



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS**  
**FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA**  
**ANIMAL E RECURSOS PESQUEIROS**



**AVALIAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E MICROBIOLÓGICA DE LEITE *IN***  
***NATURA* DE ORIGEM BÚBALINA PRODUZIDO NA REGIÃO DO**  
**BAIXO AMAZONAS**

**DANIELLY PIMENTEL DE OLIVEIRA**

**MANAUS - AMAZONAS**  
**Novembro, 2022**

**DANIELLY PIMENTEL DE OLIVEIRA**

**AVALIAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E MICROBIOLÓGICA DE LEITE *IN*  
*NATURA* DE ORIGEM BÚBALINA PRODUZIDO NA REGIÃO DO  
BAIXO AMAZONAS**

**Orientador: Carlos Victor Lamarão Pereira, Dr.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal e Recursos Pesqueiros - PPGCARP da Universidade Federal do Amazonas - UFAM como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciência Animal e Recursos Pesqueiros.

**MANAUS - AMAZONAS  
Novembro, 2022**

## Ficha Catalográfica

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

O48a Oliveira , Danielly Pimentel de  
Avaliação físico-química e microbiológica de leite in natura de  
origem búbalina produzido na região do Baixo Amazonas / Danielly  
Pimentel de Oliveira . 2022  
63 f.: il. color; 31 cm.

Orientador: Carlos Victor Lamarão Pereira  
Dissertação (Mestrado em Ciência Animal e Recursos  
Pesqueiros) - Universidade Federal do Amazonas.

1. Bactérias . 2. Doenças trasmistidas por alimentos . 3. Inspeção  
. 4. Leite cru . 5. Legislação . I. Pereira, Carlos Victor Lamarão. II.  
Universidade Federal do Amazonas III. Título

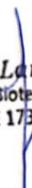
**DANIELLY PIMENTEL DE OLIVEIRA**

**AVALIAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E MICROBIOLÓGICA DE LEITE *IN*  
NATURA DE ORIGEM BÚBALINA PRODUZIDO NA REGIÃO DO  
BAIXO AMAZONAS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal e Recursos Pesqueiros da Universidade Federal do Amazonas, como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal e Recursos Pesqueiros, área de concentração em Produção Animal.

Aprovada em 11 de novembro de 2022.

**BANCA EXAMINADORA**

  
Victor Lamarão  
Prof. Dr. Biotecnologia  
SIAPE 1733200

Dr. Carlos Victor Lamarão Pereira - Presidente  
Universidade Federal do Amazonas



Dr. Pedro de Queiroz Costa Neto - Membro  
Universidade Federal do Amazonas



Dr. Anderson Mathias Pereira - Membro  
Universidade Federal do Amazonas

## AGRADECIMENTOS

À Deus, pelo dom da vida e por me proporcionar saúde, sabedoria, discernimento, força, fé e determinação para vencer os obstáculos sempre de cabeça erguida.

À minha mãe Sineuza de Oliveira Pimentel, essa guerreira que sempre esteve ao meu lado, apoiando, incentivando a jamais desistir dos meus objetivos, e ao meu pai Jorge Reis de Oliveira que sempre trabalhou muito para que eu e meus irmãos pudéssemos nós dedicar aos estudos, foram vocês que proporcionaram alcançar essa vitória por nós.

Ao meu tio Ronaldo Campos de Oliveira por todas as conversas de apoio e incentivo dado durante essa longa caminhada, muito obrigada por tudo.

Grata à Universidade Federal do Amazonas - UFAM por ser todos esses anos desde a graduação, “uma segunda casa”, oferecendo-me todos os recursos para que eu pudesse me desenvolver como pessoa e profissional.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal e Recursos Pesqueiros - PPGCARP pela disponibilidade de vaga, oportunidade de cursar o mestrado e desenvolver essa pesquisa.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas - FAPEM pela bolsa conferida.

Ao meu Orientador, Professor Dr. Carlos Victor Lamarão Pereira por todo conhecimento cedido durante o período de mestrado, obrigado principalmente pela orientação, ensinamentos, correções, por ser paciente, acessível e pela oportunidade de fazer parte do seu grupo de pesquisa. Enfatizo o privilégio de ter um diálogo aberto e sincero entre professor e aluna, que tornou tudo mais proveitoso. Tenho certeza que fiz um grande amigo o qual tenho uma enorme admiração e carinho. Minha gratidão será eterna.

Ao Professor Dr. Pedro Queiroz pelos conhecimentos repassados e pela sua boa vontade sempre atendendo quando solicitado, meu muito obrigada!

À todos os professores da pós-graduação que repassaram conhecimentos, experiências e contribuíram com meu crescimento profissional e pessoal durante esses anos de mestrado. Minha gratidão.

Às propriedades rurais que se disponibilizaram e abriram as portas para que pudéssemos cumprir nossos objetivos.

Aos meus colegas Ana Rebeca, Armando Prestes, Edson Rodrigues, Ercvânia Rodrigues, Gilvan Ramos, Maria Letícia, Rita Brito e Rodolfo Moura, pela convivência, trocas de experiências, amizade, companheirismo e parceria durante o decorrer dessa caminhada.

A minha gratidão a Leana Livramento por ser determinada, paciente e prestativa. Obrigada por todo apoio durante a pesquisa, obtivemos conhecimentos e experiências juntas, os quais foram essenciais para a conclusão dessa pesquisa.

Por fim, agradeço à todos que direta ou indiretamente ajudaram na realização dessa conquista. Deus abençoe a todos. Minha eterna gratidão!

