

Influência da refrigeração e avaliação da qualidade microbiológica do leite cru durante o período de armazenamento na fazenda.

Jaqueline Valéria Adamczuk¹; Giovanna Koppenhagen Fagundes²; Vanessa Gomes da Silva³

Resumo: O leite é um alimento completo, sendo um excepcional meio de cultivo para diversas bactérias principalmente as mesófilas e psicrotólicas. Para assegurar sua qualidade, o leite deve ser refrigerado imediatamente após a ordenha. Segundo a Instrução Normativa nº 62, o leite deve estar refrigerado com a temperatura igual ou menor a 4°C no tempo máximo de três horas após a ordenha. O objetivo deste trabalho é avaliar a qualidade microbiológica do leite cru durante o tempo de estocagem na propriedade, ou seja, avaliar a influência da refrigeração por um período de 48 horas de armazenagem. A pesquisa foi realizada em uma propriedade na cidade de Toledo- PR, as amostras foram coletadas diretamente do tanque de expansão em frascos estéril de 50 mL, com conservante azidiol. As coletas foram divididas em cinco tratamentos sendo: 0/ 3/ 12/ 24 e 48 horas. Após as coletas os frascos foram transportados até o laboratório acondicionado em caixas térmicas com gelo reciclável. A técnica de Análise empregada foi a citometria de fluxo, utilizando-se o aparelho Somacount® 500 e os resultados expressos em UFC/mL. Obtivemos nos respectivos tempos, $2,3 \times 10^4$; $2,8 \times 10^4$; $3,9 \times 10^4$; $4,1 \times 10^4$ e $4,5 \times 10^4$, com aumento significativo ($P > 0,05$) entre três e 12 horas. Observou-se a eficiência da refrigeração devido à manutenção dos níveis CPP dentro do exigido pela IN62.

Palavras-chave: Temperatura, Contagem bacteriana, Mesófilos, Tanques de resfriamento.

Cooling influence and evaluation of microbiological quality of raw milk during the storage period in dairy farm

Abstract: Milk is a complete food, being exceptional culture substrate for growing various bacteria mainly mesophilic and psychotrophic. To ensure the quality, milk should be refrigerated immediately after milking. According to Normative Instruction No. 62, milk must be cooled to the temperature equal to or below 4°C for a maximum time of three hours after milking. The objective of this study is to assess the microbiological quality of raw milk during storage time on the dairy farm, in other words, evaluate the influence of cooling for a period of 48 hours of storage. The research was conducted on a dairy farm in the city of Toledo-PR. Samples were collected directly from the expansion tank in bottles of 50 mL with azidiol. The collected were divided into five treatments such as 0/3/12/24 and 48 hours. After collecting, the samples were transported to the laboratory packed in coolers with ice packs. The analytical technique employed were flow cytometry, using Somacount® 500 and results were expressed as CFU/mL. Were obtained at the respective time time, $0,23 \times 10^2$; $0,28 \times 10^2$; $0,39 \times 10^2$; $0,41 \times 10^2$ e $0,45 \times 10^2$, with significant increase ($p > 0,05$) between three and twelve hours. Observed the efficiency of the cooling due to maintenance levels required by the CPP within the IN 62.

Key words: Temperature. Bacteriological Cell Count. Mesophilic. Cooling tanks

¹ Docente de Medicina Veterinária da Faculdade Assis Gurcaez - Pr. jaque_adamczuk@hotmail.com

² Médica Veterinária. Docente do Curso de Medicina Veterinária da Faculdade Assis Gurcaez – Pr. giovanna@kopenhagen.com.br

³ Médica Veterinária Mestre em Ciência Animal. vanessa.silva@uffs.edu.br

Introdução

O leite é um alimento completo, possuindo naturalmente mais de 100 substâncias, como proteínas, vitaminas, sais minerais, carboidratos, gordura e água (SILVA, 1997). Segundo a Instrução a Normativa N° 62, o leite e nada mais que o produto extraído de ordenhas completas e ininterrupta de vacas que devem estar em condições plenas de sanidade e higiene, bem alimentadas e descansadas (BRASIL, 2011).

