabricação e serão maiores quanto maior for esse tempo de armazenamento, mesmo sob 7°C, quando a contagem inicial de micro-organismos no leite cru for alta. Estas alterações são decorrentes da ação das enzimas extracelulares de micro-organismos psicotróficos, como os do gênero *Pseudomonas* spp. Os derivados podem ficar contaminados com patógenos ou suas toxinas como resultado de sua presença no leite cru utilizado em sua fabricação e subsequente sobrevivência durante o processo de fabricação<sup>78</sup>.

No intuito de otimizar a logística e melhorar a qualidade do leite, durante a década de 90 no Brasil, foi iniciada uma mudança no sistema transporte de leite. Houve a substituição gradativa dos latões por tanques de coleta de leite, em um sistema conhecido como granelização. Além disso, houve também a implantação de tanques de expansão nas fazendas, o que permitiu uma melhora na conservação do produto<sup>26</sup>.

O transporte de leite cru refrigerado ocorre em caminhões com tanques de aço inoxidável isotérmicos, utilizando mangote flexível e bomba sanitária, acionada pela energia elétrica da propriedade rural, pelo sistema de transmissão do próprio caminhão ou diretamente do tanque de refrigeração por expansão direta<sup>36</sup>.

Entretanto, diversas são os problemas que envolvem o transporte a granel, e acontecem em parte das propriedades leiteiras do Brasil. As principais podem ser consequência das más condições das estradas, tempo de transporte da propriedade até a indústria, na mistura do leite de diversas ordenhas no tanque de expansão comunitário, o que dá origem heterogênea na qualidade do leite transportado, na ausência de água clorada nas fazendas e em dificuldades da limpeza dos caminhões e dos mangotes. Outro fator que interfere na efetividade do transporte de leite de qualidade é a conscientização dos produtores, havendo a necessidade de maior atuação no treinamento dos motoristas, uma vez que a produção de alimentos de qualidade, seguros e competitivos no mercado, depende da participação do produtor de leite e do motorista dos caminhões<sup>79</sup>.

O controle da temperatura de armazenamento do leite também é um fator muito importante para garantir a sua conservação. Desde a sua implantação, tanto a IN 51 quanto a IN 62, determinavam a obrigatoriedade do resfriamento do leite na unidade de produção e seu transporte a granel, a fim de conservar sua qualidade até a sua recepção em estabelecimentos com inspeção sanitária oficial<sup>43</sup>.

Segundo a legislação vigente admite-se que o leite esteja armazenado a temperatura de, no máximo, 4 °C duas horas após a ordenha, e deve chegar à indústria ou no posto de recebimento sem ultrapassar a temperatura máxima de 7°C<sup>04</sup>. Estes cuidados são essenciais para evitar a proliferação de micro-organismos e, conseqüentemente, a degradação do produto, o que causará, num primeiro momento, o aumento da acidez do leite<sup>69</sup>.

Mesmo após o tratamento de pasteurização ou UAT, as lipases e proteases termo resistentes, produzidas por psicrotróficos, podem manter atividade, sendo um fator determinante do tempo de estocagem<sup>18,80</sup>. Em um estudo realizado por Santos e colaboradores<sup>76</sup> na região do sudoeste do estado de Goiás, sobre o efeito do tempo e da temperatura de refrigeração no desenvolvimento de micro-organismos psicrotróficos no leite cru refrigerado, descobriu-se que a contagem desses micro-organismos, incluindo os proteolíticos, aumentou com o tempo de estocagem do leite cru refrigerado. Constatou-se que o inapropriado desempenho do controlador de temperatura dos tanques de expansão, ocasiona risco de perdas econômicas sobretudo ao produtor de leite.

A contaminação e proliferação de micro-organismos psicrotróficos no leite, entre as etapas de produção e armazenamento até o seu beneficiamento, pode-se originar de falhas do manejo sanitário dos animais, condições higiênico-sanitárias de produção insatisfatórias, sistema de resfriamento deficiente e suprimento de água inadequado<sup>58, 59</sup>. Além disso, essa contaminação pode ser originária do acúmulo de água residual nos equipamentos utilizados para ordenha e refrigeração do leite<sup>83</sup>. Embora os psicrotróficos apresentem um tempo de geração relativamente lento sob refrigeração, o metabolismo é bastante ativo: uma concentração inicial de 10<sup>4</sup> UFC/mL em leite refrigerado a 4 °C no período de 3 a 4 dias aumenta, podendo atingir populações de 10<sup>7</sup> a 10<sup>8</sup> UFC/mL<sup>58</sup>.

Para manter a qualidade do leite cru é importante o resfriamento a temperatura inferior a 4°C, em até duas horas após o término da ordenha, pois a taxa de multiplicação dos micro-organismos está diretamente relacionada com a temperatura e o tempo de armazenamento<sup>82</sup>. A entrega do leite na indústria não pode ultrapassar 48 horas após a ordenha segundo as normas nacionais, entretanto recomenda-se como ideal um período não superior a 24 horas. Posteriormente, o leite refrigerado é coletado e transportado em caminhões providos de tanques isotérmicos<sup>76</sup>.

Para assegurar a manutenção da qualidade das amostras de leite até o momento das análises eletrônicas utiliza-se conservante específico para tal fim, além da refrigeração. A confiabilidade dos resultados de todas as análises do leite depende, em grande parte, das condições que antecedem a chegada das amostras ao laboratório<sup>75</sup>.

Sabe-se que o bronopol, conservante utilizado nos frascos destinados à análise de CCS e composição, possui ação bactericida, o que resulta em danos às células bacterianas e acaba por dificultar sua identificação pelos equipamentos. Consequentemente, é desaconselhável o uso em amostras direcionadas à CPP, podendo resultar em números subestimados. O congelamento das amostras pode provocar injúrias celulares ocasionando resultados irreais. Já o azidiol, conservante utilizado nos frascos destinados à análise de CPP, não é recomendado para análises de composição e CCS, pois possui ação bacteriostática<sup>75</sup>.

#### 2.4 Qualidade do leite cru produzido no Brasil

Resultados apresentados em diferentes trabalhos científicos indicaram predominância de altas populações de micro-organismos aeróbios mesófilos no leite cru refrigerado produzido no Brasil, com porcentagem significativa de psicrotróficos e de psicrotróficos proteolíticos<sup>81, 83, 84</sup>. Santana<sup>81</sup> estudou a contaminação do leite cru por psicrotróficos proteolíticos em cinco propriedades leiteiras da região de Londrina em 2001 e os principais pontos envolvidos. Identificou-se que a quantidade de micro-organismos psicrotróficos foi superior à de mesófilos aeróbios. Observando a predominância de bacilos Gram-positivos Nornberg e colaboradores<sup>65</sup> relataram em leite cru resfriado produzido no Rio Grande do Sul maior incidência de psicrotróficos Gram-negativos (82%), com predominância de *Enterobacter* spp. (30%).

Uma revisão de alguns estudos realizados no Brasil, sobre a incidência de micro-organismos aeróbios mesófilos no leite cru, entre os anos de 1997 a 2009, em diversas regiões permitiu a visualização de sua qualidade quanto à concentração desses micro-organismos no leite. Os estudos sobre as contagens de micro-organismos aeróbios mesófilos em leite cru refrigerado mostram que 53% dos estudos (17/32 estudos) apresentaram presença de micro-organismos aeróbios mesófilos de até 50% acima do limite determinado pela legislação que estava em vigor de  $6 \times 10^5$  UFC/mL. Os estados de Minas Gerais e Paraná apresentaram pelo menos 50% das amostras analisadas em conformidade com a legislação vigente à época (IN 51/2002)<sup>85</sup>.

Em 2005, Nero e colaboradores<sup>88</sup>, avaliaram o atendimento da IN 51/2002 por produtores de leite cru de quatro estados brasileiros (PR, RS, MG e SP) e levantaram que algumas regiões do país poderiam enfrentar dificuldades para adequação à IN 51/2002, como Londrina, pois ainda que a produção leiteira destinada aos laticínios-base de cada uma das regiões brasileiras avaliadas era totalmente refrigerada, na região de Londrina a amostragem

abrangeu propriedades leiteiras com produção destinada ao comércio informal e a outros laticínios. Em relação às amostras não refrigeradas desta região, 26 de 46 (56,5%) apresentaram contagens acima de  $10^6$  UFC/mL, em desacordo, portanto, à IN51/2002<sup>88</sup>.

A não refrigeração do leite obtido por pequenos produtores ainda é uma realidade no Brasil. Parte do leite produzido no país ainda é entregue aos laticínios em latões, o que pode resultar em alteração da qualidade desse leite, se o tempo máximo para entrega nas indústrias (2h)<sup>36</sup> não for respeitado.

Estudos parecidos em diversas localidades do Brasil apresentam conclusões semelhantes. Bueno e colaboradores<sup>89</sup> analisaram 20 amostras de leite cru refrigerado e em armazenamento no estado de Goiás, e encontraram 15 em 20 (75%) com contagens acima de  $10^6$  UFC/mL. Em outro estudo realizado em Santa Maria, RS em 2013<sup>90</sup>, observou-se que apenas 17,8% de 28 amostras de leite cru coletadas na recepção de um laticínio apresentaram contagens abaixo do limite estabelecido pela IN51, vigente no período do estudo.

No estudo de O'Connel<sup>69</sup>, que ocorreu na Irlanda em 2016, objetivou-se investigar os efeitos da temperatura na duração da qualidade microbiana do leite cru em silos de armazenamento a granel. Descobriu-se que o número de bactérias lipolíticas e proteolíticas não foram afetados pela temperatura ou duração de armazenamento, que chegaram aos máximos de 96h e 6°C, respectivamente. A CPP não aumentou durante o tempo de armazenamento quando o leite permaneceu nas temperaturas de 2°C e 4°C, mas a contagem de bactérias psicrotróficas aumentou significativamente a partir da temperatura de 4°C, entre os tempos de 0h a 96h.

Além disso, a variação da quilometragem percorrida por dia pelos caminhões que transportam o leite a granel, as condições inadequadas de tráfego das estradas, as temperaturas de coleta, a ausência de água clorada nas fazendas, o envio de leite de duas ordenhas para o tanque de expansão comunitário, a falta de verificação da eficiência da limpeza dos caminhões, a falta de conscientização dos produtores e motoristas influenciam a produção de enzimas pelos micro-organismos psicrotróficos comprometendo a qualidade do leite<sup>96</sup>

Os estudos mostram que a carga microbiana inicial presente no leite, bem como a presença de determinados micro-organismos e/ou suas toxinas definem a qualidade do leite do produto final, além da temperatura e do tempo de armazenamento do leite<sup>91</sup>. Tais fatores constituem as causas mais frequentes de problemas sanitários e perdas econômicas. Considerando a escassez de informações e publicações científicas sobre essa temática, observa-se a importância da avaliação dos aspectos relacionados à qualidade microbiológica e físico-química do leite em seus momentos iniciais e finais de armazenamento em silos de estocagem

### **3. OBJETIVO**

Objetivou-se avaliar a qualidade do leite cru refrigerado em silos de estocagem em indústrias de laticínios do estado de Goiás e estudar a influência do tempo e temperatura de estocagem sobre o crescimento de micro-organismos durante o processo de esvaziamento do silo para o beneficiamento do leite.

### **4. METODOLOGIA**

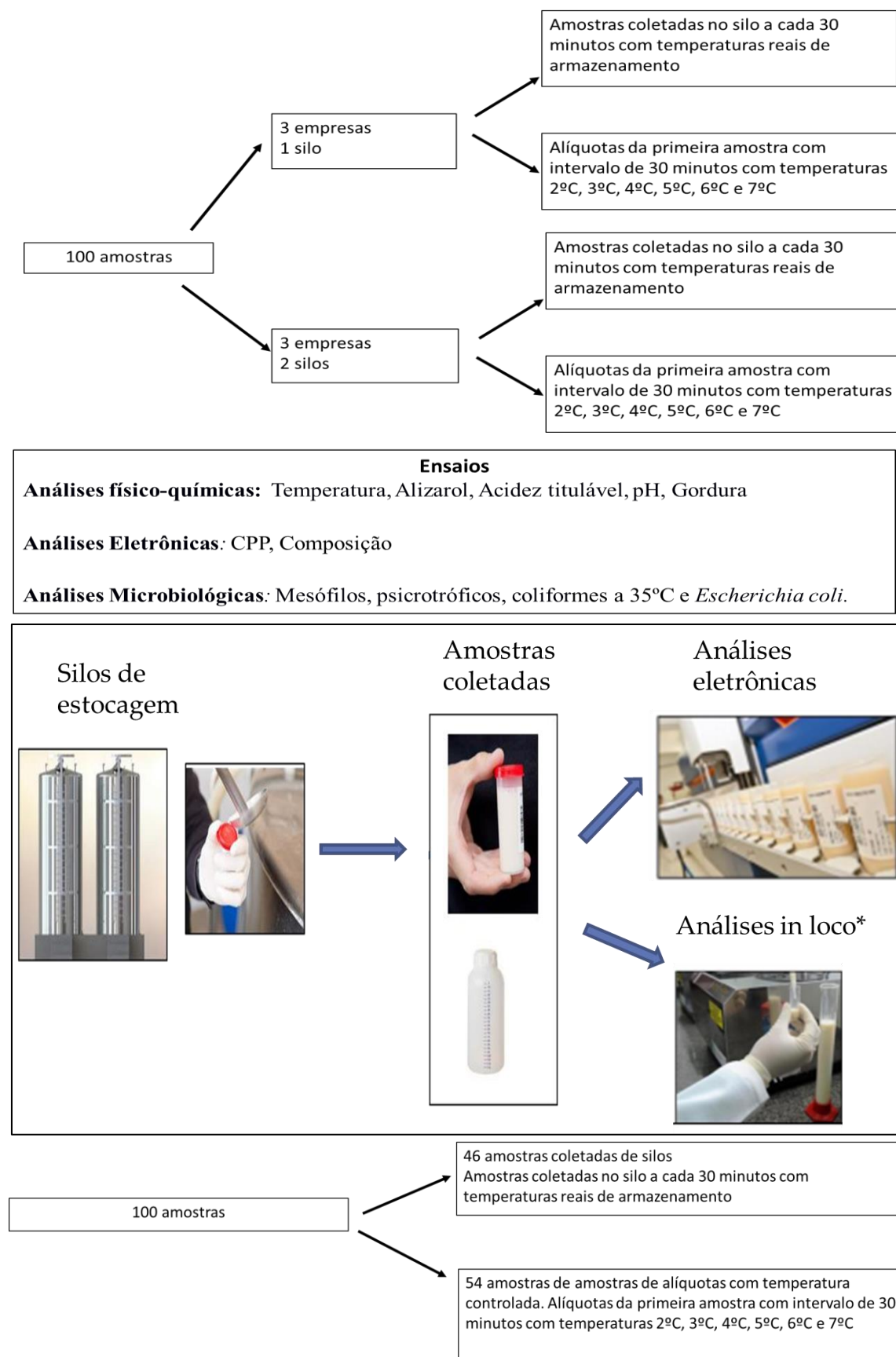
#### **4.1. Coleta de amostras**

Foram coletadas 100 amostras de leite cru refrigerado durante o processo de esvaziamento do silo ou balão de estocagem de seis indústrias de laticínios do estado de Goiás, conforme Figura 1.