*"Seja você quem for, seja qual for a posição social que você tenha na vida, a mais alta ou a mais baixa, tenha sempre como meta muita força, muita determinação e sempre faça tudo com muito amor e com muita fé em Deus, que um dia você chega lá. De alguma maneira você chega lá."*

**Ayrton Senna**

## RESUMO

O leite é um fluido secretado pela glândula mamária da fêmea, com principal função de servir como alimento exclusivo para recém-nascidos por suprir suas exigências nutricionais, sendo um produto de grande importância para alimentação humana devido a sua composição físico-química e nutricional. Entretanto, devido a estes fatores, o leite é considerado um meio de cultura favorável para o desenvolvimento de microrganismos contaminantes que pode afetar a qualidade físico-química e microbiológica desta matriz alimentícia. Tendo em vista que a pecuária leiteira representa importante papel social e econômico para a região Norte, esta pesquisa teve como objetivo avaliar as características físico-químicas e microbiológica do leite de búfala produzido na região do Baixo Amazonas. As amostras de leite *in natura* foram coletas em 14 propriedades rurais, sendo realizada sete coletas no município de Parintins e sete no município de Barreirinha, ambos do estado do Amazonas, localizados na região do Baixo Amazonas. As análises microbiológicas realizadas foram contagem padrão de bactérias aeróbias mesófilas, bolores e leveduras, psicrotróficos, coliformes a 35 e 45 °C, *Staphylococcus coagulase* positiva e *Salmonella* spp. As variáveis físico-químicas analisadas foram: Teor de gordura (GORD), extrato seco desengordurado (ESD), proteínas (PROT), lactose (LACT) e densidade. O valor do extrato seco total (EST) foi encontrado a partir da soma entre gordura e extrato seco desengordurado. As análises de acidez em Dornic foram realizadas de acordo com os métodos citados pela Instrução Normativa nº 62, do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. As análises de proteína, extrato seco desengordurado e acidez em Dornic apresentaram resultados mínimos de 2,64%, 7,44% e 12 °D, respectivamente, estando em desacordo com a legislação vigente. Para as análises microbiológicas, observou-se altas contagens de contaminação por microrganismos patogênicos e deteriorantes. Conclui-se a partir dos resultados das amostras analisadas que o leite *in natura* de búfalas produzido nas propriedades rurais apresenta baixa qualidade devido as alterações físico-químicas e presença de microbiota deteriorante, com impacto na qualidade da matéria-prima, podendo representar risco à saúde dos consumidores. As altas contagens indicam falhas na higiene da ordenha e práticas de fabricação insatisfatórias que devem ser corrigidas durante todo o processo de produção de leite.

**Palavras-chaves:** Bactérias; DTA; Inspeção; Leite cru; Legislação.

## ABSTRACT

Milk is a fluid secreted by the female mammary gland, with the main function of serving as exclusive food for newborns to meet their nutritional requirements, being a product of great importance for human consumption due to its physical-chemical and nutritional composition. However, due to these factors, the milk is considered a favorable culture medium for the development of contaminating microorganisms that can affect the physicochemical and microbiological quality of this food matrix. Considering that dairy farming represents an important social and economic role for the North region, this research aimed to evaluate the physicochemical and microbiological characteristics of buffalo milk produced in the lower Amazonas region. Fresh milk samples were collected from 14 rural properties, seven of which were collected in the municipality of Parintins and seven in the municipality of Barreirinha, both in the state of Amazonas, located in the Lower Amazonas region. The microbiological analyzes performed were standard counts of aerobic mesophilic bacteria, molds and yeasts, psychrotrophs, coliforms at 35 and 45 °C, *coagulase* positive *Staphylococcus* and *Salmonella* spp. The physicochemical variables analyzed were: Fat content (GORD), defatted dry extract (ESD), proteins (PROT), lactose (LACT) and density. The total dry extract (EST) value was found from the sum of fat and defatted dry extract. The analysis of acidity in Dornic were carried out according to the methods mentioned by Normative Instruction n° 62, of the Ministry of Agriculture, Livestock and Supply. The analysis of protein, defatted dry extract and acidity in Dornic showed minimum results of 2,64%, 7,44% and 12 °D, respectively, in disagreement with current legislation. For microbiological analyses, high counts of contamination by pathogenic and deteriorating microorganisms were observed. Based on the results of the analyzed samples, it can be concluded that the *in natura* milk of buffaloes produced on rural properties has low quality due to physical-chemical changes and the presence of deteriorating microbiota, with an impact on the quality of the feedstock, which may represent a risk to health of consumers. High counts indicate flaws in milking hygiene and unsatisfactory manufacturing practices that must be corrected throughout the milk production process.

**Keywords:** Bacteria; DTA; Inspection; Raw milk; Legislation.

## LISTA DE SIGLAS

AM - Aeróbios mesófilos

BDA - Ágar batata dextrose acidificado  
BHI - Brain Heart Infusion (Infusão de Cérebro  
Coração)

B/L - Bolores e leveduras

BPF - Boas Práticas de Fabricação

BPA - Ágar Baird-Parker

CBT - Carga bacteriana total

CT - Coliformes totais

CTt - Coliformes termotolerantes

DTAs - Doenças transmitidas por alimentos

ESD - Extrato seco desengordurado

EST - Extrato seco total

GORD - Gordura

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

LACT - Lactose

LIA - Lisine Iron Agar (Ágar lisina ferro)

MAPA - Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento

NMP - Número mais provável

PCA - Plate Count Agar (Ágar Padrão de Contagem)

PROT - Proteína

RIISPOA - Regulamentação da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal

SIM - Ágar Sulfeto Indol Motilidade

TPOA - Tecnologia de Produtos de Origem Animal

TSI - Triple Sugar Iron Agar (Ágar triplo açúcar ferro)

VB - Ágar Verde Brilhante

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Médias e desvio padrão da composição físico-química do leite de búfala produzido na região do Baixo Amazonas .....	35
<b>Tabela 2.</b> Contagens médias de microrganismos em amostras de leite de búfala, coletadas em 14 propriedades rurais localizadas nos municípios de Parintins e Barreirinha - Amazonas .....	40
<b>Tabela 3.</b> Parâmetros preconizados pela Instrução Normativa n° 77 do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento - MAPA (BRASIL, 2018).....	44