O mesmo é considerado um alimento extremamente nutritivo ao homem além de ser um excepcional meio cultivo para diversas bactérias. O mesmo é extraído de vacas em plenas condições higiênico sanitárias, possuindo microrganismos naturais do animal, o que pode ser agravado com as condições ambientais, além de contaminações secundárias causadas pelo homem e utensílios (HORST, 2006; GUERREIRO, et al., 2005).

Entre as bactérias comumente encontradas no leite, temos o grupo das mesófilas como os *Lactobacilos*, *Streptococos*, *Estafilococos*, *Lactococos* e *Coliformes*, os quais podem se multiplicar rapidamente dependendo da temperatura do leite (ideal 10 e 45°C) outro grupo importante são as psicrotólicas as quais se multiplicam em temperaturas baixas (ideal 7-15°C), as mais comuns encontradas no leite são *Pseudomonas*, *Listeria monocytogenes*, e *Bacillus cereus* (BRITO et al, 2007; HORST, 2006).

A Contagem Padrão em Placas – CPP, também chamada de Contagem Bactéria Total – CBT é descrita como o reflexo da higiene tomada em torno da produção do leite, desde o animal até o resfriamento do produto final (ARCURI, 2006; BELOTI, 2011; RADOSTITIS, 2002).

O resfriamento imediato após a ordenha em temperatura abaixo de 4°C com condições adequadas de higiene sem dúvidas é um dos os principais pontos na produção de leite com qualidade, pois com a temperatura de armazenamento correto, diminui-se a taxa de multiplicação bacteriana (HORST, 2006; PACHECO, 2011). Segundo a Instrução Normativa n° 62 (2011), o leite deve estar refrigerado com a temperatura igual ou menor a 4°C no tempo máximo de três horas após a ordenha (BRASIL, 2011).

Problemas relacionados à temperatura, tempo de estocagem e falta de higiene, favorecem a multiplicação bacteriana, as quais em condições ideais se multiplicam rapidamente; e pela produção enzimas proteolíticas e lipolíticas termoestáveis que iniciam os processos de deterioração do leite (MONARDES, 2004; ALVES et al., 2006). Essas alterações irão gerar reflexos no processamento do leite, devido alterações das propriedades do leite como o aumento da acidez e degradação das proteínas. Tendo como resultado a

diminuição da vida de prateleira, sem falar do aparecimento de sabores indesejáveis (PACHECO, 2011).

Com o intuito de manter a qualidade do leite produzido o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA instituiu a Instrução Normativa nº 62, no ano de 2011, a qual prevê o limite máximo de CPP de 300 mil UFC/mL (BRASIL, 2011).

O objetivo deste trabalho foi avaliar a qualidade microbiológica do leite cru durante o tempo de estocagem na propriedade, ou seja, a influência da refrigeração por um período de 48 horas de armazenagem, além de correlacionar com a temperatura do mesmo.

Material e Métodos

A pesquisa foi realizada em uma propriedade localizada na cidade de Toledo- PR, a qual conta com 45 animais em lactação, possuindo sistema de ordenha canalizado e com extrator automático de teteiras da marca GMZ-300®. As amostras foram coletadas em frascos estéril de 50 mL, com o conservante azidiol, fornecidos pelo laboratório do PARLPR (Programa de Análise de Rebanhos Leiteiros do Paraná) retiradas diretamente do tanque de expansão.

As coletas foram divididas em cinco tratamentos sendo: zero, três, 12, 24 e 48 horas após as ordenhas. Onde a zero foi coletada logo após da primeira ordenha, seguido pela três horas, a qual por exigência da IN 62 deve estar à temperatura igual ou menor a 4°C, 12 horas contendo a segunda, terceira e quarta ordenha respectivamente ao tempo de estocagem.

Foram identificadas e transportadas até o laboratório acondicionado em caixas térmicas com gelo reciclável. A técnica de análise empregada foi a citometria de fluxo, utilizando-se o aparelho Somacount® 500 pelo método de referências IDF (2004). Os resultados foram expressos em UFC/mL.