As indústrias de laticínios do estado de Goiás foram selecionadas ao acaso em diferentes localidades para a participação no projeto. Dessas indústrias, foram escolhidas aleatoriamente um ou dois silos de estocagem em que foi realizado o monitoramento da qualidade do leite durante o processo de esvaziamento do silo para beneficiamento do leite. Cada indústria foi visitada uma ou duas vezes para a coleta de amostras e execução do experimento.

Através de um levantamento prévio constatou-se que a média de tempo gasto para esvaziar o silo ou balão de estocagem varia de 2 a 5 horas. Diante disto foram realizadas em média 6 coletas de amostras (6 tempos de amostragem) durante o período de esvaziamento do silo para beneficiamento do leite.

As amostras foram coletadas diretamente do silo imediatamente antes de iniciar o processo tecnológico, após homogeneização do leite por no mínimo 15 minutos, uma amostra foi transferida de forma asséptica, para um frasco estéril para as análises microbiológicas e físico-químicas e nos frascos apropriados para análise eletrônica. Em seguida coletou-se amostras a cada 30 minutos durante o esvaziamento do silo até findar o estoque de leite do lote analisado.



**Figura 1:** Esquema de coleta de leite cru refrigerado dos silos de estocagem realizado nas indústrias de laticínios.

\*Análises realizadas no laboratório das Indústrias participantes do projeto.

Concomitantemente às coletas realizadas no silo, foi realizada uma simulação do aquecimento do leite durante o esvaziamento do silo, onde uma amostra de leite (1ª coleta) foi deixada em temperatura controlada e teve uma alíquota retirada assepticamente, a cada trinta minutos, quando atingiu-se as temperaturas desejadas sempre padronizado a 2°C, 3°C, 4°C, 5°C, 6°C e 7°C.

Foram avaliadas no total 46 amostras de silo das indústrias, uma vez que foram coletadas amostras durante o esvaziamento do silo, de seis indústrias visitadas. Também foram avaliadas 54 amostras de leite durante simulação de aumento de temperatura (Quadro 5), sendo seis análises em cada silo. As amostras foram coletadas diretamente do silo, de forma asséptica, em um frasco estéril para as análises microbiológicas e físico-químicas e em frascos plásticos contendo um comprimido de conservante fornecidos pelo Laboratório da RBQL para as análises eletrônicas.

Foram monitorados o horário de início do esvaziamento do silo bem como sua duração; a temperatura de início do processo e a cada 30 minutos até o final do processo, com termômetro digital, além do volume de leite estocado no silo ou balão de estocagem.

**Quadro 5:** Descrição das coletas e tempos para avaliação do leite cru refrigerado dos silos de estocagem (n=2)

Coletas	Tratamento	Avaliação
1ª Coleta	Tempo 0	<b>Análises físico-químicas:</b> Temperatura, Alizarol a 72%, Acidez titulável, pH, Gordura. <b>Análises Eletrônicas:</b> Contagem Padrão em Placas (CPP), Composição <b>Análises Microbiológicas:</b> Mesófilos, psicrotróficos, coliformes a 35°C e <i>Escherichia coli</i> .
	Simulação do aumento de temperatura: <ul style="list-style-type: none"> <li>• 2°C</li> <li>• 3°C</li> <li>• 4°C</li> <li>• 5°C</li> <li>• 6°C</li> <li>• 7°C</li> </ul>	<b>Análises físico-químicas:</b> Temperatura, Alizarol a 72%, Acidez titulável, pH, Gordura <b>Análises Eletrônicas:</b> CPP, Composição <b>Análises Microbiológicas:</b> Mesófilos, psicrotróficos, coliformes a 35°C e <i>Escherichia coli</i> .
2ª Coleta	Tempo 1	<b>Análises físico-químicas:</b> Temperatura, Alizarol a 72% Ac titulável, pH, Gordura <b>Análises Eletrônicas:</b> CPP, Composição <b>Análises Microbiológicas:</b> Mesófilos, psicrotróficos, coliformes a 35°C e <i>Escherichia coli</i> .
3ª Coleta	Tempo 2	
4ª Coleta	Tempo 3	
5ª Coleta	Tempo 4	
6ª Coleta	Tempo 5	

As amostras foram coletadas em frascos estéreis sem conservantes, denominadas amostras brancas, para realizar análises *in loco* nos laboratórios dos laticínios, imediatamente após cada coleta. Foram avaliadas a temperatura; a estabilidade ao alizarol a 72%, acidez titulável; pH; teor de gordura, contagem de micro-organismos mesófilos aeróbios, de micro-organismos psicotróficos, de coliformes a 35°C e de *Escherichia coli*.

Para as análises eletrônicas as amostras foram acondicionadas em frascos contendo um comprimido de conservante azidiol (Comprimido Azidiol, Embalfarma, Tubarão, Santa Catarina, Brasil), destinados à análise eletrônica de CPP. O segundo frasco com o conservante bronopol (Comprimido Brononopol, Embalfarma, Tubarão, Santa Catarina, Brasil), foi destinado à análise eletrônica de composição.

Depois de coletadas, as amostras foram identificadas, e para as amostras destinadas às análises eletrônicas, as mesmas tiveram seus frascos invertidos até a completa dissolução dos comprimidos e foram acondicionadas adequadamente em caixas térmicas com gelo reciclável mantendo uma temperatura inferior a 10°C até sua chegada ao laboratório. O tempo decorrido entre a coleta da amostra e sua chegada ao laboratório, independente da distância da indústria de laticínios até ao laboratório, foi o mais breve possível, variando entre duas horas a 48 horas, não excedendo o tempo recomendado pela RBQL<sup>3</sup>.

A realização das análises pelo método eletrônico ocorreu no Centro de Pesquisa em Alimentos da Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás no Laboratório de Qualidade do Leite – LQL/CPA/EVZ/UFG.

#### 4.2. Análises eletrônicas

A Contagem Padrão em Placas (CPP) foi realizada através de citometria de fluxo, conforme descrito em ISO/IDF<sup>15</sup>, em equipamento eletrônico BactoScan FC® (Foss Electric, Hillerod, Dinamarca). A análise da composição do leite foi feita por espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) de acordo com ISO/IDF<sup>16</sup> em equipamento eletrônico CombiFoss 5000® (Foss Electric, Hillerod, Dinamarca).

#### 4.3. Análises físico-químicas e microbiológicas por teste rápido

A temperatura foi aferida utilizando termômetro de 0°C a 100°C aferido. Em seguida, foi avaliada a estabilidade ao alizarol utilizando solução de álcool alizarina a 72%. A avaliação da acidez titulável foi executada empregando o princípio da titulação com NaOH a 0,1N

utilizando como indicador a fenolftaleína<sup>18</sup>. A determinação do pH foi realizada através de potenciômetro aferido e a análise de gordura em equipamento eletrônico aferido.

Para a avaliação microbiológica das amostras de leite foram utilizados testes rápidos Compact Dry® TC (Nissui Pharmaceutical Co., Ltda., Tokyo, Japan) para análise de micro-organismos mesófilos aeróbios, micro-organismos psicrótróficos, coliformes a 35°C e *Escherichia coli*, com incubação em temperatura e tempo de 35°C a 37°C por 48 horas para mesófilos aeróbios, 7°C a 9°C durante 10 dias para psicrótróficos e 35°C a 37°C por 24 horas para coliformes a 35°C e *Escherichia coli*, conforme recomendação do fabricante<sup>19</sup>.

#### 4.4. Análise estatística

Os resultados obtidos das análises físico-químicas e microbiológicas foram avaliados pela correlação de Pearson, utilizando o Software livre R versão 4.0.2 e descritivamente observando a interferência da temperatura e do tempo de estocagem sobre a qualidade do leite cru refrigerado estocado nos silos.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Características físico-químicas do leite cru

Foram realizadas no total 1500 análises em 100 amostras de leite armazenado em silos de estocagem. Seis empresas participaram do estudo, e seis municípios do estado de Goiás, totalizando uma distância percorrida de aproximadamente 3500 quilômetros. Destas empresas, três tiveram um silo participante no estudo e três tiveram dois silos, totalizando nove analisados. O tempo de esvaziamento dos silos analisados variou entre 30 e 150 minutos.

O volume de armazenamento dos silos variou entre 4000 e 68000 litros de leite. No total, foram analisadas as amostras correspondentes a 266.808 litros de leite cru refrigerado. As amostras foram coletadas no período de novembro de 2019 a janeiro de 2020

Os resultados das análises físico-químicas e microbiológicas das amostras de leite de silos estão apresentados nas Tabelas de 1 a 12.

Com relação à avaliação físico-química, a Tabela 1 mostra a média dos resultados encontrados de todas as 100 amostras analisadas. Pode-se observar que a média de pH das amostras está dentro dos padrões de normalidade, entre 6,6 e 6,8<sup>40, 92</sup>. Observa-se também que

a análise de gordura aponta valores dentro dos padrões, sabendo-se que os valores de gordura devem ser superiores a 3g/100g.

**Tabela 1:** Média correspondente aos valores encontrados nas análises físico-químicas de todas as amostras analisadas durante o estudo (n = 100, média  $\pm$  desvio padrão).

<b>Parâmetro</b>	<b>Resultado</b>
<b>Temperatura °C</b>	4,64 $\pm$ 1,72
<b>Gordura g/100g</b>	3,58 $\pm$ 0,24
<b>Proteína g/100g</b>	3,31 $\pm$ 0,10
<b>Lactose g/100g</b>	4,54 $\pm$ 0,07
<b>Gordura g/100g</b>	3,80 $\pm$ 0,74
<b>Acidez g de ácido láctico/ 100 mL</b>	0,1496 $\pm$ 0,51
<b>Estabilidade ao Alizarol a 72%</b>	Estável
pH	6,75 $\pm$ 0,04

A IN 76 estabelece teores mínimos para Sólidos Totais (ST) e Sólidos Desengordurados (SD) no leite cru refrigerado de 11,4g/100g e 8,4g /100g, respectivamente<sup>04</sup>. As médias de ST e SD apresentaram-se 12,38 $\pm$ 0,28 e 8,8 $\pm$ 0,12, respectivamente, ambos acima dos limites mínimos exigidos pela legislação. A legislação preconiza ainda que a acidez titulável varie entre 0,14 e 0,18 expressa em gramas de ácido láctico/100 mL<sup>04</sup>. A média das amostras analisadas apresenta-se, portanto, dentro dos padrões de normalidade.

Os valores médios de lactose e proteína também se enquadram no preconizado pela legislação, onde os valores mínimos estabelecidos são de 4,3g/100g e 2,9g/100g e respectivamente<sup>04</sup>. Na análise de alizarol, todas as amostras apresentaram estabilidade ao alizarol 72%.

**Tabela 2:** Avaliação da qualidade físico-química e microbiológica do leite cru de silo de estocagem.

	TEMPO	TEMP	GOR	PROT	LACT	ST	SD	CPP UFC	GOR	ACID	ALI	pH	MESO	PSIC	CT	<i>E. coli</i>
	(min)	°C	g/100g	g/100g	g/100g	g/100 g	g/100 g	(x1000 UFC/mL)	g/100g	g de ác. lático/ 100mL	Est.		(x1000 UFC/mL)	(x1000 UFC/mL)	(x1000 UFC/mL)	(x1000 UFC/mL)
Amostra de silo	0	3,2	3,54	3,3	4,53	12,32	8,78	<b>4952</b>	3,69	0,15	Est.	6,75	170	270	17	3
	30	4,0	3,53	3,3	4,52	12,3	8,77	<b>4692</b>	3,64	0,15	Est.	6,76	220	300	30	6
	60	3,0	3,5	3,28	4,52	12,25	8,75	<b>4898</b>	3,69	0,15	Est.	6,76	190	440	36	8
	90	4,0	3,54	3,3	4,52	12,31	8,77	<b>5042</b>	3,74	0,15	Est.	6,75	250	500	38	3
	120	<b>6,0</b>	3,33	3,32	4,53	12,13	8,8	<b>8525</b>	3,5	0,15	Est.	6,62	390	700	62	4
Amostras simulação	0	2,0	3,57	3,32	4,56	12,39	8,82	<b>4983</b>	3,69	0,15	Est.	6,69	110	250	21	1
	30	3,0	3,54	3,31	4,56	12,36	8,82	<b>4932</b>	3,65	0,15	Est.	6,69	110	300	37	4
	60	4,0	3,55	3,31	4,54	12,34	8,79	<b>5195</b>	3,67	0,15	Est.	6,72	140	380	44	1
	90	<b>5,0</b>	3,53	3,29	4,5	12,28	8,75	<b>4870</b>	3,65	0,15	Est.	6,72	120	400	46	1
	120	<b>6,0</b>	3,51	3,3	4,52	12,28	8,77	<b>5141</b>	3,65	0,15	Est.	6,75	140	430	57	4
	150	<b>7,0</b>	3,52	3,3	4,52	12,29	8,77	<b>4966</b>	3,65	0,15	Est.	6,72	130	410	49	5

Empresa: A; Data: 09/01/2020; Volume: 44000; Silo: A

TEMP – Temperatura, GOR- Gordura, PROT – Proteína, LACT – Lactose, ST – Sólidos Totais, SD - Sólidos Desengordurados, CPP UFC – Contagem de Bactérias a 35°C e Unidade Formadora de Colônias, ACID – Acidez, ALI -Alizarol a 72%, MESO – Mesófilo, PSIC – Psicrotóxicos, CT – Coliformes a 35°C, Est – estável.

**Amostras de Silo** - Coletas durante o esvaziamento do Silo para processamento. **Amostras Simulação** - Coletas durante a simulação de aumento de temperatura.