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> - Bubalinos em área alagada em comunidade rural no Amazonas. Fonte: Arquivo pessoal (2020).....	17
<b>Figura 2</b> - Visita na propriedade rural. Fonte: Arquivo pessoal (2020).....	28
<b>Figura 3</b> - Homogeneização do leite (A) e conservação do leite (B). Fonte: Arquivo pessoal (2020).....	29
<b>Figura 4</b> - Aplicação do check-list. Fonte: Arquivo pessoal (2020).....	30
<b>Figura 5</b> - Analisador de Leite Master Complete (A) e realização das análises físico-químicas (B). Fonte: Arquivo pessoal (2020).....	31
<b>Figura 6</b> - Análises de acidez em °Dornic. Fonte: Arquivo pessoal (2020). ....	32
<b>Figura 7</b> - Locais onde se realizava ordenha. Fonte: Arquivo pessoal (2020). ....	45
<b>Figura 8</b> - Ordenha manual. Fonte: Arquivo pessoal (2020).....	46
<b>Figura 9</b> - Água utilizada na higienização dos utensílios, consumo e manejo dos animais. Fonte: Arquivo pessoal (2020).....	47
<b>Figura 10</b> - Utensílios usados (baldes plásticos) pelos produtores. Fonte: Arquivo pessoal (2020).....	48

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	155
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	16
<b>2.1 Objetivo geral</b> .....	16
<b>2.2 Objetivos específicos</b> .....	16
<b>3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	17
3.1 Cenário atual da bubalinocultura no Brasil.....	17
3.2 Características gerais do leite de búfala.....	18
3.3 Qualidade do leite .....	19
<b>3.3.1 Fatores que afetam a qualidade do leite</b> .....	19
3.4 Contaminação microbiana do leite <i>in natura</i> .....	20
<b>3.4.1 Microrganismos psicrotróficos</b> .....	20
<b>3.4.2 Microrganismos mesófilos aeróbios</b> .....	21
<b>3.4.3 Bolores e leveduras</b> .....	21
<b>3.4.4 Coliformes termotolerantes</b> .....	22
<b>3.4.5 <i>Staphylococcus coagulase positiva</i></b> .....	22
<b>3.4.6 <i>Salmonella spp.</i></b> .....	23
3.5 Importância dos parâmetros físico-químico na qualidade do leite .....	23
<b>3.5.1 Acidez titulável</b> .....	24
<b>3.5.2 Densidade relativa a 15 °C</b> .....	24
<b>3.5.3 Gordura</b> .....	24
<b>3.5.4 Extrato seco total e extrato seco desengordurado</b> .....	25
<b>3.5.5 Proteína</b> .....	25
3.6 Boas práticas de higiene na ordenha.....	25
3.7 Importância do leite na saúde pública.....	26
3.8 Boas Práticas de Fabricação (BPF).....	27
<b>4 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	27

4.1 Delineamento da pesquisa .....	27
<b>4.1.1 Coletas e transportes das amostras</b> .....	28
4.2 Aplicação da lista de verificação nas propriedades rurais .....	29
4.3 Avaliação da qualidade físico-química do leite bubalino .....	30
<b>4.3.1 Acidez titulável, Método B - °Dornic</b> .....	31
4.4 Avaliação da qualidade microbiológica do leite <i>in natura</i> .....	32
<b>4.4.1 Preparo e diluições das amostras</b> .....	32
<b>4.4.2 Contagem de coliformes totais e coliformes termotolerantes</b> .....	32
<b>4.4.3 Contagem de bolores e leveduras</b> .....	33
<b>4.4.4 Contagem de microrganismos aeróbios mesófilos e microrganismos psicrotróficos</b> .....	33
<b>4.4.5 Detecção <i>Salmonella</i> spp.</b> .....	33
<b>4.4.6 Contagem de <i>Staphylococcus coagulase</i> positiva</b> .....	34
4.5 Análise estatística .....	34
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	34
5.1 Análise físico-química do leite <i>in natura</i> .....	35
5.2 Análises microbiológicas .....	39
5.3 Avaliação das boas práticas de higiene na ordenha .....	43
<b>5.3.1 Higiene da ordenha</b> .....	43
<b>6 CONCLUSÃO</b> .....	48
<b>7 REFERÊNCIAS</b> .....	49
<b>8 ANEXO</b> .....	63

## 1 INTRODUÇÃO

Na região Norte o desenvolvimento da pecuária leiteira, é uma das atividades predominantes nas pequenas propriedades rurais, que apresentam, em geral, baixo nível tecnológico. Em razão dessa estrutura, o diagnóstico desse sistema de produção deve ser levado em consideração às particularidades da agricultura familiar, pois o sistema de criação no Amazonas é extensivo, sendo a pastagem com baixo valor nutricional a principal fonte alimentícia dos rebanhos (SENA et al., 2012).

Os alimentos destinados à alimentação diária são produzidos, manipulados e consumidos muitas vezes em meio a um ambiente contaminado com grande diversidade e quantidade de microrganismos e parasitos (RIEDEL, 1995). Há procedimentos que contribuem para o risco de contaminação dos alimentos, processos que permitem a sobrevivência de microrganismos e práticas de armazenamento que possibilitam a proliferação microbiana.

Durante todo o processo de produção de leite e beneficiamento, a contaminação microbiana dos alimentos é indesejável e, até mesmo, prejudicial. Esse aspecto é enfrentado com tal rigor que para se conhecer a existência de possíveis deficiências higiênicas-sanitárias, que provocariam a contaminação do alimento, busca-se verificar a presença de microrganismos indicadores de má qualidade higiênica e de microrganismos patogênicos (SALOTTI et al., 2006).