Os resultados foram analisados pelo delineamento inteiramente casualizado pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade, do pacote estatístico ASSISTAT Versão 7.7 beta (2014).

Resultados e Discussão

Durante o período de armazenamento na propriedade observamos que a CPP teve um aumento significativo ($P>0,05$) entre três e 12 horas. Os resultados médios em cada tempo de estocagem estão representados na **Tabela 1**.

Tabela 1 – Médias dos resultados obtidos em cada tratamento

Tratamento (Hora)	Médias (x1000 UFC/mL)
0	23 b
3	28 b
12	39,33 a
24	41,66 a
48	48,66 a

As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si, ao nível de 5% de probabilidade.

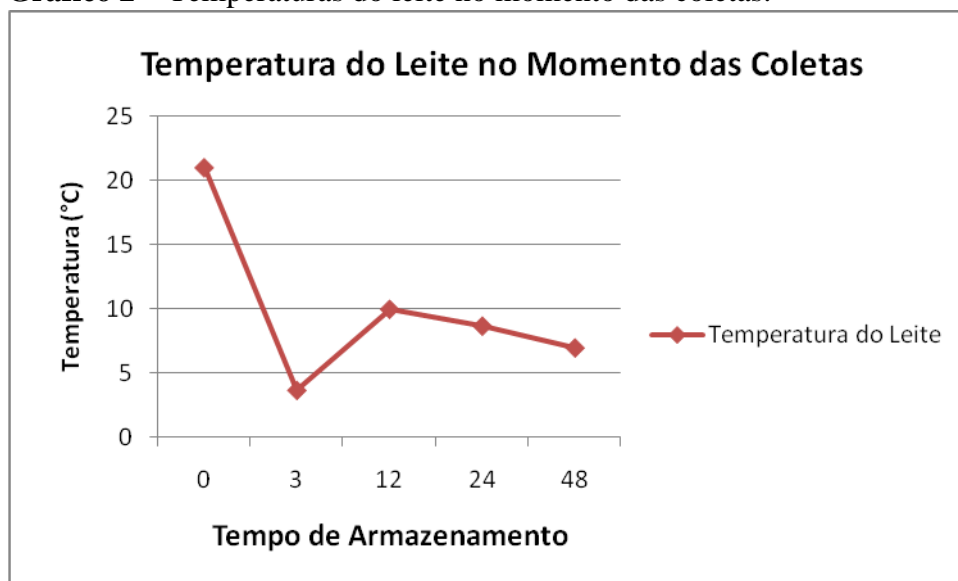
Fonte: Arquivo pessoal, 2014.

Mesmo com o aumento significativo entre os tratamentos três e 12 horas, os mesmos se encontram dentro das exigências previstas IN 62. E inferiores quando comparados com os estudos de Santos et al., (2008) e Moraes et al. (2012) onde obtiveram $5,3 \times 10^6$; $9,8 \times 10^5$; $2,5 \times 10^6$ e $4,3 \times 10^6$ e $1,4 \times 10^4$; $3,0 \times 10^4$; $3,1 \times 10^4$; $1,38 \times 10^5$ UFC/mL respectivamente nos tempos de zero, 24, 48 e 72 horas.

Segundo Santos e Fonseca (2001), Pereira (2011) e Adamczuk e Silva (2013) a qualidade do leite principalmente no que se reflete a CPP, sofre impactos direto de vários aspectos, entre os principais temos a sanidade do animal, o ambiente, além das boas práticas de manejo. A somatória de todos esses fatores resultara na contagem inicial do CPP. Podemos afirmar que é um dos possíveis motivos da CPP avaliada em nosso estudo manter-se baixa, não ultrapassar os limites exigidos pela legislação vigente.