**Tabela 3:** Avaliação da qualidade físico-química e microbiológica do leite cru de silo de estocagem. **Amostra de Silo** – Coletas durante o esvaziamento do Silo para processamento. **Amostras Simulação:** Coletas durante a simulação de aumento de temperatura

	TEMPO	TEMP	GOR	PROT	LACT	ST	SD	CPP UFC	GOR	ACID	ALI	pH	MESO	PSIC	CT	<i>E. coli</i>
	(min)	°C	g/100g	g/100g	g/100g	g/100g	g/100g	(x1000 UFC/mL)	g/100g	g de ác. lático/ 100mL	Est.		(x1000 UFC/mL)	(x1000 UFC/mL)	(x1000 UFC/mL)	(x1000 UFC/mL)
Amostra de silo o	0	<b>6,3</b>	3,52	3,37	4,52	12,37	8,85	<b>1576</b>	3,5	0,16	Est.	6,76	1040	160	256	10
	30	<b>6,5</b>	3,5	3,37	4,52	12,35	8,85	<b>2399</b>	3,5	0,16	Est.	6,76	1120	192	288	20
	60	<b>6,8</b>	3,5	3,37	4,52	12,35	8,85	<b>3149</b>	3,5	0,16	Est.	6,76	1680	240	288	20
	90	<b>8,5</b>	3,57	3,37	4,51	12,41	8,84	<b>4102</b>	3,57	0,16	Est.	6,75	3360	288	320	20
	120	<b>9,0</b>	3,54	3,36	4,51	12,37	8,83	<b>3781</b>	3,5	0,16	Est.	6,7	2880	224	240	10
	150	<b>9,8</b>	3,53	3,36	4,5	12,36	8,83	<b>5962</b>	3,5	0,16	Est.	6,65	3360	352	320	20
Amostras	0	2,0	3,49	3,37	4,52	12,34	8,85	<b>1849</b>	3,59	0,15	Est.	6,78	1040	192	320	10
	30	3,0	3,48	3,36	4,51	12,31	8,83	<b>2543</b>	3,55	0,15	Est.	6,78	1120	224	288	10
	60	4,0	3,5	3,38	4,53	12,36	8,86	<b>2956</b>	3,57	0,15	Est.	6,75	1600	288	288	10
	90	<b>5,0</b>	3,43	3,36	4,51	12,26	8,83	<b>3958</b>	3,55	0,15	Est.	6,75	2320	288	320	20
	120	<b>6,0</b>	3,49	3,37	4,53	12,34	8,85	<b>4235</b>	3,5	0,15	Est.	6,75	3440	352	240	20
	150	<b>7,0</b>	3,49	3,37	4,52	12,34	8,85	<b>4384</b>	3,5	0,15	Est.	6,72	3520	352	320	40

Empresa: B; Data: 14/01/2020; Volume: 68000; Silo: B

TEMP – Temperatura, GOR- Gordura, PROT – Proteína, LACT – Lactose, ST – Sólidos Totais, SD - Sólidos Desengordurados, CPP UFC – Contagem de Bactérias a 35°C e Unidade Formadora de Colônias, ACID – Acidez, ALI -Alizarol a 72%, MESO – Mesófilo, PSIC – Psicrotóxicos, CT – Coliformes a 35°C, Est – estável.

**Amostras de Silo** - Coletas durante o esvaziamento do Silo para processamento. **Amostras Simulação** - Coletas durante a simulação de aumento de temperatura.

**Tabela 4:** Avaliação da qualidade físico-química e microbiológica do leite cru de silo de estocagem. **Amostra de Silo** – Coletas durante o esvaziamento do Silo para processamento. **Amostras Simulação:** Coletas durante a simulação de aumento de temperatura

	TEMPO	TEMP	GOR	PROT	LACT	ST	SD	CPP UFC	GOR	ACID	ALI	pH	MESO	PSIC	CT	<i>E. coli</i>
	(min)	°C	g/100g	g/100g	g/100g	g/100g	g/100g	(x1000 UFC/mL)	g/100g	g de ác. lático/ 100mL	Est.		(x1000 UFC/mL)	(x1000 UFC/mL)	(x1000 UFC/mL)	(x1000 UFC/mL)
Amostra de silo	0	<b>9,0</b>	3,35	3,36	4,48	12,15	8,8	<b>2322</b>	3,47	0,16	Est.	6,7	240	800	1120	70
	30	<b>9,1</b>	3,34	3,36	4,5	12,15	8,81	<b>3385</b>	3,45	0,16	Est.	6,72	448	1600	1120	70
	60	<b>9,1</b>	3,39	3,37	4,47	12,2	8,81	<b>2808</b>	3,45	0,16	Est.	6,69	400	800	1120	80
	90	<b>6,4</b>	3,37	3,36	4,47	12,16	8,79	<b>4344</b>	3,45	0,16	Est.	6,69	512	1920	1440	80
	120	<b>9,5</b>	3,35	3,37	4,48	12,16	8,81	<b>5848</b>	3,3	0,16	Est.	6,67	720	2400	1920	100
	150	<b>12,0</b>	3,52	3,37	4,48	12,32	8,8	<b>6985</b>	3,47	0,16	Est.	6,67	928	2720	2880	150
Amostras simulação	0	2,0	3,36	3,36	4,48	12,15	8,79	<b>7119</b>	3,49	0,15	Est.	6,8	960	3040	2560	150
	30	3,0	3,35	3,37	4,46	12,14	8,79	<b>7899</b>	3,45	0,15	Est.	6,8	992	3840	2720	150
	60	4,0	3,35	3,37	4,49	12,16	8,81	<b>8052</b>	3,47	0,15	Est.	6,7	1040	4000	2560	150
	90	<b>5,0</b>	3,37	3,37	4,49	12,18	8,81	<b>8412</b>	3,45	0,15	Est.	6,7	1056	4320	2880	150
	120	<b>6,0</b>	3,39	3,38	4,5	12,21	8,82	<b>8993</b>	3,45	0,15	Est.	6,8	1056	4640	2880	150
	150	<b>7,0</b>	3,53	3,36	4,47	12,32	8,79	<b>9945</b>	3,45	0,15	Est.	6,7	1120	4960	3680	180

Empresa : B; Data: 14/01/2020; Volume: 56000; Silo: C

TEMP – Temperatura, GOR- Gordura, PROT – Proteína, LACT – Lactose, ST – Sólidos Totais, SD - Sólidos Desengordurados, CPP UFC – Contagem de Bactérias a 35°C e Unidade Formadora de Colônias, ACID – Acidez, ALI -Alizarol a 72%, MESO – Mesófilo, PSIC – Psicrotóxicos, CT – Coliformes a 35°C, Est – estável.

**Amostras de Silo** - Coletas durante o esvaziamento do Silo para processamento. **Amostras Simulação** - Coletas durante a simulação de aumento de temperatura.

**Tabela 5:** Avaliação da qualidade físico-química e microbiológica do leite cru de silo de estocagem. **Amostra de Silo** – Coletas durante o esvaziamento do Silo para processamento. **Amostras Simulação:** Coletas durante a simulação de aumento de temperatura

	TEMPO	TEMP	GOR	PROT	LACT	ST	SD	CPP UFC	GOR	ACID	ALI	pH	MESO	PSIC	CT	<i>E. coli</i>
	(min)	°C	g/100g	g/100g	g/100g	g/100g	g/100g	(x1000 UFC/mL)	g/100g	g de ác. lático/ 100mL	Est.		(x1000 UFC/mL)	(x1000 UFC/mL)	(x1000 UFC/mL)	(x1000 UFC/mL)
Amostras de silo	0	2,0	3,13	3,37	4,56	12,01	8,88	<b>7651</b>	3,15	0,16	Est.	6,8	3600	100	430	0
	30	2,7	3,14	3,39	4,58	12,05	8,91	<b>8633</b>	3,15	0,16	Est.	6,8	3100	600	480	0
Amostras simulação	0	2,0	3,14	3,37	4,58	12,05	8,91	<b>8449</b>	3,15	0,16	Est.	6,8	3500	100	390	0
	30	3,0	3,14	3,37	4,57	12,03	8,89	<b>8779</b>	3,15	0,16	Est.	6,8	3800	400	390	0
	60	4,0	3,14	3,37	4,56	12,02	8,88	<b>8759</b>	3,15	0,16	Est.	6,82	3800	600	390	0
	90	<b>5,0</b>	3,14	3,37	4,56	12,01	8,87	<b>9009</b>	3,15	0,16	Est.	6,81	4300	400	390	0
	120	<b>6,0</b>	3,13	3,38	4,55	12,02	8,89	<b>8806</b>	3,15	0,16	Est.	6,83	4000	400	390	0
	150	<b>7,0</b>	3,15	3,38	4,56	12,04	8,89	<b>8670</b>	3,15	0,16	Est.	6,85	4100	400	390	0

Empresa: C; Data: 21/01/2020; Volume: 15808; Silo: D

TEMP – Temperatura, GOR- Gordura, PROT – Proteína, LACT – Lactose, ST – Sólidos Totais, SD - Sólidos Desengordurados, CPP UFC – Contagem de Bactérias a 35°C e Unidade Formadora de Colônias, ACID – Acidez, ALI -Alizarol a 72%, MESO – Mesófilo, PSIC – Psicrotóxicos, CT – Coliformes a 35°C, Est – estável.

**Amostras de Silo** - Coletas durante o esvaziamento do Silo para processamento. **Amostras Simulação** - Coletas durante a simulação de aumento de temperatura.

**Tabela 6:** Avaliação da qualidade físico-química e microbiológica do leite cru de silo de estocagem. **Amostra de Silo** – Coletas durante o esvaziamento do Silo para processamento. **Amostras Simulação:** Coletas durante a simulação de aumento de temperatura

	TEMPO	TEMP	GOR	PROT	LACT	ST	SD	CPP UFC	GOR	ACID	ALI	pH	MESO	PSIC	<i>E. coli</i>
	(min)	°C	g/100g	g/100g	g/100g	g/100g	g/100g	(x1000 UFC/mL)	g/100g	g de ác. lático/ 100mL	Est.		(x1000 UFC/mL)	(x1000 UFC/mL)	(x1000 UFC/mL)
Amostras de silo	0	<b>11,4</b>	3,56	3,15	4,54	12,24	8,68	356	3,5	0,14	Est.	6,75	62	208	0
	30	<b>10,0</b>	3,63	3,18	4,52	12,32	8,69	347	3,6	0,14	Est.	6,72	72	208	0
	60	<b>11,0</b>	3,57	3,15	4,53	12,24	8,67	493	3,6	0,14	Est.	6,7	70	336	0
	90	<b>11,0</b>	3,53	3,12	4,49	12,14	8,61	468	3,5	0,14	Est.	6,7	65	352	0
	120	<b>12,0</b>	3,32	3,13	4,49	11,94	8,62	744	3,4	0,14	Est.	6,7	70	384	0
Amostras simulação	0	2,0	3,57	3,15	4,53	12,24	8,67	493	3,5	0,14	Est.	6,75	82	184	0
	30	3,0	3,55	3,14	4,54	12,22	8,67	503	3,5	0,14	Est.	6,75	82	200	0
	60	4,0	3,56	3,16	4,54	12,24	8,68	532	3,5	0,14	Est.	6,74	100	240	0
	90	<b>5,0</b>	3,55	3,15	4,54	12,23	8,68	525	3,45	0,14	Est.	6,74	98	240	0
	120	<b>6,0</b>	3,55	3,15	4,55	12,24	8,69	518	3,5	0,15	Est.	6,74	94	216	0
	150	<b>7,0</b>	3,54	3,15	4,54	12,22	8,68	533	3,5	0,15	Est.	6,73	110	280	0

Empresa: D Data: 22/01/2020; Volume: 35000; Silo: E;

TEMP – Temperatura, GOR- Gordura, PROT – Proteína, LACT – Lactose, ST – Sólidos Totais, SD - Sólidos Desengordurados, CPP UFC – Contagem de Bactérias a 35°C e Unidade Formadora de Colônias, ACID – Acidez, ALI -Alizarol a 72%, MESO – Mesófilo, PSIC – Psicrotóxicos, CT – Coliformes a 35°C, Est – estável.

**Amostras de Silo** - Coletas durante o esvaziamento do Silo para processamento. **Amostras Simulação** - Coletas durante a simulação de aumento de temperatura.

**Tabela 7:** Avaliação da qualidade físico-química e microbiológica do leite cru de silo de estocagem. **Amostra de Silo** – Coletas durante o esvaziamento do Silo para processamento. **Amostras Simulação:** Coletas durante a simulação de aumento de temperatura

	TEMPO	TEMP	GOR	PROT	LACT	ST	SD	CPP UFC	GOR	ACID	ALI	pH	MESO	PSIC	CT	<i>E. coli</i>
	(min)	°C	g/100g	g/100g	g/100g	g/100g	g/100g	(x1000 UFC/mL)	g/100g	g de ác. lático/ 100mL	Est.		(x1000 UFC/mL)	(x1000 UFC/mL)	(x1000 UFC/mL)	(x1000 UFC/mL)
Amostra de silo	0	<b>10,0</b>	3,6	3,21	4,55	12,35	8,75	<b>4184</b>	3,6	0,14	Est.	6,73	0	2560	360	0
	30	<b>9,0</b>	3,6	3,2	4,53	12,32	8,72	<b>4137</b>	3,6	0,14	Est.	6,74	600	2720	400	0
	60	<b>9,5</b>	3,6	3,2	4,54	12,34	8,74	<b>4698</b>	3,5	0,14	Est.	6,72	740	3520	320	0
	90	<b>10,0</b>	3,61	3,2	4,54	12,35	8,74	<b>7129</b>	3,6	0,14	Est.	6,71	800	5033	600	0
Amostras simulação	0	2,0	3,62	3,22	4,56	12,39	8,77	<b>4592</b>	3,6	0,14	Est.	6,73	680	3400	300	0
	30	3,0	3,6	3,21	4,54	12,35	8,75	<b>4488</b>	3,6	0,14	Est.	6,74	720	3200	160	0
	60	4,0	3,58	3,22	4,56	12,35	8,77	<b>4830</b>	3,6	0,14	Est.	6,74	600	4000	160	0
	90	<b>5,0</b>	3,59	3,2	4,53	12,31	8,72	<b>5091</b>	3,57	0,14	Est.	6,72	620	4160	120	0
	120	<b>6,0</b>	3,6	3,2	4,54	12,34	8,74	<b>5572</b>	3,58	0,15	Est.	6,72	600	4800	160	0
	150	<b>7,0</b>	3,58	3,19	4,53	12,3	8,72	<b>5495</b>	3,6	0,15	Est.	6,7	600	4640	160	0

Empresa: D; Data: 22/01/2020; Volume: 14000; Silo: F

TEMP – Temperatura, GOR- Gordura, PROT – Proteína, LACT – Lactose, ST – Sólidos Totais, SD - Sólidos Desengordurados, CPP UFC – Contagem de Bactérias a 35°C e Unidade Formadora de Colônias, ACID – Acidez, ALI -Alizarol a 72%, MESO – Mesófilo, PSIC – Psicrotóxicos, CT – Coliformes a 35°C, Est – estável.

**Amostras de Silo** - Coletas durante o esvaziamento do Silo para processamento. **Amostras Simulação** - Coletas durante a simulação de aumento de temperatura.