Em algumas localidades no Amazonas, o leite ainda é obtido sob condições higiênico-sanitárias deficientes e, em consequência, apresenta elevado número de microrganismos, o que constitui um risco à saúde da população, principalmente quando consumido sem tratamento térmico (CATAO; CEBALLOS, 2001). Dessa forma, o monitoramento da qualidade do leite é indispensável para verificar sua integridade. Para que o leite de búfala e seus derivados sejam utilizados na dieta humana é necessário que estes apresentem boas condições higiênico-sanitárias em todas as etapas de produção, a fim de evitar a presença de microrganismos patogênicos e/ou deteriorantes nos produtos finais.

O leite de búfala e seus derivados tem representatividade econômica e social na região Norte do país, nesse contexto buscou-se avaliar a qualidade higiênico-sanitária do leite *in natura* de origem bubalina produzido na região do Baixo Amazonas, pois esse estudo permitirá produzir informações científicas que possam contribuir com os programas governamentais dos municípios que serão estudados.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo geral**

Avaliar a qualidade físico-química e microbiológica do leite *in natura* de origem bubalina produzido na região do Baixo Amazonas.

### **2.2 Objetivos específicos**

Avaliar os parâmetros físico-químicos do leite *in natura* produzido na região do Baixo Amazonas, comparando os resultados obtidos com os padrões estabelecidos pela Instrução Normativa nº 76, de 26 de novembro de 2018;

Avaliar a ocorrência de microrganismos indicadores da qualidade higiênica e sanitária em amostras de leite *in natura*;

Identificar a ocorrência de microrganismos potencialmente patogênicos como *Salmonella* spp. e *Staphylococcus coagulase* positiva;

Verificar se as boas práticas de produção leiteira são adotadas pelos produtores rurais da região do Baixo Amazonas.

### 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 Cenário atual da bubalinocultura no Brasil

Embora os bubalinos tenham sido introduzidos no Brasil há apenas 110 anos (VIEIRA et al., 2011), o país é um dos maiores centros de criação fora da Ásia, ou seja, concentra o maior rebanho de bubalinos nas Américas (NETO et al., 2020). O efetivo nacional de bubalinos contabilizados no ano de 2021, segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), foi de 109.720 cabeças no Amazonas, com destaque para os municípios de Autazes, Itacoatiara, Parintins e Barreirinha e 1.551.618 cabeças no Brasil, (IBGE, 2021).

A expansão da bubalinocultura se deve às ótimas características zootécnicas dos bubalinos em comparação aos bovinos, tais como precocidade, longevidade e prolificidade (VIEIRA et al., 2011), aliadas à adaptabilidade a diferentes topologias, solos e condições climáticas (Figura 1); (SANTOS et al., 2017).

Figura 1 - Bubalinos em área alagada em comunidade rural no Amazonas



Fonte: Arquivo pessoal (2020).

Em muitas áreas da Amazônia, a criação de bubalinos foi e continua sendo uma atividade capaz de incluir pequenos produtores no cenário agropecuário devido à tripla aptidão dos bubalinos (força motriz para tração e produção de leite e carne) e, também, à capacidade

destes animais para engordarem com forragens “grosseiras”, convertendo pastagens nativas em satisfatórios ganhos de peso (VIEIRA et al., 2011).

A superior qualidade nutricional da carne e leite bubalino, em comparação aos originados por bovinos, soma-se à gama de atrativos que tem angariados pecuaristas no país. A carne, por exemplo, apresenta menor quantidade de colesterol (25,8%) e similar teor proteico (VIEIRA et al., 2011). Em adição, vários estudos indicam que as análises sensoriais apresentam resultados de melhor aceitação pela carne bubalina em relação à bovina, com destaque para superior suculência e maciez (MARQUES et al., 2016). O leite, por sua vez, apresenta maior teor sólidos totais, incluindo proteínas (2,3 vs 3,8%) e gorduras (2,2 vs 5,9%) (GUIMARÃES; SILVA; LÊNTHOLA, 2015), o que contribui para melhor rendimento de derivados lácteos (de 29 a 41%) e, potencialmente, melhor retorno financeiro ao produtor (MACHADO, 2014).

Nas últimas décadas, os produtores brasileiros notaram o aumento da demanda por derivados de leite de búfala e incrementaram investimentos nesta atividade (MACHADO, 2014). Esta afirmação é corroborada pelo crescente efetivo de bubalinos dentro da região Norte e, também, em Estados fora dela (como São Paulo e Maranhão) (IBGE, 2017), indicando que a criação de bubalinos tem sido considerada como nova opção produtiva para os produtores rurais, sejam eles de pequeno, médio ou grande porte (CARVALHAL; COSTA, 2018).

### 3.2 Características gerais do leite de búfala

A industrialização do leite de búfala tem representatividade econômica e social na região Norte do país (BITTENCOURT et al., 2013). O leite de búfala é relativamente mais resistente à contaminação microbiológica quando comparado ao leite de vaca, fato que pode estar relacionado à enzima endógena lisozima (BENKERROUM, 2010).

Embora o leite de búfala não apresente pró vitamina A - o  $\beta$ -caroteno que confere coloração amarelada à gordura do leite de vaca, ele contém as vitaminas A, B, C, E e K (SHINDHU; ARORA, 2011). A concentração de vitamina B12, por exemplo, é cerca de quatro vezes maior no leite de búfala do que no leite de vaca (EL-SALAM; EL-SHIBINY, 2011). Quanto aos minerais, o leite de búfala apresenta elevada concentração de cálcio (Ca) e quantidades significativas de fósforo (P), magnésio (Mg), sódio (Na) e potássio (K) (EL-SALAM; EL-SHIBINY, 2011).

Além disso, possui menor concentração de colesterol e maiores teores de proteínas e gorduras quando comparado ao de vaca (OLIVIERI, 2004; PEREIRA JUNIOR; FERNANDES;

MÜLLER, 2009). A gordura é o constituinte do leite que apresenta maior valor econômico, contribuindo para sabor e textura característicos do leite e seus derivados, tais como iogurte, doce de leite, sorvete e, principalmente, distintos tipos de queijos (MACHADO, 2014; GUIMARÃES; SILVA; LÊNTHOLA, 2015; JACOB et al., 2017).