Outro fator de grande importância para manutenção da qualidade do leite é a temperatura de refrigeração do tanque, uma vez que este visa reduzir a taxa de multiplicação das bactérias (FAGUNDES, et al., 2004; SANTOS, et al., 2008). Dessa forma podemos associar que a manutenção da CPP do estudo, foi influenciada também pela eficácia da refrigeração empregada no tempo de estocagem do leite na propriedade.

As temperaturas do leite no momento das coletas foram de 21°; 3,7°, 10°; 8,7° e 7°C (**Gráfico 2**) semelhante ao estudo de Pereira (2011) que teve no tanque A as temperaturas de 19°; 4°; 11°C e no tanque B 24° 5°C e 14°C nos tempos 0h; 3h e 24h respectivamente.

Gráfico 2 – Temperaturas do leite no momento das coletas.

Fonte: Arquivo pessoal, 2014.

Arcurri et al. (2006) e Taffarel et al. (2013), constataram que temperaturas de refrigeração no intervalo de 4 a 10°C, houve uma alta multiplicação de bactérias que apresentam atividades proteolíticas e lipolíticas, evidenciando o alto potencial de deterioração do leite, e ainda ressaltam a importância da rápida refrigeração imediatamente após da ordenha.

Santos et al. (2010) e Moraes et al. (2012), demonstram em seus estudos que o tempo de estocagem do leite na propriedade interfere diretamente na multiplicação bacteriana, principalmente em períodos superiores a 48 horas tempo máximo de permanência do leite na propriedade permitido pela IN 62 de 2011, a qual propõem que as coletas deveriam ser realizadas cada 24 horas para não sofrerem possíveis alterações (BRASIL 2011).

Conclusão

O leite estocado por um período de 48 horas na propriedade apresentou um aumento significativo na CPP entre os tratamentos três e 12 horas, porém não apresenta prejuízos ao produtor, pois manteve-se dentro dos limites instituídos na legislação vigente. Isso se explica principalmente devido à baixa contagem inicial somado com a eficácia da refrigeração.

Referências

ADAMCZUK, J. V.; SILVA, V. G. Qualidade do leite com base na contagem de células somáticas e contagem bacteriana total em leite cru refrigerado. **In:** 8º Congresso de Educação Agrícola Superior – ABEAS, Cascavel. 2013.

ALVES, R.N; PACIULLI, S.O.D.; ORTIZ, G.P.T; ARAUJO, R.A.M.B.; TELES, R.V.;

FONSECA, L.M.; COSTA, M.S. Influência da qualidade do leite “in natura” sobre as características físico-químicas do leite pasteurizado na indústria de laticínios do CEFET-Bambuí. **I Jornada Científica e VI FIPA do CEFET**. Bambuí Bambuí/MG – 2008

ARCURRI, E.F.; BRITO, M.A.V.P; BRITO, J.R.F.; PINTO, S.M.; ANGELO, F.F. SOUZA, G.N. Qualidade microbiológica do leite refrigerado nas fazendas. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.58, n.3, p.440-446, 2006

ASSISTAT - Assistência Estatística Por Prof. Dr. Francisco de Assis Santos e Silva Versão 7.7 beta, 2014.

BELOTI, V.; JÚNIOR, C.J.R.; TAMANINI, R.; YAMADA, A.K.; CAVALETTI, L.; NOVAES, D.G.; SILVA, F.F; GIOMBELLI, C.J.; MANTOVANI, F.D.; SILVA, M.R. Qualidade Microbiológica e Físico-Química do Leite Cru Refrigerado Produzido no Município de Sapopema/PR. **Revista Científica Eletrônica de Medicina veterinária**. Ano IX – N. 16. 2011

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa N^o- 62**, de 29 de Dezembro de 201. Brasília: Diário Oficial da União de 30 de dezembro de 2011.

BRITO, M.A. ; BRITO, J.R. ; ARCURI, E.; LANGE, C.; SILVA, M.; SOUZA, G. **Tipos de Microrganismos**. 2007. Disponível em: http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Agencia8/AG01/arvore/AG01_182_21720039246.html. Acessado em 20/03/2014.