**Tabela 8:** Avaliação da qualidade físico-química e microbiológica do leite cru de silo de estocagem. **Amostra de Silo** – Coletas durante o esvaziamento do Silo para processamento. **Amostras Simulação:** Coletas durante a simulação de aumento de temperatura

	TEMPO	TEMP	GOR	PROT	LACT	ST	SD	CPP UFC	GOR	ACID	ALI	pH	MESO	PSIC	CT	<i>E. coli</i>
	(min)	°C	g/100g	g/100g	g/100g	g/100g	g/100g	(x1000 UFC/mL)	g/100g	g de ác. láctico/ 100mL	Est.		(x1000 UFC/mL)	(x1000 UFC/mL)	(x1000 UFC/mL)	(x1000 UFC/mL)
Amostra de silo	0	<b>7,0</b>	3,73	3,21	4,54	12,37	8,64	296	3,75	0,15	Est.	6,7	112	256	144	0
	30	<b>7,0</b>	3,79	3,35	4,44	12,52	8,73	463	3,75	0,15	Est.	6,68	176	320	128	0
	60	<b>7,0</b>	3,72	3,2	4,5	12,32	8,6	568	3,75	0,15	Est.	6,7	128	240	144	0
	90	<b>7,0</b>	3,72	3,21	4,52	12,35	8,63	444	3,75	0,15	Est.	6,7	160	256	160	0
	120	<b>7,0</b>	3,72	3,22	4,57	12,42	8,7	582	3,75	0,15	Est.	6,7	144	300	192	0
	150	<b>7,0</b>	3,69	3,2	4,52	12,3	8,61	513	3,7	0,15	Est.	6,7	192	300	176	0
Amostras simulação	0	2,0	3,74	3,2	4,5	12,33	8,59	299	3,75	0,15	Est.	6,7	96	220	100	0
	30	3,0	3,74	3,21	4,52	12,36	8,62	307	3,75	0,15	Est.	6,7	240	240	110	0
	60	4,0	3,74	3,2	4,51	12,35	8,61	585	3,75	0,15	Est.	6,72	272	240	100	0
	90	<b>5,0</b>	3,79	3,35	4,43	12,51	8,72	404	3,75	0,15	Est.	6,73	224	240	130	0
	120	<b>6,0</b>	3,75	3,2	4,52	12,37	8,62	641	3,75	0,15	Est.	6,73	256	320	130	0
	150	<b>7,0</b>	3,73	3,2	4,51	12,34	8,61	753	3,75	0,15	Est.	6,73	256	320	150	0

Empresa: E; Data: 27/01/2020; Volume: 14000; Silo: G

TEMP – Temperatura, GOR- Gordura, PROT – Proteína, LACT – Lactose, ST – Sólidos Totais, SD - Sólidos Desengordurados, CPP UFC – Contagem de Bactérias a 35°C e Unidade Formadora de Colônias, ACID – Acidez, ALI -Alizarol a 72%, MESO – Mesófilo, PSIC – Psicotróficos, CT – Coliformes a 35°C, Est – estável.

**Amostras de Silo** - Coletas durante o esvaziamento do Silo para processamento. **Amostras Simulação** - Coletas durante a simulação de aumento de temperatura.

**Tabela 9:** Avaliação da qualidade físico-química e microbiológica do leite cru de silo de estocagem. **Amostra de Silo** – Coletas durante o esvaziamento do Silo para processamento. **Amostras Simulação:** Coletas durante a simulação de aumento de temperatura

	TEMPO	TEMP	GOR	PROT	LACT	ST	SD	CPP UFC	GOR	ACID	ALI	pH	MESO	PSIC	CT	<i>E. coli</i>
	(min)	°C	g/100g	g/100g	g/100g	g/100g	g/100g	(x1000 UFC/mL)	g/100g	g de ác. láctico/ 100mL	Est.		(x1000 UFC/mL)	(x1000 UFC/mL)	(x1000 UFC/mL)	(x1000 UFC/mL)
Amostra de silo	0	<b>6,0</b>	3,79	3,35	4,45	12,51	8,72	258	3,75	0,15	Est.	6,7	5	1	22	0
	30	<b>6,0</b>	3,75	3,34	4,42	12,45	8,7	291	3,75	0,15	Est.	6,68	3	7	24	0
	60	<b>6,0</b>	3,8	3,35	4,45	12,51	8,71	270	3,8	0,15	Est.	6,7	4	5	28	0
	90	<b>6,0</b>	3,79	3,35	4,45	12,51	8,72	265	3,75	0,15	Est.	6,7	4	5	28	0
	120	<b>6,0</b>	3,79	3,35	4,45	12,49	8,7	282	3,75	0,15	Est.	6,7	4	5	28	0
	150	<b>6,0</b>	3,7	3,2	4,52	12,32	8,62	470	3,7	0,15	Est.	6,7	4	8	32	0
Amostras simulação	0	2	3,77	3,35	4,45	12,49	8,72	343	3,75	15	Est.	6,7	4	1	19	0
	30	3	3,79	3,35	4,44	12,5	8,71	323	3,75	15	Est.	6,7	3	1	20	0
	60	4	3,77	3,35	4,46	12,5	8,73	410	3,75	15	Est.	6,72	4	1	20	0
	90	<b>5</b>	3,79	3,35	4,45	12,51	8,72	316	3,75	15	Est.	6,73	4	4	18	0
	120	<b>6</b>	3,79	3,34	4,44	12,5	8,71	347	3,75	15	Est.	6,73	4	4	17	0
	150	<b>7</b>	3,78	3,35	4,47	12,53	8,75	406	3,75	15	Est.	6,73	4	4	22	0

Empresa: E; Data: 27/01/2020; Volume: 13800; Silo H

TEMP – Temperatura, GOR- Gordura, PROT – Proteína, LACT – Lactose, ST – Sólidos Totais, SD - Sólidos Desengordurados, CPP UFC – Contagem de Bactérias a 35°C e Unidade Formadora de Colônias, ACID – Acidez, ALI -Alizarol a 72%, MESO – Mesófilo, PSIC – Psicrotóxicos, CT – Coliformes a 35°C, Est – estável.

**Amostras de Silo** - Coletas durante o esvaziamento do Silo para processamento. **Amostras Simulação** - Coletas durante a simulação de aumento de temperatura.

**Tabela 10:** Avaliação da qualidade físico-química e microbiológica do leite cru de silo de estocagem. **Amostra de Silo** – Coletas durante o esvaziamento do Silo para processamento. **Amostras Simulação:** Coletas durante a simulação de aumento de temperatura

	TEMPO	TEMP	GOR	PROT	LACT	ST	SD	CPP UFC	GOR	ACID	ALI	pH	MESO	PSIC	CT	<i>E. coli</i>
	(min)	°C	g/100g	g/100g	g/100g	g/100g	g/100g	(x1000 UFC/mL)	g/100g	g de ác. láctico/ 100mL	Est.		(x1000 UFC/mL)	(x1000 UFC/mL)	(x1000 UFC/mL)	(x1000 UFC/mL)
Amostra de silo	0	4,0	3,98	3,49	4,68	13,02	9,04	3	4,00	0,15	Est.	6,78	1	13	4	0
	30	4,0	3,96	3,49	4,69	13,01	9,05	9	4,00	0,15	Est.	6,78	2	16	4	1
	60	4,0	3,98	3,49	4,67	13,01	9,03	7	4,00	0,15	Est.	6,78	1	16	4	1
	90	4,0	3,97	3,49	4,66	13	9,03	12	4,00	0,15	Est.	6,78	1	16	6	1
	120	4,0	4	3,47	4,73	13,09	9,09	16	4,00	0,15	Est.	6,78	1	16	4	2
	150	4,0	3,98	3,48	4,67	13,02	9,04	14	4,00	0,15	Est.	6,78	1	16	6	0
Amostras simulação	0	2,0	4	3,48	4,71	13,07	9,07	4	4,00	0,15	Est.	6,76	1	11	3	4
	30	3,0	4	3,48	4,69	13,07	9,07	11	4,00	0,15	Est.	6,76	1	11	4	4
	60	4,0	3,99	3,47	4,73	13,08	9,09	10	4,00	0,15	Est.	6,78	1	11	6	4
	90	<b>5,0</b>	4,01	3,48	4,68	13,04	9,03	11	4,00	0,15	Est.	6,78	1	13	7	4
	120	<b>6,0</b>	4	3,48	4,69	13,04	9,04	10	4,00	0,15	Est.	6,8	3	13	4	4
	150	<b>7,0</b>	4,01	3,48	4,69	13,07	9,06	14	4,00	0,15	Est.	6,8	1	13	7	4

Empresa: F; Data: 28/01/2020; Volume: 4000; Silo I

TEMP – Temperatura, GOR- Gordura, PROT – Proteína, LACT – Lactose, ST – Sólidos Totais, SD - Sólidos Desengordurados, CPP UFC – Contagem de Bactérias a 35°C e Unidade Formadora de Colônias, ACID – Acidez, ALI -Alizarol a 72%, MESO – Mesófilo, PSIC – Psicrotóxicos, CT – Coliformes a 35°C, Est – estável.

**Amostras de Silo** - Coletas durante o esvaziamento do Silo para processamento. **Amostras Simulação** - Coletas durante a simulação de aumento de temperatura.

**Tabela 11-** Comparação dos resultados de análises de leite cu de silo de estocagem, avaliando tempo de esvaziamento do silo, variação de temperatura e crescimento de micro-organismos no início e no final do processo entre os diferentes silos.

Silo	TEMPO DE ESVAZIAMENTO min.	*	TEMPERATURA		CPP		MESÓFILO		PSICROTRÓFICO		CT		<i>E.coli</i>	
			°C	Acréscimo em °C	(x1000 UFC/mL)	% de cresc	(x1000 UFC/mL)	% de cresc	(x1000 UFC/mL)	% de cresc	(x1000 UFC/mL)	% de cresc	(x1000 UFC/mL)	% de cresc
A	120	I	3,2		<b>4952</b>		170		270		17		3	
		F	<b>6</b>	<b>2,80</b>	<b>8525</b>	<b>72,15</b>	390	<b>129,41</b>	700	<b>159,26</b>	62	<b>264,71</b>	4	<b>33,33</b>
B	150	I	<b>6,3</b>		<b>1576</b>		1040		160		256		10	
		F	<b>9,8</b>	<b>3,50</b>	<b>5692</b>	<b>261,17</b>	3360	<b>223,08</b>	352	<b>120,00</b>	320	<b>25,00</b>	20	<b>100,00</b>
C	150	I	<b>9</b>		<b>2322</b>		240		800		1120		70	
		F	<b>12</b>	<b>3,00</b>	<b>6985</b>	<b>200,82</b>	928	<b>286,67</b>	2720	<b>240,00</b>	2880	<b>157,14</b>	150	<b>114,29</b>
D	30	I	2		<b>7651</b>		3600		100		430		0	
		F	2,7	<b>0,70</b>	<b>8633</b>	<b>12,83</b>	3100	<b>-13,89</b>	600	<b>500,00</b>	480	<b>11,63</b>	0	<b>0,00</b>
E	120	I	<b>11,4</b>		356		62		208		56		0	
		F	<b>12</b>	<b>0,60</b>	744	<b>108,99</b>	70	<b>12,90</b>	384	<b>84,62</b>	92	<b>64,29</b>	0	<b>0,00</b>
F	90	I	<b>10</b>		<b>4184</b>		0		2560		360		0	
		F	<b>10</b>	<b>0,00</b>	<b>7129</b>	<b>70,39</b>	800	<b>800</b>	5033	<b>96,60</b>	600	<b>66,67</b>	0	<b>0,00</b>
G	150	I	7		296		112		256		144		0	
		F	7	<b>0,00</b>	513	<b>73,31</b>	192	<b>71,43</b>	300	<b>17,19</b>	176	<b>22,22</b>	0	<b>0,00</b>
H	150	I	<b>6</b>		258		5		1		22		0	
		F	<b>6</b>	<b>0,00</b>	470	<b>82,17</b>	4	<b>-20,00</b>	8	<b>700,00</b>	32	<b>45,45</b>	0	<b>0,00</b>
I	150	I	4		3		1		13		4		0	
		F	4	<b>0,00</b>	14	<b>366,67</b>	1	<b>0,00</b>	16	<b>23,08</b>	6	<b>50,00</b>	0	<b>0,00</b>

\*Legenda: I – inicial, F – final.

**Tabela 12-** Coeficientes de correlação de Pearson e níveis de significância.

	<b>Tempo</b>	<b>Temperatura</b>	<b>CBT</b>	<b>Mesófilos</b>	<b>Psicotróficos</b>	<b>Coliformes totais</b>	<b><i>E. coli</i></b>
<b>Tempo</b>	-	0,1694	0,0498	0,0628	0,0615	0,1715	0,1772
<b>Temperatura</b>		-	0,0019	0,0013	0,4544**	0,3865**	0,3543*
<b>CBT</b>			-	0,609**	0,5487**	0,4612**	0,3498*
<b>Log<sub>10</sub>CBT</b>				0,4969**	0,4863**	0,4375**	0,3487*
<b>Mesófilos</b>				-	0,0428	0,1814	0,1042
<b>Psicotróficos</b>					-	0,5554**	0,3724**
<b>Log<sub>10</sub>Psicotróficos</b>						0,5239**	0,4113**
<b>Coliformes totais</b>						-	0,9339**
<b><i>E. coli</i></b>							-

\*p<0,05; \*\*p<0,01

Ao analisar os coeficientes de correlação de Pearson entre tempo, temperatura e análises microbiológicas (Tabela 12), observou-se que a temperatura apresentou correlação positiva significativa com as variáveis contagem de psicotróficos ( $\rho=0,4544$ ;  $p<0,01$ ), contagem de coliformes totais ( $\rho=0,3865$ ;  $p<0,01$ ) e contagem de *E. coli* ( $\rho=0,3543$ ;  $p<0,05$ ). Isto significa que com um aumento na temperatura ocorreu um aumento na contagem de psicotróficos, coliformes totais e *E. coli*. Não foi observado correlação significativa entre o tempo e as análises microbiológicas, provavelmente devido ao período curto de avaliação. Portanto, a temperatura, ainda que discretamente, influenciou diretamente no crescimento de micro-organismos.

Dentre todas as amostras analisadas, independentemente das variações de tempo e temperatura estabelecidas para avaliação, tanto no estudo de simulação quanto no estudo dos silos de estocagem, nenhum dos valores da análise físico-química se mostrou em desacordo com o que é preconizado pelas legislações brasileiras ou considerado dentro da normalidade.

Silva e colaboradores<sup>93</sup>, no intuito de avaliar a qualidade físico-química do leite *in natura* comercializado informalmente no sertão paraibano no período de setembro a outubro de 2015, encontraram que do total de 24 amostras analisadas, 62,5% apresentaram percentuais de Sólidos Desengordurados (SD) fora dos padrões preconizados pela legislação brasileira (IN 76/2018). Silveira e Bertagnolli<sup>94</sup>, em seu estudo no município de Santa Maria-RS entre os meses de agosto a dezembro de 2010, sobre a avaliação da qualidade de leite cru, quanto ao parâmetro de Sólidos Desengordurado (SD), nas amostras analisadas, obtiveram valores de 8,10 e 7,56 g/100g, constatando-se que apenas uma amostra não atendeu aos requisitos preconizados pela legislação brasileira.