### 3.3 Qualidade do leite

A qualidade do leite está diretamente relacionada à saúde, nutrição, manejo dos animais, qualificação da mão-de-obra, higiene dos equipamentos e utensílios utilizados durante a ordenha, (PINNA; LIZIEIRE, 2000). A qualidade deve ser entendida também, como um conjunto de atributos de produtos ou serviços que os tornam adequados para satisfazer os desejos do consumidor, incluindo-se entre estes atributos os requisitos de segurança alimentar. Atualmente, os consumidores estão exigindo, cada vez mais, que todos os alimentos, inclusive os produtos lácteos, sejam seguros, nutritivos e tenham sabor de um produto fresco. Dessa forma, a qualidade do leite é hoje um dos temas mais discutidos no cenário da pecuária nacional e isso se deve à grande participação que esse produto tem no setor socioeconômico do país (ZOCCAL et al., 2008).

Assim, a importância do controle de qualidade como ferramenta de comercialização cresce à medida que os atributos dos produtos passam a ser afetados, a ponto de permitir a sua diferenciação e escolha por parte do consumidor. Esses atributos podem ser medidos pela qualidade sensorial tais como: sabor, aparência, odor, textura, valor nutricional (composição) e grau de segurança envolvendo a qualidade microbiológica, presença de resíduos, entre outros (ALVES et al., 2008).

#### **3.3.1 Fatores que afetam a qualidade do leite**

Os fatores que afetam a composição do leite estão relacionados com a raça do animal, a frequência de ordenha e a maneira de ordenhar. Para a manutenção dos níveis adequados dos componentes do leite é necessária uma ração balanceada, rica em carboidratos, aminoácidos essenciais e proteína de alta qualidade (VIEIRA et al., 2005). Com uma alimentação sadia e abundante o funcionamento da glândula mamária e a síntese de todas as substâncias vão auxiliar a formação do leite. Quando se ministra uma ração equilibrada, a composição do leite não é alterada, outro fator imprescindível para a saúde animal é o fornecimento de água (SILVA NETTO et al., 2006).

A ordenha é outro fator que pode afetar a qualidade do leite, a primeira ordenha produz um maior volume de leite com menor teor de gordura. Ao contrário, na segunda ordenha, o leite é rico em gordura e a produção diminui. O descanso noturno promove a quantidade de leite e os exercícios diurnos favorecem a formação de gordura (VIEIRA et al.,2005).

### 3.4 Contaminação microbiana do leite *in natura*

O leite é um excelente meio de cultura podendo ser facilmente contaminado por diferentes grupos de microrganismos. Quanto ao aspecto microbiológico, além dos microrganismos benéficos presentes, ou seja, aqueles que auxiliam no processo de produção de derivados lácteos, podem existir microrganismos deteriorantes e patogênicos originários do interior da glândula mamária, da superfície dos tetos e do úbere, dos utensílios, como os equipamentos de ordenha e de armazenamento, e de várias fontes do ambiente da fazenda (FRANCO; LANDGRAF, 1996).

As alterações microbianas que ocorrem no leite devem-se, principalmente, pela sua composição físico-química variada. A contaminação microbiológica nos alimentos representa um perigo para a saúde pública podendo colocar em risco a saúde do consumidor, uma vez que o leite e os produtos lácteos podem veicular microrganismos patogênicos associados a surtos de origem alimentar, além de ocasionar prejuízos econômicos aos produtores e indústrias (REZER, 2010).

Berry *et al.* (2006), relataram que, apesar da maioria das bactérias encontradas no leite cru não serem patogênicas e que são em sua maioria destruídas pelo processo de pasteurização, o monitoramento da carga bacteriana total (CBT) do leite dos tanques de refrigeração é fundamental para desenvolver nos consumidores a confiança em relação à qualidade.

#### 3.4.1 Microrganismos psicrótrópicos

As bactérias psicrótrólicas causam degradação das proteínas e da gordura do leite, com conseqüentes alterações no sabor, odor e redução da consistência na formação do coágulo para fabricação de queijo. A ação deletéria resulta de proteases e lipases termoestáveis, ataque proteolítico à caseína e aumento dos compostos nitrogenados de baixo peso molecular, que atuam como nutrientes para os contaminantes pós-pasteurização (COUSIN, 1982).

Na grande maioria, as bactérias psicrotróficas são mesófilicas, isto é, a temperatura ótima de multiplicação é entre 25 a 35 °C. Entretanto, possuem a capacidade de se multiplicar a baixas temperaturas, embora de forma mais lenta. A contaminação com essas bactérias se dá, geralmente, devido a falhas nos processos de higienização dos tetos antes da ordenha e a falhas nos sistemas de limpeza e sanitização dos equipamentos de ordenha, tanque de refrigeração ou utensílios que entram em contato com o leite (BRITO, 2000).

### **3.4.2 Microrganismos mesófilos aeróbios**

São microrganismos que possuem temperatura ótima de crescimento de 25 a 40 °C. Dentre os mesófilos, os microrganismos patogênicos apresentam temperatura ótima de cerca de 37 °C. Os mesófilos incluem a maioria dos organismos deteriorantes e patogênicos (TORTORA et al., 2012).

Os resultados obtidos em uma análise de contagem de mesófilos e psicrotróficos são úteis para avaliar as condições de processamento do alimento. Contagens elevadas possibilitam a obtenção de informações gerais sobre a qualidade dos produtos, práticas de manufatura, matérias primas, condições de processamento e manipulação (SILVA et al., 2017), bem como influenciarão na diminuição do período de vida útil desses produtos, resultando na sua deterioração (HAJDENWURCEL, 1998).

### **3.4.3 Bolores e leveduras**

As leveduras, são agentes potenciais de deterioração, sendo uma das consequências do seu desenvolvimento no produto a elevação do pH, criando condições para o crescimento de outros microrganismos, inclusive patogênicos, desde que atinja valores superiores a 4,5. As mesmas desenvolvem turbidez, floculação, película e depósito. Elas podem ainda degradar ácidos orgânicos, promovendo o aumento de pH e formar o acetaldeído contribuindo também na fermentação de açúcar (SILVA, 2003).