FAGUNDES, M. C.; FISCHEN, V.; DA SILVA, W. P.; CARBONERA, N.; ARAÚJO, M. R. Presença de *Pseudomonas* spp em função de diferentes etapas da ordenha com distintos manejos higiênicos e no leite refrigerado. **In: Anais do XXI Congresso Nacional de Laticínios**. Juiz de Fora, p.290-293, 2004.

GUERREIRO, P. K.; MACHADO, M. R. F.; BRAGA, G. C.; GASPARINO, E.; FRANZENER, A. S. M. Qualidade microbiológica de leite em função de Técnicas profiláticas no manejo de produção. **Ciênc. agrotec.**, Lavras, v. 29, n. 1, p. 216-222, jan./fev. 2005.

HORST, J. A. Impacto da refrigeração na Contagem Bacteriana do leite. **In: MESQUITA, A.J.; DURR, J.W.; COELHO, K.O.** Perspectivas e avanços da qualidade do leite no Brasil. Goiânia: talento, 2006, v1,p.163-174.

International Dairy Federation 161: Milk – **Bacterial Count** – Protocol for the evaluation of alternative methods. Brusseis, Belgium, 2013.

MONARDES, H. Reflexões sobre a qualidade do leite. **In: DURR, J.W., CARVALHO, M.P., SANTOS, M.V.** O Compromisso com a Qualidade do Leite. Passo Fundo: Editora UPF, 2004, v.1, p. 11-37.

MORAIS, L. A.; SILVA, M. A. P.; CARMO, R. M.; SILVA, R. C. F.; VIEIRA, N. F.; MARTINS, Y.; ANDRADE, A. Influência do tempo de estocagem na qualidade do leite cru refrigerado. **I Congresso de Pesquisa e Pós-Graduação do Câmpus Rio Verde do IF Goiano**. Câmpus Rio Verde – GO, 2012.

PACHECO, M.S. **Leite cru refrigerado do agreste pernambucano: caracterização da qualidade e do sistema de produção.** 2011. Dissertação (Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos) Universidade Federal Rural de Pernambuco. Recife-PE.

PEREIRA, D. A. **Fatores impactantes na qualidade do leite de tanques comunitários na microrregião de Juiz de Fora – MG.** 2011. Dissertação (Mestre em Ciências e Tecnologia do Leite e Derivados) Universidade Federal de Juiz de Fora – MG.

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

SANTOS, M. V.; FONSECA, L. F. L. **Composição e propriedades físico-químicas do leite.** 2001. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – Curso de qualidade de leite. Disponível em: <<http://www.unitins.br/ates/arquivo/pecuaria/bovinocultura/bovinoculturaleite/qualidadedeleitoe2curso/qualidadedoleite01.pdf>> Acessado em 05/09/2014.

SANTOS, P. A.; SILVA, M. A. P.; ANASTÁCIO, P. I. B.; JÚNIOR, L. C. S.; ISEPON, J. S.; BNICOLAU, E. S. qualidade do leite cru refrigerado estocado por diferentes períodos. **Rev. Inst. Latic. “Cândido Tostes”**, Set/Out, n° 364, 63: 36-41, 2008.

SANTOS, V. M.; REBOUÇAS, C. M. S.; COELHO, K. O. Efeito Do Tempo De Armazenamento E Transporte Sobre A Contagem Bacteriana Total Do Leite Cru Refrigerado **In:** Anais do VIII Seminário de Iniciação Científica e V Jornada de Pesquisa e Pós-Graduação Universidade Estadual De Goiás. 2010.

SILVA, P.H.F. **Leite: Aspectos de Composição e Propriedades.** Química Nova na Escola N° 6, Novembro 1997. Disponível em: <http://qnesc.sbq.org.br/online/qnesc06/quimsoc.pdf>. Acessado em 21/03/2014.

TAFFAREL, L. E.; COSTA, P. B.; OLIVEIRA, N. T. E.; BRAGA, G. C.; ZONIN, W. J. Contagem bacteriana total do leite em diferentes sistemas de ordenha e de resfriamento. **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo, v.80, n.1, p.7-11, 2013.