No estudo de Silveira e Bertagnolli<sup>94</sup> de 2014, avaliou-se a qualidade do leite cru comercializado informalmente em feiras livres no município de Santa Maria-RS. Observou-se, como principal variação físico-química a acidez titulável, em que os valores obtidos variaram de 0,14 a 0,33 g de ácido láctico/100 mL nas amostras de leite cru informal analisadas. Desse total verificou-se que 80% das amostras apresentaram acidez superior a 0,18 g de ácido láctico/100 mL. Esse aumento de acidez, provavelmente está associado a deficiências nas condições higiênicas de obtenção do leite e na temperatura de conservação, que geralmente é alta<sup>95</sup>.

Segundo Caldeira e colaboradores<sup>95</sup>, há uma tendência de aumento da acidez proveniente da transformação microbiana da lactose em ácidos, ocorrendo o aumento de ácidos orgânicos, em especial o ácido láctico resultante da fermentação. Desta forma, este indicador aponta indiretamente a carga bacteriana encontrada no leite. Sugerindo que o leite pode ter sido produzido em condições higiênico-sanitárias deficientes e armazenado em refrigeração inapropriada, o que é comum na produção de leite informal.

As características físico-químicas do leite, assim como sua composição, podem variar de acordo com fatores genéticos, como raça, individualidade do animal, fatores fisiológicos, ambientais, estágio de lactação, alimentação, clima e estação do ano e em especial com a ocorrência de mastite, dentre outros. De modo geral, dentre os componentes os que mais variam são gordura e proteína<sup>86</sup>. A lactose é o constituinte sólido que está presente em maior

quantidade no leite e é o constituinte mais facilmente degradável, por isso é fundamental, a manutenção da temperatura inferior a 4,0 °C<sup>90</sup>.

No presente trabalho, constatou-se que 47% (47/100) das amostras de leite cru coletadas em silos e balões de estocagem apresentaram temperaturas iniciais inferiores a 4,0°C, temperatura esta que é preconizada pela legislação. O acondicionamento do leite sob refrigeração está associado à garantia da qualidade do produto que, quando produzido em situações satisfatórias de higiene, e transportado de forma eficiente até as indústrias, atende aos requisitos obrigatórios legais<sup>36, 74</sup>.

Batista<sup>86</sup> estudou a correlação entre a qualidade do leite cru refrigerado e do leite UHT integral no sudeste de Minas Gerais em 2015. Observou condições de temperatura acima de 4,0 °C no armazenamento de leite cru em todas as estações do ano durante a coleta de suas amostras. Segundo o autor, uma vez que o leite cru permanece por mais de cinco horas sob refrigeração e é obtido em condições inadequadas de higiene, poderá ocorrer o aumento em crescimento logarítmico de psicrotóxicos, por esses micro-organismos utilizarem 6 a 9 horas em média para concluir a multiplicação celular em temperaturas inferiores a 7°C.

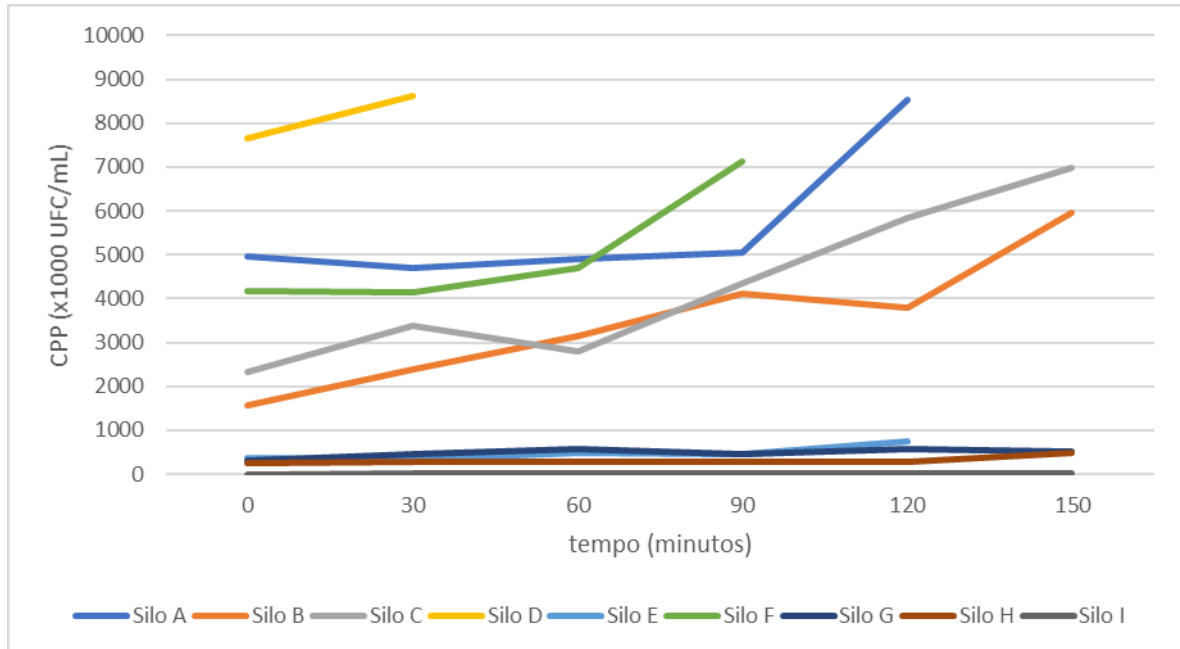
#### 4.2 Características microbiológicas do leite

As Tabelas 2 a 10 mostram os resultados das análises microbiológicas das amostras obtidas dos 9 silos de armazenamento participantes do estudo. As “amostras de simulação” são referentes ao estudo de simulação de aumento de temperatura, em que as amostras do tempo 0 de todos os silos de armazenamento avaliados foram alíquotadas em função do aumento de 1°C, até obter-se 6 amostras, para análise do crescimento bacteriano em função do aumento controlado da temperatura.

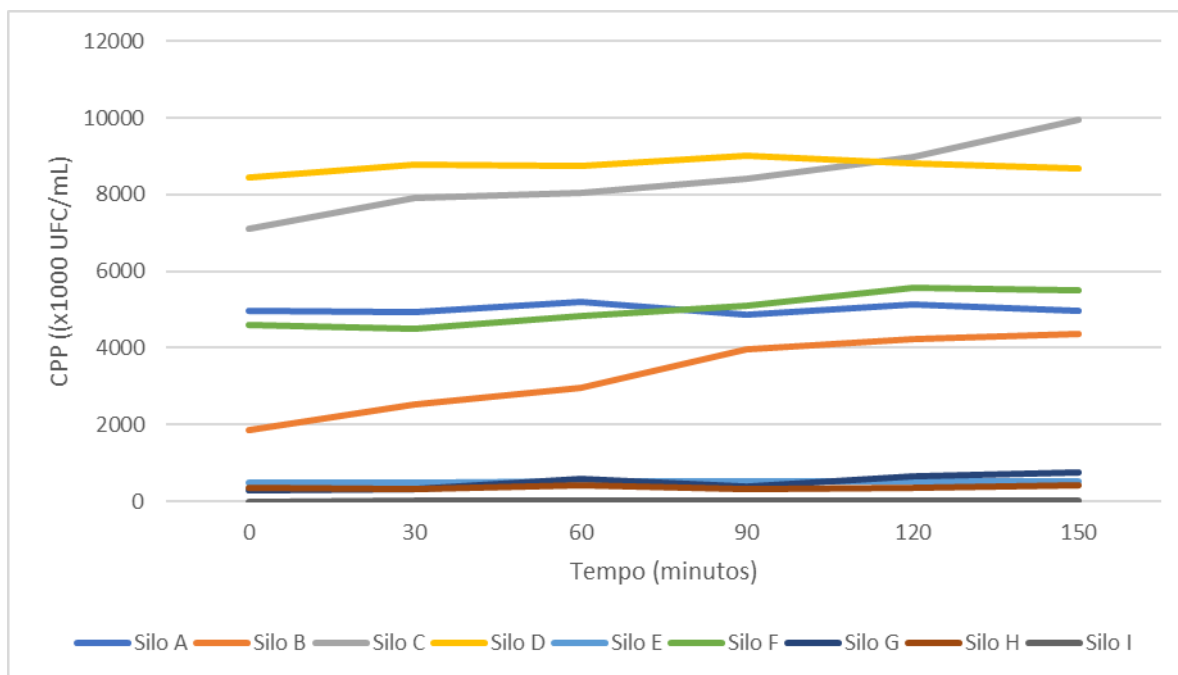
Foram coletadas entre duas e seis amostras dos silos, sendo uma a cada 30 minutos, resultando, portanto, em um tempo de esvaziamento de 120, 150, 150, 30, 120, 90, 150, 150 e 150 minutos para os silos A, B, C, D, E, F, G, H e I, respectivamente. A temperatura da armazenagem do leite no início do processo variou de 2,0 °C a 11,4 °C; com acréscimo de 2,8 °C; 3,5 °C; 3,0 °C; 0,7 °C e 0,6 °C nos silos A, B, C, D e E, já os demais silos F, G, H e I não apresentaram variação de temperatura. Apenas três silos (33%) de estocagem iniciaram o processamento com temperatura abaixo de 4°C, e apenas dois (22%) terminaram o processo em até 4°C, como preconiza a legislação vigente (Tabela 11).

Observa-se nas Tabelas 2 a 11 que as amostras com carga microbiana (CPP) coletada no tempo 0 que estavam acima de 900 mil UFC eram pertencentes aos silos A, B, C, D e F. Entretanto todos os silos tiveram algum crescimento, sendo de 77%, 261%, 200%, 13%, 108%, 70%, 73%, 82% e 366%, para os silos A a I, respectivamente assim, mesmo com pouca ou nenhuma variação na temperatura os micro-organismos apresentaram crescimento em unidades formadoras de colônias, porém, o maior crescimento observado foi menor que um ciclo logarítmico. A Figura 3 mostra a evolução da carga microbiana total nas amostras de simulação dos 9 silos no decorrer do experimento. Observou-se que o comportamento se assemelhou ao resultado das amostras dos silos, podendo ser observado na Figura 2.

O fator determinante na qualidade do leite cru é a característica da microbiota no tempo inicial do armazenamento. Durante o experimento observou-se que indústrias que apresentavam boas práticas nas propriedades rurais, com controle de tempo e volume de rotas controlados apresentaram contagem inicial menores. A Contagem Padrão em Placas do leite (CPP) é influenciada pelo tempo de armazenamento e pela temperatura de armazenagem<sup>1,12</sup>. Neste estudo observou-se que o aumento na Contagem de Bactérias Totais está ligado diretamente ao tempo de armazenagem e processamento, sendo que quanto maior o tempo de estocagem no silo maior será o crescimento de bactérias.



**Figura 2:** Evolução de CPP (UFC/mL) nas amostras de leite de nove silos de estocagem em função do tempo em minutos.



**Figura 3:** Evolução de CPP (UFC/mL) nas amostras de leite de simulação de nove silos de estocagem em função do tempo em minutos.

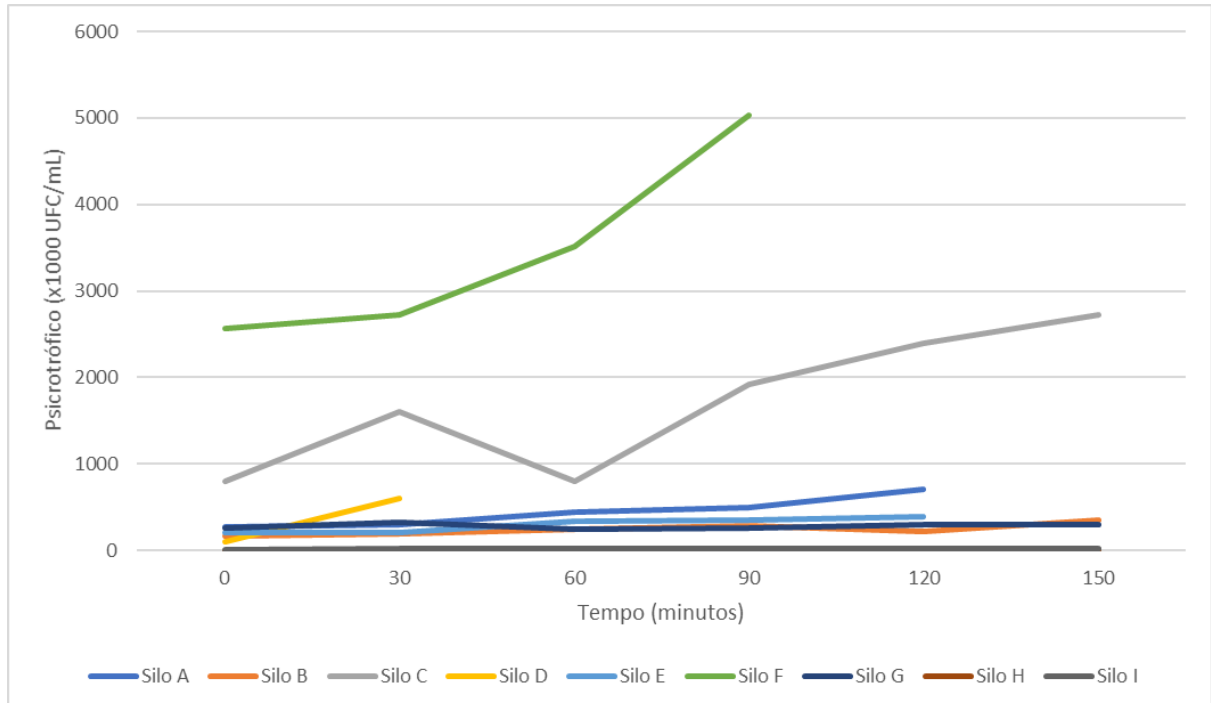
Ao final do processamento de esvaziamento dos silos, sete dos nove silos trabalhados apresentaram crescimento de bactérias mesófilas, sendo que esse crescimento variou de 12% a 800%, com a menor carga inicial de 0 e a maior de  $3,6 \times 10^6$  UFC/mL. Em apenas um silo (silo I), onde a temperatura permaneceu em  $4^{\circ}\text{C}$  não houve acréscimo de crescimento de mesófilos e em um silo (silo H) houve decréscimo de 20% onde a temperatura permaneceu em  $6^{\circ}\text{C}$ .