A presença de bolores e leveduras viáveis em um índice muito elevado nos alimentos pode indicar condições higiênico-sanitárias insatisfatórias de equipamentos, multiplicação no produto em decorrência de falhas no processamento ou estocagem e matéria-prima com contaminação excessiva (FRANCO; LANDGRAF, 2008). Para controle de bolores e leveduras

é necessário excelente higiene da planta de processamento, pois estes deteriorantes são contaminantes amplamente distribuídos no ambiente (ZACARCHENCO, 2011).

#### **3.4.4 Coliformes termotolerantes**

Os coliformes são bastonetes Gram-negativos, não esporulados, que fermentam lactose com produção de gás, dentro de 48 horas. De modo geral, são representados por bactérias de quatro gêneros: *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia* e *Klebsiella*. Considerando que *Escherichia coli* é o melhor indicador de contaminação fecal que os outros gêneros citados, é desejável que seja determinada sua incidência em uma população de coliformes. Números baixos de coliformes são permitidos em alimentos susceptíveis. A pesquisa do número mais provável de coliformes fecais é utilizada como indicador de contaminação direta ou indireta de origem fecal (JAY, 2005).

Os coliformes estão muito difundidos na natureza e podem ser detectados em vários tipos de alimentos, mas não indicam, necessariamente, uma contaminação de origem fecal, no sentido de envolver contato direto com fezes. A presença destes microrganismos no leite in natura é frequentemente atribuída a práticas inadequadas de higiene durante a ordenha e etapas subsequentes de processamento do produto (MORENO et al., 1999). O teste para detecção de coliformes em leite tem a finalidade de avaliar as condições sanitárias de produção. A utilização do grupo coliforme como indicador das condições higiênico-sanitárias em alimentos é uma prática estabelecida há muitos anos. Dos agentes bacterianos, os coliformes são intencionalmente considerados microrganismos indicadores da segurança microbiológica de alimentos (ANTUNES et al., 2002).

#### **3.4.5 *Staphylococcus coagulase* positiva**

Conforme Franco e Landgraf (2008), *S. coagulase* positiva é um indicador de falha de higiene durante manipulação, sendo encontrado em seres humanos e animais de sangue quente. Está presente principalmente nas vias nasais, garganta, pele e cabelos, além do úbere de vacas contaminadas, podendo ocorrer contaminação do leite. Almeida Filho e Nader Filho (2000) ressaltaram que o leite destinado à fabricação de queijos muitas vezes se contamina já no interior do úbere, especialmente nos casos de mastite. *Staphylococcus aureus* é o principal agente

etiológico desta enfermidade e, uma vez instalado na glândula mamária poderá chegar ao leite e conseqüentemente ao queijo (TRABULSI; ALTHERTHUM, 2015).

*Staphylococcus aureus* é um dos agentes patogênicos mais comuns, responsável por surtos de intoxicação de origem alimentar pela enterotoxina estafilocócica (CUNHA NETO et al., 2002). Essa intoxicação alimentar é proveniente da ingestão de alimentos contendo toxinas microbianas pré-formadas, produzidas durante a intensa proliferação dos microrganismos patogênicos no alimento (FRANCO; LANDGRAF, 2008).

#### **3.4.6 *Salmonella* spp.**

*Salmonella* spp. são bastonetes, Gram-negativos, anaeróbios facultativos, pertencentes a família Enterobacteriaceae. São móveis devido à presença de flagelos peritríquios ou imóveis, não formam esporos, quimiorganotróficas, possuindo metabolismo oxidativo e fermentativo. Produzem ácido e gás a partir da glicose e de outros carboidratos. São catalase positivas e oxidase negativas (HAJDENWURCEL, 1998).

A temperatura ideal para multiplicação é 35 a 37 °C, sendo a mínima de 5 e a máxima 47 °C. Vários estudos indicam, que valores máximo e mínimo dependem do sorotipo (FRANCO; LANDGRAF, 2008).

Normalmente é encontrada no trato intestinal de animais domésticos e silvestres, especialmente aves e répteis e tem como principal veículo de disseminação os alimentos e a água, sendo comumente observada em queijo coalho (ÁVILA; GALLO, 1996; FEITOSA et al., 2003). Os principais veículos de transmissão são alimentos de origem animal, principalmente aves e ovos, mas também se incluem neste item a carne bovina, peixes, frutos do mar, laticínios como leite e queijos oriundos de leite não pasteurizados e sorvetes (SHINOHARA et al., 2008).

### **3.5 Importância dos parâmetros físico-químico na qualidade do leite**

A qualidade físico-química do leite pode ser avaliada por meio de vários testes que comprometem direta ou indiretamente o nível de aceitação e a capacidade de processamento do produto (FONSECA; SANTOS, 2001). As propriedades físico-químicas do leite e suas inter-relações constituem uma ferramenta fundamental para avaliar o desempenho produtivo dos rebanhos leiteiros, informar sobre o estado fisiológico da lactação e para diagnosticar distúrbios

de metabolismo e seus possíveis impactos sobre o processamento industrial e a qualidade final dos produtos lácteos (PONCE, 2009).

### **3.5.1 Acidez titulável**

A acidez é um dos parâmetros utilizado para avaliar a qualidade físico-química do leite. De acordo com a Instrução Normativa nº 62 o leite é considerado ácido quando apresenta acidez titulável acima de 18 °D, e normal quando estiver entre 14 e 18 °D (BRASIL, 2011). Após a ordenha à medida que o leite demora a ser resfriado há uma tendência de aumento da acidez pelo desdobramento da lactose em ácido láctico, provocado pela multiplicação da flora bacteriana comum no leite, constituindo-se a acidez adquirida (FONSECA; SANTOS, 2000). Neste fenômeno influem consideravelmente os cuidados de higiene e temperatura aplicados durante a obtenção, manipulação e conservação do leite (ALVES, 2008).