No estudo de Pinto e colaboradores<sup>59</sup> a variação nas contagens de mesófilos de 33 amostras de leite cru coletadas em tanques coletivos na zona da mata mineira foi de  $1,0 \times 10^4$  UFC/mL a  $1,2 \times 10^6$  UFC/mL, com média de  $3,8 \times 10^5$  UFC/mL. No estudo de Silveira e Bertagnolli<sup>94</sup> os resultados da contagem de mesófilos em dez amostras de leite cru comercializado informalmente em feiras livres no município de Santa Maria variaram de  $7,50 \times 10^1$  a  $1,36 \times 10^6$  UFC/mL.

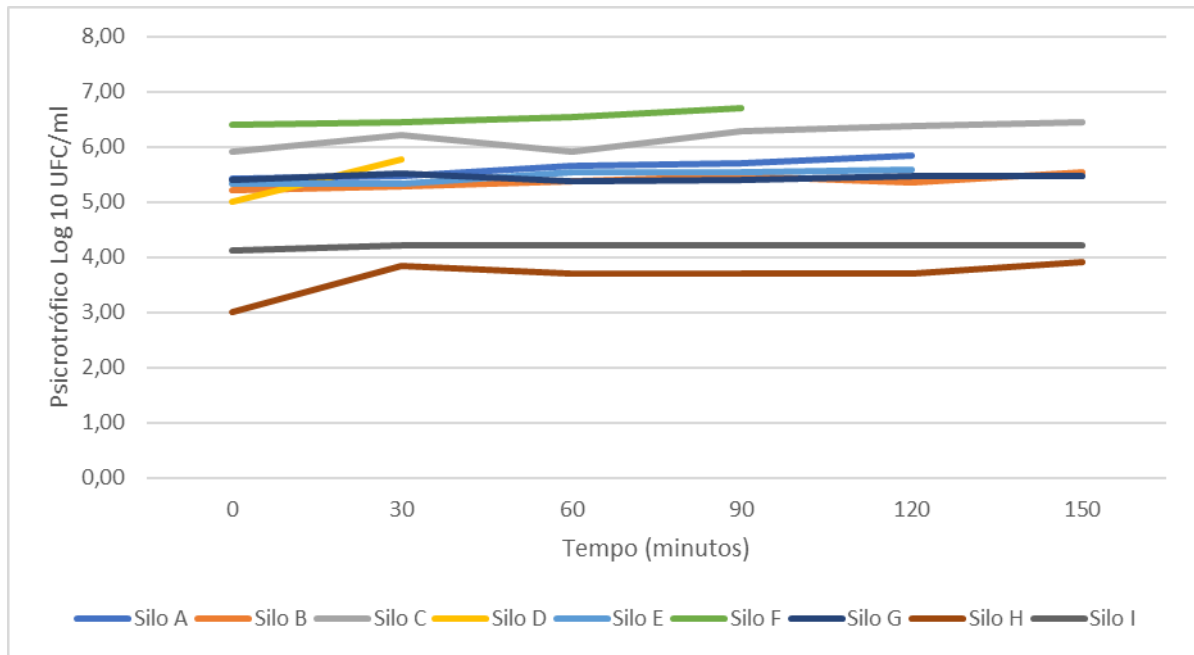
Neste estudo, as amostras dos nove silos avaliados apresentaram contaminação com mesófilos, o que era esperado, já que são amostras de leite cru. A legislação vigente não estabelece limites para contaminação de mesófilos em leite cru. Entretanto a IN 62 de 2003, que foi revogada, estabelecia o limite de  $6,0 \times 10^5$  UFC/mL. Considerando-se a IN 62, nenhuma das amostras apresentaram valores de bactérias mesófilas superiores ao preconizado por esta legislação.

Quando foi avaliada a presença de micro-organismos psicrotróficos, todos os silos apresentaram crescimento, variando de 17% a 700%. A menor contagem foi de  $1 \times 10^3$  e a maior de  $5,0 \times 10^6$  UFC/mL, onde os dois silos que mais variaram (silo D e H) apresentaram aumento de temperatura durante o processo de  $2,0^\circ\text{C}$  para  $2,7^\circ\text{C}$  no silo D e sem variação de temperatura no silo H, permanecendo  $6^\circ\text{C}$ . Demonstrando que a oscilação de temperatura pouco interfere no crescimento em função do tempo. A Figura 5 mostra a evolução da carga de micro-organismos psicrotróficos nos silos de armazenamento durante o experimento (em log), observando que mesmo com alto crescimento em números absolutos, quando transformados em escala logarítmica os crescimentos são inferiores a um ciclo. Nos silos A, D, E, H e I o crescimento em porcentagem de mesófilos foi inferior ao de micro-organismos psicrotróficos.

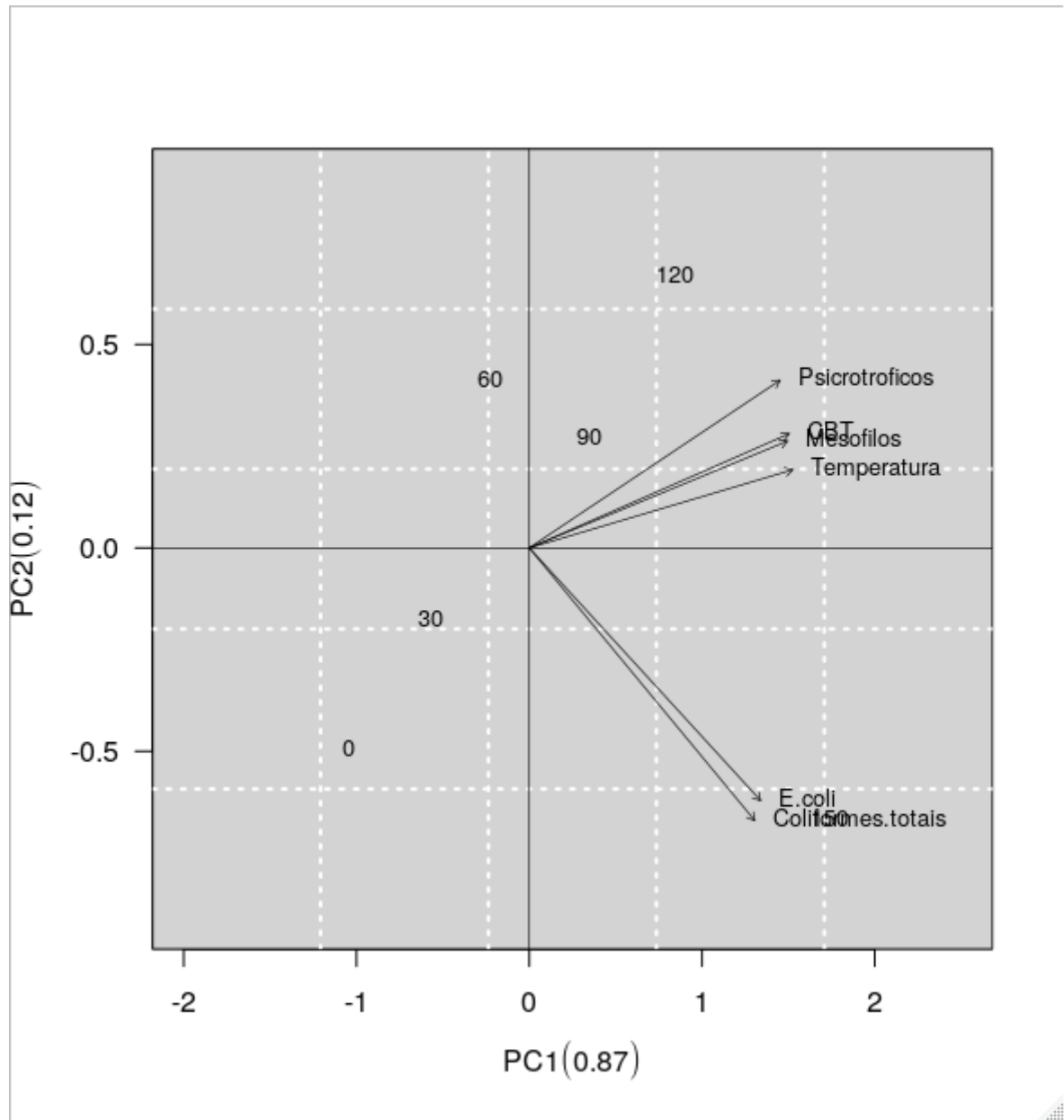
Na Figura 6 e 7 pode-se observar a influência significativa do crescimento dos micro-organismos psicrotróficos, CPP, mesófilos, no tempo 120 minutos, já para os micro-organismos *E. Coli* e Coliformes obtiveram resultados de crescimento significativos no maior tempo avaliado, ou seja, em tempos de 0, 30 e 60 não observou significância no crescimento, podendo conjecturar que quanto maior o tempo de armazenamento, maior poderá ser o desenvolvimento dos micro-organismos.



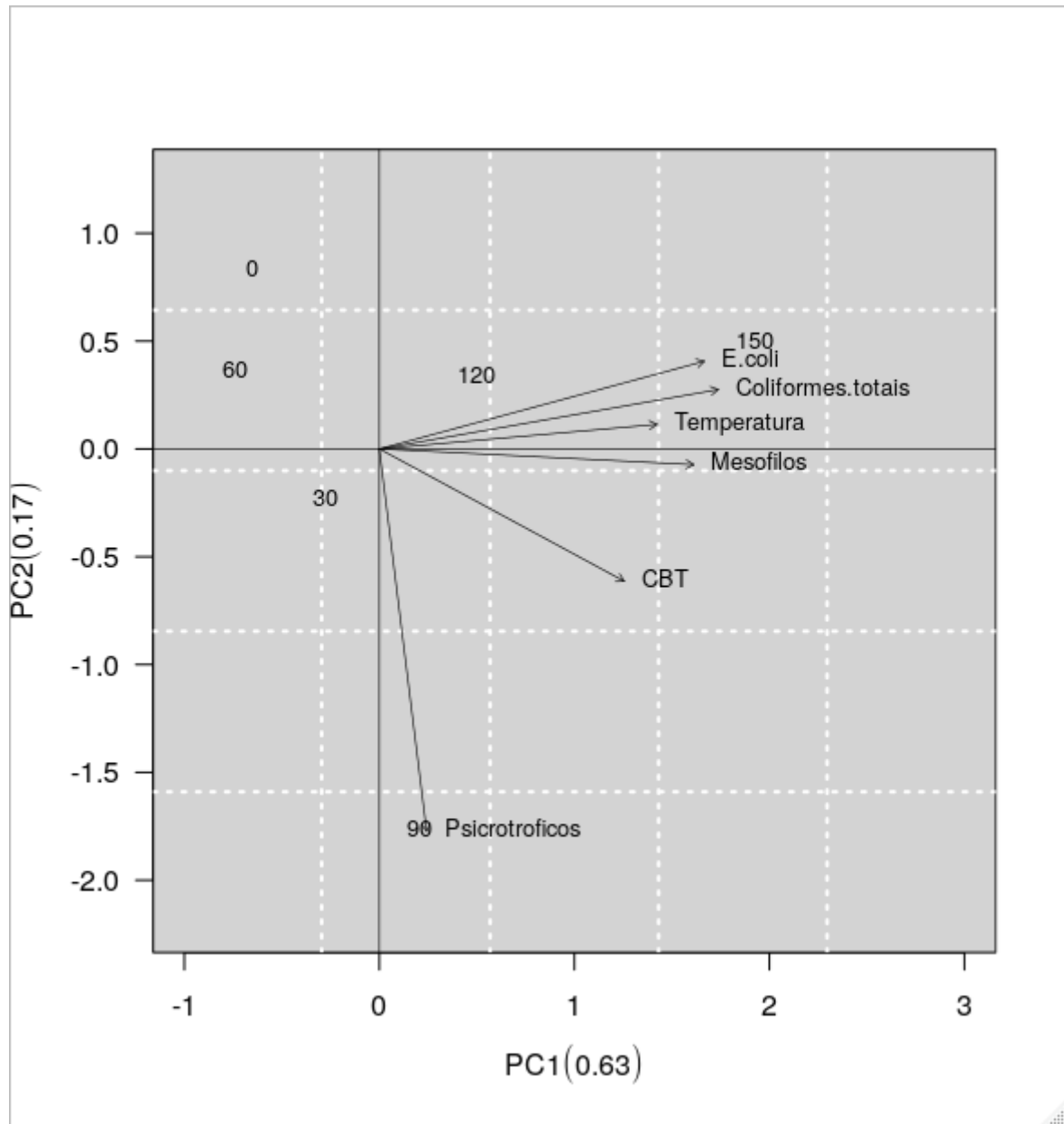
**Figura 4:** Evolução da presença de bactérias psicrotróficas (UFC/mL) em silos em função do tempo em minutos.



**Figura 5:** Evolução da presença de bactérias psicrotróficas (UFC/mL) em silos em função do tempo em minutos.



**Figura 6:** Análise de Componentes Principais das Amostras de Simulação



**Figura 7:** Análise Componentes Principais das Amostras do Silo

A partir de 2002 a intensificação da refrigeração do leite em toda cadeia produtiva foi implementada a fim de atender a IN 51. O resfriamento do leite nas propriedades leiteiras reduziu a perda de leite por acidificação, entretanto, em contra partida propiciou a multiplicação de bactérias psicrotróficas, que são capazes de se desenvolver em temperaturas inferiores a 7°C, e produzir enzimas termoestáveis (proteolíticas e lipolíticas)<sup>60,65</sup>. A contagem de microorganismos psicrotróficos, incluindo os proteolíticos, aumenta com o tempo de estocagem do leite cru refrigerado e pode estar relacionado ao funcionamento inadequado do termostato dos

tanques de expansão<sup>36,76</sup>. Desta forma, medidas de monitoramento e aferição de tanques de expansão são necessárias a fim de garantir a temperatura e tempo de refrigeração adequados.

As amostras de leite refrigerado estocado nos silos analisados não apresentaram resultados de acidez fora do padrão, nem tão pouco sofreram grande variação durante o período analisado. Entretanto, como houve crescimento da contagem de psicotróficos em todos os silos, conforme pode ser observado na Tabela 13 e em cinco deles o crescimento foi maior que a evolução de micro-organismos mesófilos. A refrigeração do leite e o tempo de estocagem antes do processamento propicia o crescimento de psicotróficos, o que é bastante prejudicial para a qualidade do leite, pois pode acarretar presença de enzimas deteriorantes em produtos lácteos, que não são inativadas pela pasteurização.

**Tabela 13-** Crescimento de micro-organismos psicotróficos (%) em relação ao tempo de esvaziamento dos silos de estocagem de leite cru

Silo	TEMPO DE	*	PSICOTRÓFICO	
	ESVAZIAMENTO		(x1000 UFC/mL)	% de cresc
	min.			
A	120	I	270	<b>159,26</b>
		F	700	
B	150	I	160	<b>120,00</b>
		F	352	
C	150	I	800	<b>240,00</b>
		F	2720	
D	30	I	100	<b>500,00</b>
		F	600	
E	120	I	208	<b>84,62</b>
		F	384	
F	90	I	2560	<b>96,60</b>
		F	5033	
G	150	I	256	<b>17,19</b>
		F	300	
H	150	I	1	<b>700,00</b>
		F	8	
I	150	I	13	<b>23,08</b>
		F	16	

\*Legenda: I – inicial, F – final.