### **3.5.2 Densidade relativa a 15 °C**

O teste de densidade é usado para a detecção de fraudes no leite, seja por desnatação ou por adição de água, porém, esse não é um teste conclusivo, pois leites com altos teores de gordura tendem a apresentar baixos valores de densidade devido a densidade das gorduras serem menores (TRONCO, 2008). A densidade aceitável na legislação brasileira para o leite cru refrigerado, são os valores entre 1,028 a 1,034 g/mL a uma temperatura de 15 °C (BRASIL, 2011).

### **3.5.3 Gordura**

A gordura é o componente do leite que mais sofre alteração dentro da mesma espécie ou raça, podendo estar relacionada à vários fatores, dentre eles os principais são os metabólicos e nutricionais (SOARES, 2013). A gordura presente no leite está diretamente ligada a relação volumoso/concentrado. Santos e Fonseca (2007) ressaltam que deve haver um equilíbrio na alimentação quanto a essa proporção, para que a composição do leite não seja alterada, porque quanto maior a quantidade de concentrado, menor é o teor de gordura.

### **3.5.4 Extrato seco total e extrato seco desengordurado**

O extrato seco total (EST) é o resultado da soma de todos os componentes do leite exceto a água, enquanto que o extrato seco desengordurado (ESD) não soma gordura e água (DIAS; ANTES, 2014). Os sólidos não gordurosos do leite correspondem à fração composta por proteína, lactose e minerais, incluindo as vitaminas, os macro e micro minerais e outros elementos traços. A redução nos valores de ESD pode indicar adição de água ou desnate (OLIVEIRA et al., 2015). É de grande relevância avaliar o extrato seco total e desengordurado, pois com esses resultados pode-se notar se houve fraudes no leite, principalmente por adição de água (OLIVEIRA et al., 2015).

### **3.5.5 Proteína**

A quantidade de proteína no leite pode variar muito devido está ligada a raça, clima, estação do ano, manejo, entre outros (AMORIM, 2017). A proteína tem sido um dos critérios de pagamento por leites de qualidade, devido a mesma aumentar o rendimento nas indústrias, especialmente para a produção de queijos. A legislação exige no mínimo 2,9g/100g de proteína no leite (BRASIL, 2018).

## **3.6 Boas práticas de higiene na ordenha**

As boas práticas de higiene na ordenha é um conjunto articulado de ações que, após realizadas, acarretam ganhos de produção, produtividade, qualidade, segurança do alimento e sustentabilidade para as fazendas e para toda a cadeia leiteira. Não se trata, apenas, de reduzir a carga microbiana, a ocorrência de leite instável ao teste de acidez, de contaminantes químicos e perigos biológicos, entre outros aspectos que afetam negativamente a qualidade do leite, mas de promover mudanças no ambiente físico das fazendas e transformações de cunho social entre os diversos segmentos do setor lácteo (DERETI, 2019).

O controle da sanidade do rebanho, bem como a adoção de práticas higiênicas durante a ordenha e a manutenção do leite, a temperatura adequada são importantes medidas que contribuem para a melhoria da qualidade (GODKIN, 2000). O estado de saúde e higiene da vaca, o ambiente do estábulo, da sala de ordenha e os procedimentos usados para limpeza e desinfecção dos equipamentos de ordenha, tanque de refrigeração e utensílios que entram em

contato com o leite, são importantes no que diz respeito à contaminação microbiana do leite cru (SANTOS e FONSECA, 2001).

Segundo Gouveia *et al.* (2000), a importância da higiene na hora da ordenha é imprescindível, o local deve estar limpo, arejado e sem odor ativo; o ordenhador deve apresentar hábitos de higiene pessoal; os tetos do animal devem ser adequadamente limpos e secos, sendo inclusive recomendado a imersão em solução sanitizante antes da ordenha. Durante a ordenha, devem-se desprezar os primeiros jatos de leite, não escovar os animais, não utilizar leite de animais que estejam doentes (mamite, brucelose, aftosa, tuberculose etc.) ou em tratamento, não utilizar leite de animais nos primeiros dias após o parto (colostro), filtrar e resfriar adequadamente o leite. Depois da ordenha, usar solução de iodo glicerinado nos tetos e realizar lavagem cuidadosa dos latões e utensílios utilizados durante a ordenha.

A temperatura e o tempo de armazenamento também são importantes, se a refrigeração (4 °C) após a ordenha não for realizada, a população bacteriana poderá aumentar, atingindo números elevados que podem provocar logo à deterioração do leite (GODKIN, 2000).

### 3.7 Importância do leite na saúde pública

Segundo Dantas (2012), se o leite não for obtido com condições adequadas de higiene, pode ser, além de matéria-prima, veículo de microrganismos patogênicos. As condições higiênico-sanitárias inadequadas da matéria prima, falhas no processamento, armazenamento, transporte e exposição do produto à contaminação durante a comercialização, trazem como consequência, um produto de baixa qualidade expondo o consumidor ao risco de doenças transmissíveis por alimentos (DTA).

De acordo com o perfil epidemiológico das Doenças Transmitidas por Alimentos (DTAs) entre os anos de 2000 a 2017 no Brasil obteve-se o maior percentual de agentes etiológicos dos surtos notificados foram bactérias (92,2%), seguido por vírus (6,0%), agentes químicos/outros (1,2%) e protozoários e helmintos (0,6%) (BRASIL, 2019).

O leite e seus derivados são frequentemente implicados em surtos de toxinfecções alimentares. Vários fatores podem contribuir para a presença de alguns tipos de microrganismos patogênicos nessas espécies de alimentos: sua origem, a maneira como foram processados, manipulação, transporte e armazenamento que, de maneira isolada ou em conjunto, favorecem o desenvolvimento de microrganismos causadores de doenças (RAMOS; COSTA, 2003). Dados do Ministério da Saúde descrevem que nos últimos dez anos o leite e derivados foram o quarto

principal grupo de alimentos identificados isoladamente relacionados às DTAs, sendo responsáveis por 7,8% dos casos (BRASIL, 2019).