Todos os silos apresentaram crescimento de Coliformes a 35°C variando de 11% a 264%, com carga inicial variando de  $4 \times 10^3$  a  $1,1 \times 10^6$  UFC/mL, e carga final variando de  $6 \times 10^3$  a  $2,8 \times 10^6$  UFC/mL. O maior crescimento ocorreu no silo A, de  $1,7 \times 10^4$  para  $6,2 \times 10^4$  UFC/mL onde a temperatura variou de 3,2°C para 6°C em 120 minutos

Apenas três silos dos nove participantes do estudo apresentaram presença para *E. coli*, onde o crescimento foi de 33,33%, 100% e 114% respectivamente. A maior contagem foi de  $3 \times 10^3$  e a maior foi de  $1,5 \times 10^5$  UFC/mL.

Os coliformes a 35°C são considerados micro-organismos indicadores de condições higiênico-sanitárias deficientes, e para contaminação de origem fecal é utilizada a contagem de *Escherichia coli*<sup>60</sup>. O aumento da contaminação por micro-organismos no leite cru depende das características sanitárias dos animais, processos de higiene e sanitização no momento da ordenha, o uso de água de boa qualidade e da higienização das ordenhadeiras e instalações<sup>59</sup>. A orientação aos produtores quanto aos procedimentos de boas práticas de ordenha, com cuidados na higienização e refrigeração do leite pode ser um aliado a fim de diminuir a contagem de coliformes a 35°C e presença de *E. coli* nas rotas de coleta dos leites analisados.

Avaliando todos os resultados pode-se inferir que em todos os silos ocorreu algum crescimento de micro-organismos, em função do tempo e da temperatura. Entretanto, mesmo quando as temperaturas permaneceram as mesmas ao longo do tempo, ainda assim houve crescimento na contagem de micro-organismos. Observou-se também que quanto maior for a contagem inicial, maior será a população final, independentemente do grupo de micro-organismos avaliado.

Diante da contagem inicial de micro-organismos observou-se que os menores resultados foram observados em leite com origem em indústrias que há muito tempo realizam trabalho de campo, com implantação de boas práticas nas propriedades rurais, além de controle de rotas com tempo e quilometragem reduzida, somando-se ao tempo de armazenamento do leite na plataforma inferior a 24 horas após a sua chegada.

A carga microbiana inicial do leite pode ser definida como a concentração de micro-organismos após a ordenha<sup>58</sup>. Para que o leite seja considerado de boa qualidade, deve apresentar baixa carga bacteriana<sup>18</sup>. Entretanto, a qualidade microbiológica do leite depende, principalmente, da limpeza e higienização de utensílios e equipamentos de ordenha que entram em contato com o leite e da higiene de ordenha, especificamente da higienização e secagem dos tetos antes da ordenha<sup>10</sup>.

De forma geral, a qualidade do leite cru refrigerado está ligada diretamente à contagem inicial de micro-organismos presentes no leite, e a sua evolução e crescimento se dá imediatamente após a ordenha, seguindo para o tanque de estocagem na fazenda, logo em seguida pelas condições dos caminhões que transportam o leite a granel e ao final no silo de estocagem nas indústrias de laticínios. Cuidados de higiene, qualidade da água e sistema de frio eficiente, além do cuidado com o intervalo de tempo entre a ordenha e o processamento são os fatores que merecem atenção para garantir que o crescimento de micro-organismos não prejudique a segurança dos produtos finais.

Comparando-se as amostras do silo e a de simulação, sendo as duas oriundas de um mesmo silo, notou-se menor influência da temperatura do que do tempo no aumento da população de micro-organismos. E, dentre os micro-organismos avaliados, observou-se maior crescimento de psicotróficos, cuja presença inicial está relacionada principalmente a condições de higiene, tempo de armazenamento e temperatura deste armazenamento na fazenda. Bersot et al em 2010, estudando a quantificação de micro-organismos antes e após chegar à plataforma da indústria, inferiram que a multiplicação dos micro-organismos psicotróficos pode não ser controlada pela refrigeração do leite, e nesses casos temperaturas baixas promovem uma alteração na microbiota do leite cru de predominantemente mesofílica para psicotrófica, ocorrendo geralmente em leites com altas contagens iniciais<sup>87</sup>.

Também foi possível observar nas amostras analisadas, que nos laticínios avaliados, o tempo de esvaziamento do silo para processamento do leite foi inferior a 150 minutos, devido ao tamanho dos silos avaliados e ao processo rápido de pasteurização do leite. Adicionalmente, o aumento de temperatura durante esse processo de esvaziamento variou de 0 a 3,5°C não ultrapassando 12°C no leite armazenado no silo. Ao avaliar todos os resultados podemos inferir que o tempo de estocagem do leite cru refrigerado foi mais significativo para o aumento da contagem de micro-organismo do que o aumento de temperatura. A partir disso considera-se que a principal recomendação deve ser a de tentar fazer o esvaziamento o mais rapidamente possível, evitando também o aumento significativo de temperatura para evitar o crescimento de micro-organismos psicotróficos<sup>28</sup>.

## CONCLUSÕES

O leite dos silos avaliado apresentou temperatura variando de 2,0 a 11,4 °C no início do processo de esvaziamento e temperatura final de 2,7 a 12°C, indicando que a manutenção da temperatura inferior a 4°C ainda é uma dificuldade em algumas indústrias.

O aumento da temperatura foi pequeno durante o esvaziamento dos silos avaliados, variando de 0 a 3,5°C; com média de 1,18°C; bem como o tempo de esvaziamento que variou de 30 a 150 minutos, com média de 123,33 minutos.

Em todos os silos houve aumento da população de micro-organismos, sendo os valores médios de 138,727% para CPP, 165,51% para mesófilos, 215,64% para psicrotróficos, 78,57% para coliformes a 35°C e 27,51% para *E. coli*.

Observou-se maior influência do tempo de esvaziamento do silo no aumento da população de micro-organismos do que da temperatura em que o leite se encontrava. E, dentre os micro-organismos avaliados, observou-se maior crescimento de psicrotróficos. Esses achados indicam que é necessária maior preocupação com o tempo de estocagem do leite cru nos silos bem como com seu tempo de esvaziamento, especialmente para evitar o crescimento de micro-organismos psicrotróficos cuja presença está relacionada a condições de higiene, tempo e temperatura de armazenamento do leite, podendo ter como consequências a presença de enzimas deteriorantes no leite e seus derivados, que irão comprometer a qualidade e a vida de prateleira dos derivados lácteos, levando a prejuízos consideráveis para a indústria e para o consumidor.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Durante a execução do presente trabalho, observou-se que existem dificuldades por parte das indústrias em manter o leite cru refrigerado a 4°C ou menos, conforme preconizado pela legislação brasileira atualmente em vigor.

Também se observou que há dificuldade em obter leite cru com baixa Contagem Padrão em Placas, o que pode trazer prejuízos à indústria e ao consumidor. Existe a necessidade, portanto, de que mais trabalhos de campo sejam realizados, a fim de avaliar as condições de higiene, temperatura nos tanques, tempo de resfriamento e armazenamento nas fazendas. Além da avaliação da situação particular de cada produtor, é fundamental que sejam desenvolvidos trabalhos de conscientização dos produtores de leite e de todos os trabalhadores envolvidos na cadeia do leite sobre medidas essenciais de higiene e conservação. São necessárias também mudanças na infraestrutura das estradas para reduzir o tempo de transporte e garantia de fornecimento de energia elétrica para os produtores rurais, a fim de se conseguir a adequada conservação do leite nas propriedades.

Em relação ao tempo e à temperatura de esvaziamento dos silos de estocagem de leite cru, durante seu processamento, ressalta-se a influência do tempo de estocagem sobre a qualidade microbiológica do leite, que mostrou-se maior do que a influência da temperatura, desde que inferior às temperaturas de multiplicação dos micro-organismos mesófilos. Acredita-se que o aumento do tempo de esvaziamento e/ou processamento do leite cru refrigerado seja mais prejudicial à qualidade do leite do que o pequeno aumento de temperatura que ocorre durante esse processo, mesmo os silos de estocagem sendo isotérmicos. Acredita-se também que a parada do processo de esvaziamento do silo para que o leite seja novamente resfriado, passando-o por um resfriador a placas, o que demanda algumas horas, dependendo do tamanho do silo, seja mais prejudicial à qualidade do leite do que o pequeno aumento de temperatura observado durante esse processo. Entretanto, são necessárias mais pesquisas nesse sentido, com um maior número de silos sendo analisados, para que sejam estabelecidas conclusões mais confiáveis e reproduzíveis a diferentes sistemas de estocagem em diferentes regiões do Brasil.

## REFERÊNCIAS

1. Wentz AG, Bermudes RF, de Magalhães Martins CM, Osmari MP, Rodrigues BM, dos Santos Pozza MS. Different methods and times of milk conservation: Physical-chemical composition and microbiological quality. *Acta Veterinaria Brasilica*. 2018;12(3):84-93.
2. Boor KJ, Wiedmann M, Murphy S, Alcaine S. A 100-Year Review: Microbiology and safety of milk handling. (1525-3198 (Electronic)).
3. Sumitra Panigrahi BD, Krutanjali Swain and Priyanka, Priyadarshini. *Microbiology of milk: Public health aspect*. Pharma Innov. 2018;7:260-4
4. Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução normativa nº 76, de 26 de novembro de 2018. 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. Brasília: Diário Oficial da União. 2018; 230, 1:9.
5. Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução normativa nº 77, de 26 de novembro de 2018. Regulamentos Técnicos de critérios e procedimentos para a produção, acondicionamento, conservação, transporte, seleção e recepção do leite cru em estabelecimentos registrados no serviço de inspeção oficial. Brasília: Diário Oficial da União. 2018; 230, 1:10.
6. Skeie SB, Håland M, Thorsen IM, Narvhus J, Porcellato D. Bulk tank raw milk microbiota differs within and between farms: A moving goalpost challenging quality control. *J Dairy Sci*. 2019;102(3):1959-71.
7. Jayarao BM, Pillai SR, Sawant AA, Wolfgang DR, Hegde NV. Guidelines for monitoring bulk tank milk somatic cell and bacterial counts. *J Dairy Sci*. 2004;87(10):3561-73.
8. Jayarao BM, Henning DR. Prevalence of foodborne pathogens in bulk tank milk. *J Dairy Sci*. 2001;84(10):2157-62.
9. Jayarao BM, Donaldson SC, Straley BA, Sawant AA, Hegde NV, Brown JL. A survey of foodborne pathogens in bulk tank milk and raw milk consumption among farm families in Pennsylvania. *J Dairy Sci*. 2006;89(7):2451-8.
10. Muehlherr JE, Zweifel C, Corti S, Blanco JE, Stephan R. Microbiological quality of raw goat's and ewe's bulk-tank milk in Switzerland. *J Dairy Sci*. 2003;86(12):3849-56.
11. Hayes MC, Ralyea RD, Murphy SC, Carey NR, Scarlett JM, Boor KJ. Identification and characterization of elevated microbial counts in bulk tank raw milk. *J Dairy Sci*. 2001;84(1):292-8.
12. Tribst AAL, Falcade I, de Oliveira MM. Strategies for raw sheep milk storage in smallholdings: Effect of freezing or long-term refrigerated storage on microbial growth. *J Dairy Sci* 2019;102(6):4960-71.
13. Porcellato D, Skeie SB. Bacterial dynamics and functional analysis of microbial metagenomes during ripening of Dutch-type cheese. *Int Dairy J*. 2016;61(C):182-8.
14. Santos M. Influência da qualidade do leite na manufatura e vida de prateleira dos produtos lácteos: papel das células somáticas. Brito, JRF, Portugal, JAB (Org). 2003;1:139-49.
15. Lima Neto EdC, Pieroni PMRL, Acurcio LB, Pompeu MA, Pieroni PMRL. Quantificação de micro-organismos e classificação de sua atividade enzimática proteolítica e lipolítica em leite cru captado em laticínios no município de Piumhi-MG. 2018.
16. Kim SG, Kim EH, Lafferty CJ, Dubovi E. *Coxiella burnetti* in bulk tank milk samples, United States. *Emerg Infect Dis*. 2005;11(4):619-21.
17. Elmoslemany AM, Keefe GP, Dohoo IR, Wichtel JJ, Stryhn H, Dingwell RT. The association between bulk tank milk analysis for raw milk quality and on-farm management practices. *Prev Vet Med*. 2010;95(1-2):32-40.

18. Murphy SC, Martin NH, Barbano DM, Wiedmann M. Influence of raw milk quality on processed dairy products: How do raw milk quality test results relate to product quality and yield. *J Dairy Sci.* 2016;99(12):10128-49.
19. Brasil. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Decreto Nº 9.013, de 29 de março de 2017. Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal - Riispoa. Brasília: Diário Oficial. 2017; Edição 62, Seção 1, Página 3.
20. Marangoni F, Pellegrino L, Verduci E, Ghiselli A, Bernabei R, Calvani R, et al. Cow's Milk Consumption and Health: A Health Professional's Guide. *J Am Coll Nutr.* 2019;38(3):197-208.
21. Charlton S, Ramsøe A, Collins M, Craig OE, Fischer R, Alexander M, et al. New insights into Neolithic milk consumption through proteomic analysis of dental calculus. *Archaeol Anthropol Sci* 2019;11(11):6183-96.
22. Brown A. Dating the onset of cereal cultivation in Britain and Ireland: the evidence from charred cereal grains. *Antiquity.* 2007;81(314):1042-52.
23. Curry A. Archaeology: The milk revolution. *Nature.* 2013;500(7460):20-2.
24. Kelly M, Grada CO. Numerare Est Errare: Agricultural Output and Food Supply in England Before and During the Industrial Revolution. *J Econ Hist.* 2013;73(4):1132-63.
25. Watts S. A mini review on technique of milk pasteurization. *J Pharmacognosy and Phytochemistry.* 2016;5(5):99-101.
26. Vilela D, Resende Jcd, Leite JB, Alves E. A evolução do leite no Brasil em cinco décadas. *Rev Pol Agrí,* 2017.
27. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). Pesquisa trimestral do leite. [acesso 17 set 2019]. Disponível em: <https://sidra.ibge.gov.br/tabela/1086>.
28. Lorenzetti DK. Influência do tempo e da temperatura no desenvolvimento de microrganismos psicotróficos no leite cru de dois estados da região sul [Dissertação] Curitiba, Paraná: Universidade Federal do Paraná, 2006. 71p.
29. Embrapa. Anuário Leite. 2019: Novos produtos e novas estratégias da cadeia do leite para ganhar competitividade e conquistar os clientes finais. São Paulo: Texto Comunicação Corporativa, 2019. Disponível em: <http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/1109959>.
30. Maia GBS, Pinto AR, Marques CYT, Roitman FB, Lyra DD. Produção leiteira no Brasil. BNDES Setorial, 2013.
31. Brasil. Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal. Rio de Janeiro: Diário Oficial da União. 1952; Seção 1, 10785.
32. Bacchi MD, Almeida ANd. Spatial analysis of milk production in Brazil. *Rev. Adm. São Paulo* , 2019, 48(2): 254-267.
33. Brasil. Portaria nº 56, de 8 de dezembro de 1999. Submete a consulta pública os regulamentos técnicos de padrão de identidade e qualidade de leite. Brasília: Diário Oficial da União. 1999; Seção 2, página 34.
34. Brasil. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa 51, de 18 de setembro de 2002. Brasília: Diário Oficial da União. 2002; Seção 1, página 34.
35. Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n. 62, de 29 de dezembro de 2011. Regulamento técnico de produção, identidade e qualidade do leite tipo A, o regulamento 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. Brasília: Diário Oficial da União. 2011; Seção 1, página 06-11.
36. Santos PA, Silva MAP, Souza CM, Isepon JS, Oliveira NA, Nicolau ES. Efeito do tempo e da temperatura de refrigeração no desenvolvimento de microrganismos psicotróficos

- em leite cru refrigerado coletado na macrorregião de Goiânia, GO. *Ciênc. anim. bras.*, 2009. 10(4), 1237-1245
37. Neves RBS et al. Avaliação Sazonal e Temporal da Qualidade do Leite Cru Goiano tendo como parâmetros a CCS e a CBT. *Arc Vet Sci*, 2019;1:24
38. Ivanov O, Radanski S. Application of Surface Photo Charge Effect for Milk Quality Control. *J Food Sci Journal*. 2009;74(7):R79-R83.
39. Fagnani R, Battaglini APP, Beloti V, Schuck J, Seixas FN, Carraro PE. Parâmetros físico-químicos e microbiológicos do leite em função da sazonalidade. *Rev. Inst. Lat. Cândido Tostes*. 2014;69(3):173.
40. Walstra P, Wouters JTM, Geurts TJ. *Dairy Science and Technology*. Second Edition ed: Taylor & Francis; 2005.
41. Ponce CP, Hernández R, González FHD, Dürr JW, Fontaneli RS. *Uso do leite para monitorar a nutrição e metabolismo de vacas leiteiras*, 2001.
42. Rigo EDC, Polmann G, Badia V, Becker AF. Comparação de Metodologias para determinação da Acidez Titulável de Leite UHT (Ultra High Temperature), Produzidos em diferentes estações do ano. *Revista do Congresso Sul Brasileiro de Engenharia de Alimentos*. 2019;4:125-40.
43. Dias JA, Antes FG. Qualidade físico-química, higiênico-sanitária e composicional do leite cru: indicadores e aplicações práticas da Instrução Normativa 62. In: Rondônia E, editor. *Base de Dados da Pesquisa Agropecuária (BDPA)*2014.
44. Zanela, MB. *Caracterização do leite produzido no Rio Grande do sul, ocorrência e indução experimental do Leite Instável Não Ácido (LINA)*. [Tese]. Pelotas: Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel; 2004.
45. Embrapa - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. *LINA - Leite Instável Não Ácido*. 2018; 356:1-13.
46. Brasil. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 68, de 12 de dezembro de 2006. Brasília: Diário Oficial da União. 2006; Seção 1, Página 06.
47. Shipe WF. Cryoscopy of Milk - Collaborative Comparison of Fiske and Hortvet Cryoscopes. *J Assoc Off Anal Chem*. 1961;44(3):438.
48. Chilliard Y, Ferlay A. Dietary lipids and forages interactions on cow and goat milk fatty acid composition and sensory properties. *Reprod Nutr Dev*. 2004;44(5):467-92.
49. Turck D. Cow's milk and goat's milk. *World Rev Nutr Diet*. 2013;108:56-62.
50. Coppock CE, Wilks DL. Supplemental fat in high-energy rations for lactating cows: effects on intake, digestion, milk yield, and composition. *J Anim Sci*. 1991;69(9):3826-37.
51. Brasil, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. *Anuário dos programas de controle de alimentos de origem animal do DIPOA*. Volume 5 (2019) – Brasília, DF: Secretaria de Defesa Agropecuária, Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal, Coordenação Geral de Programas Especiais, 2019: 48.
52. Ribas NP, Hartmann W, Monardes HGaA, Uriel Vinicius Cotarelli de. Sólidos totais do leite em amostras de tanque nos estados do Paraná, Santa Catarina e São Paulo. *Rev. Bras. Zootecnia*. 2014;33:2343-50.
53. Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. *Métodos Analíticos Oficiais Físico Químicos, para Controle de Leite e Produtos Lácteos*. Instrução Normativa nº 68 de 12 de dezembro de 2006. Brasília: Diário Oficial da União. 1996; Seção 1, página 8.
54. JianYong C, XiuMin J, LiJun H, HuiPing J, XiaoLi M. Determination of fat content in milk and dairy products by milk-fat analyzer. *Journal of Food Safety and Quality*. 2019;10:665-9.
55. Brasil, Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. *Manual de Métodos Oficiais para Análise de Alimentos de Origem Animal*. 2018. Brasília: MAPA. 2018.
56. ISO 9622 – Guidelines for the application of mid-infrared spectrometry, (2013-09).

57. N.A.F. Santos LML, A.C. Ribeiro , M.F.V. Lima , N.R. Galvão , M.M. Vieira , M.I.S. Silva , T.G.S. Tenório. Avaliação da Composição e Qualidade Físico-Química do Leite Pasteurizado Comercializado na Cidade De São Luíz, MA. *Arq Inst Biol.* 2020;78:109-13.
58. Santos MV, Fonseca LFL. Estratégias para controle de mastite e melhoria da qualidade do leite, 2007.
59. Pinto CLO, Martins MLV, Dantas MC. Qualidade microbiológica de leite cru refrigerado e isolamento de bactérias psicotróficas proteolíticas. *Food Sci Techno.* 2006; 26:645-51.
60. Franco BDGM, Landgraf M. *Microbiologia dos alimentos.* São Paulo: Atheneu; 2008.
61. Santos MV, Ma Y, Barbano DM. Effect of somatic cell count on proteolysis and lipolysis in pasteurized fluid milk during shelf-life storage. *J Dairy Sci.* 2003;86(8):2491-503.
62. Smigic N, Djekic I, Tomasevic I, Miocinovic J, Gvozdenovic R. Implication of food safety measures on microbiological quality of raw and pasteurized Milk. *Food Control.* 2012;25:728 e 31.
63. Tortora GJ, Funke BR, Case CL. *Microbiologia.* 10a ed: Artmed; 2012.
64. Boas Práticas Agropecuárias. Sindileite. Cir Gráfica e Editora Ltda 3ª edição. 2020.
65. Nornberg M, Friedrich RSC, Weiss RDN, Tondo EC, Brandelli A. Proteolytic activity among psychrotrophic bacteria isolated from refrigerated raw milk. *Int J Dairy Technol.* 2010;63(1):41-6.
66. Nunes KB. Caracterização bioquímica de bactérias psicotróficas e produção de enzimas termorresistentes em leite cru [Dissertação] . Alagoas: Universidade Federal de Alagoas; 2017.
67. Bueno VFF, Mesquita AJd, Oliveira AN, Nicolau ES, Neves RBS. Contagem bacteriana total do leite: relação com a composição centesimal e período do ano no Estado de Goiás. 2008.
68. Mesquita AA, Borges J, Pinto SM, Lugli FDF, Castro ACDO, Oliveira MRD, et al. Contagem bacteriana total e contagem de células somáticas como indicadores de perdas de produção de leite. *Pubvet.* 2018;12(6):1-8.
69. O'Connell A, Ruegg PL, Jordan K, O'Brien B, Gleeson D. The effect of storage temperature and duration on the microbial quality of bulk tank milk. *J. Dairy Sci.* 2016;99(5):3367-74.
70. Souza GN, Brito JRF, Moreira EC, Brito MAVP, Silva MVGB. Variação da contagem de células somáticas em vacas leiteiras de acordo com patógenos da mastite. 2009;61(5):1015-20.
71. Dohoo IR, Leslie KE. Evaluation of changes in somatic cell counts as indicators of new intramammary infections. *Prev Vet Med.* 1991;10(3):225-37.
72. Cardozo LL, Thaler Neto A, Souza GN, Picinin LC, Felipus NC, Reche NL, et al. Risk factors for the occurrence of new and chronic cases of subclinical mastitis in dairy herds in southern Brazil. *J. Dairy Sci.* 2015;98(11):7675-85.
73. Alhussien MN, Dang AK. Milk somatic cells, factors influencing their release, future prospects, and practical utility in dairy animals: An overview. *Vet World.* 2018;11(5):562-77.
74. Quintão LC, Cunha AFD, Bragança LJ, Coelho KS, Nunes MF, Saraiva LHG. Evolution and factors influencing somatic cell count in raw milk from farms in Viçosa, state of Minas Gerais. *Acta Sci.* 2017;39(4):393.
75. Almeida TV, Arnhold RBSN, E., Rezende CSM. , Oliveira AN. , Nicolau ES.. Efeito da temperatura e do tempo de armazenamento de amostras de leite cru nos resultados das análises eletrônicas. *Arq Bras Med Vet Zootec.* 2016.
76. Santos PA, Silva MAP, Anastácio PIB, Júnior HAS, Silva JW, Nicolau ES. Evaluation of storage time on parameters of quality of cooled raw milk. *Rev. Inst. Lat. Cândido Tostes.* 2009;64.
77. Muir D. The shelf-life of dairy products: 1. Factors influencing raw milk and fresh products. *Int J Dairy Technol.* 1996;49:24-32.

78. Adhikari A, Yemmireddy VK, Costello MJ, Gray PM, Salvadalena R, Rasco B, et al. Effect of storage time and temperature on the viability of *E. coli* O157:H7, *Salmonella* spp., *Listeria innocua*, *Staphylococcus aureus*, and *Clostridium sporogenes* vegetative cells and spores in vacuum-packed canned pasteurized milk cheese. *Int J Food Microbiol.* 2018;286:148-54.
79. Kuhn E, Meunier-Goddik L, Waite-Cusic JG. Effect of leaving milk trucks empty and idle for 6 h between raw milk loads. *J. Dairy Sci.* 2018;101(2):1767-76.
80. Júnior O, Vidal A, Salotti B, Bürger K, Vedovelli M, Cortez A. Estudo das características microbiológicas do leite UHT ao longo de seu processamento. 2006.
81. Santana E. Contaminação do leite por microrganismos aeróbios mesófilos, psicrotróficos e psicrotróficos proteolíticos em diferentes pontos do processo de produção leiteira.: Universidade Estadual de Londrina; 2001.
82. Silva MCDD, Silva JVLD, Ramos ACS, Melo RDO, Oliveira JO. Caracterização microbiológica e físico-química de leite pasteurizado destinado ao programa do leite no Estado de Alagoas. 2008;28(1):226-30.
83. Santos ES CE, Abreu LR. Psicotróficos: consequências de sua presença em leites e queijos: *Bol SBCTA*; 1999 2015-07-02.
84. Diego Prado de Vargas JLN, Renius de Oliveira Mello, Rudolf Brand Sheibler, Marcell Pazini Milani, Fernanda Cristina Breda Mello. Correlações entre contagem bacteriana total e parâmetros de qualidade do leite. *Rev. Bras. Ciência Veterinária.* 2013;20.
85. Reis KTMG, Souza CHBS, Santana EHW, Roig SM. Qualidade Microbiológica do Leite Cru e Pasteurizado Produzido no Brasil: Revisão. *J. Health Sci.* 2015;15:411-21
86. Batista CdS. Estudo de correlação entre a qualidade do leite cru refrigerado e do leite UHT integral: Instituto Federal do Sudeste de Minas Gerais; 2 [Dissertação] Rio Pomba, Minas Gerais. IF Sudeste Minas Gerais, 2015
87. Bersoti LS, Pereira JG, Barcelos VC, Zanette CM, Pierozan EA, Maziero MT. Comércio de leite cru: perfil do consumidor e caracterização microbiológica e físicoquímica do produto na região de Palotina - PR. *Rev. Inst. Lat. Cândido Tostes.* 2010. 65:373
88. Nero LA, Mattos MRD, Beloti V, Barros MDAF, Pinto JPDAN, Andrade NJD, et al. Leite cru de quatro regiões leiteiras brasileiras: perspectivas de atendimento dos requisitos microbiológicos estabelecidos pela Instrução Normativa 51. 2005;25(1):191-5.
89. Bueno VFF, Mesquita AJD, Oliveira AND, Nicolau ES, Neves RBS. Contagem bacteriana total do leite: relação com a composição centesimal e período do ano no Estado de Goiás. *Revista Brasileira de Ciência Veterinária.* 2008;15(1):40-4.
90. Tocchetto MRL, Lovato BF. Estudo da qualidade do leite in natura recebido pela Usina Escola de Laticínios da UFSM. 2013.[TCC]. Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria, 2013.
91. Arthur Inácio Medeiros de França MAPdS, Julliane Carvalho Barros MRdS, Rodrigo Balduino Soares Neves,, Luiz Eduardo Costa do Nascimento ESN. Quality of raw milk refrigerated granelizado collected in southwest goiano. *Rev. Inst. Lat. Cândido Tostes.* 2015;70:p. 316-25.
92. Santos AS, Silva AS, Santos MAJ, Santos MB, Silva RA. Avaliação físico-química de leite bovino utilizando pó de repolho roxo. Disponível em:. Congresso Brasileiro de Química, Química e sociedade: motores da sustentabilidade: anais; Natal, 2013.
93. Silva GWN, Leite KD, Oliveria MS, Sousa BAA Avaliação físico-química de leite in natura comercializado informalmente no sertão paraibano. *Revista Principia.* 2017;35:34-41.
94. Silveira MLR, Bertagnolli SMM. Avaliação da qualidade do leite cru comercializado informalmente em feiras livres no município de Santa Maria-RS. *Vigilância Sanitária em Debate.* 2014;2(2).

95. Caldeira LA, Vicente Ribeiro Rocha J, Fonseca CM, Melo LMd, Cruz AG, Oliveira LLdS. Caracterizacao Do Leite Comercializado Em Janauba - MG. Alimentos e Nutricao. Braz. J. Food Nutrit. 2020;21(2):191-6.
96. M. G. Paixão, E. C. Domingo, A. A. Gajo, L. M. Torres, L. R. Abreu, S. M. Pinto. Carretagem de Leite a Granel: Um estudo de Caso. Rev. Inst. Latic. "Cândido Tostes", Set/Out, nº 382, 66: 42-47, 2011