Em algumas localidades, o leite ainda é obtido sob condições higiênico-sanitárias deficientes e, em consequência, apresenta elevado número de microrganismos, o que constitui um risco à saúde da população, principalmente quando consumido sem tratamento térmico. Dessa forma, para o leite e seus derivados, cuidados higiênicos desde a ordenha até a obtenção do produto final devem ser empregados (CATAO; CEBALLOS, 2001).

### 3.8 Boas Práticas de Fabricação (BPF)

As Boas Práticas de Fabricação (BPF) são condições ideais para se obter produtos de qualidade para o consumo humano, não trazendo conseqüentemente riscos para a saúde do consumidor, ademais este programa viabiliza um espaço de trabalho mais eficaz e com medidas de correto manuseio dos alimentos, otimizando dessa forma o processo de produção de forma geral. As BPF são essenciais para o controle de possíveis meios de contaminação cruzada e para assegurar que a integridade do produto a ser ofertado corresponda às exigências de identidade e qualidade. O programa de BPF abrange as mais diversas características da unidade produtora de alimentos, que vão desde a qualidade da matéria-prima e dos ingredientes até as orientações de construção das instalações e de higiene (NASSU; MACEDO; LIMA, 2006).

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

Todas as análises físico-químicas e microbiológicas foram realizadas no Laboratório de Tecnologia de Produtos de Origem Animal (TPOA) da Universidade Federal do Amazonas, Campus de Parintins. Os dados foram provenientes de amostras de leite de búfalas da raça Murrah e seus mestiços coletadas nos municípios de Parintins e Barreirinha, ambos do estado do Amazonas, localizados na região do Baixo Amazonas.

### 4.1 Delineamento da pesquisa

No período entre julho a outubro de 2020, foram coletadas amostras de leite *in natura* em 14 propriedades rurais, sendo realizada sete coletas no município de Parintins e sete no município de Barreirinha (Figura 2).

Figura 2 - Visita na propriedade rural



Fonte: Arquivo pessoal (2020)

As coletas foram realizadas em triplicatas para a realização das análises físico-químicas e microbiológicas, sendo analisadas e avaliadas conforme o que é preconizado pela Instrução Normativa nº 76 e 77, de 26 de novembro de 2018, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) (BRASIL, 2018) e o Decreto nº 9.013/2017, que dispõe sobre a Regulamentação da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal - RIISPOA (BRASIL, 2017).

Para a escolha das propriedades rurais, a pesquisa considerou as seguintes características: Produtor de leite aqueles que de alguma forma comercializavam o leite e/ou realizavam o beneficiamento, excluindo aqueles que utilizavam apenas para consumo próprio, a disponibilidade dos produtores para nos receber em sua propriedade, e a localização próxima à área urbana dos municípios, em função da dificuldade de transporte até aos locais.

#### **4.1.1 Coletas e transportes das amostras**

O leite após a ordenha não passava por processo de resfriamento, ocorrendo em seguida o beneficiamento da produção leiteira na propriedade rural e/ou venda do leite direto ao consumidor.

Logo após a ordenha, as amostras foram coletadas em recipiente estéril diretamente dos galões de leite depois de homogeneizado, e posteriormente foram identificadas, acondicionadas em caixas isotérmicas contendo gelo reciclável (Figura 3, A e B) visando a maior conservação

das suas características, de acordo com o que preconiza Brasil (2011), em seguida transportadas por meio de embarcações fluviais e motocicletas até ao laboratório e mantidas sob refrigeração a 8 °C até o momento das análises de controle de qualidade conforme as recomendações citada pela Instrução Normativa nº 62 (BRASIL, 2011).

Figura 3 - Homogeneização do Leite (A) e conservação do leite (B)



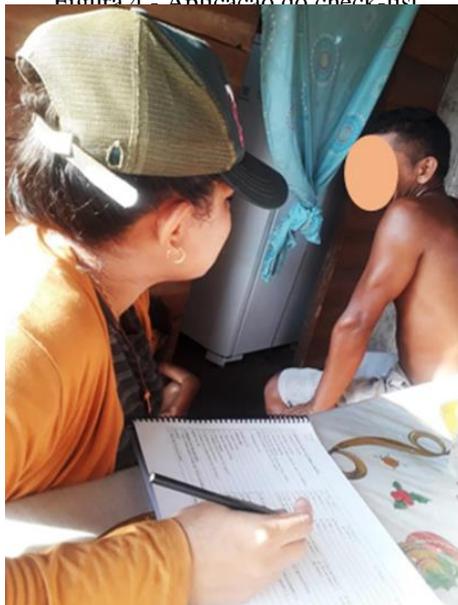
Fonte: Arquivo pessoal (2020).

#### 4.2 Aplicação da lista de verificação nas propriedades rurais

Para verificar se as propriedades rurais adotam as boas práticas de produção leiteira, foi elaborado um check-list (Anexo I) com embasamento na Instrução Normativa nº 77, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2018). O check-list apresentava as seguintes variáveis a serem avaliadas: Local da ordenha coberto, local da ordenha limpo, local da ordenha cimentado, conduz os animais calmamente, higieniza as mãos antes da ordenha, realiza *pré-dipping*, seca os tetos da vaca, descarta os três primeiros jatos de leite, realiza *pós-dipping*, usa caneca do fundo preto, fornece alimento após ordenha, utiliza água tratada e realiza limpeza dos utensílios e equipamentos.

As observações visuais ocorriam antes, durante e após a ordenha. Os dados foram anotados em planilha no formato check-list (Figura 4) e realizado cálculo simples de porcentagem para os resultados.

Figura 4 - Aplicação do check list

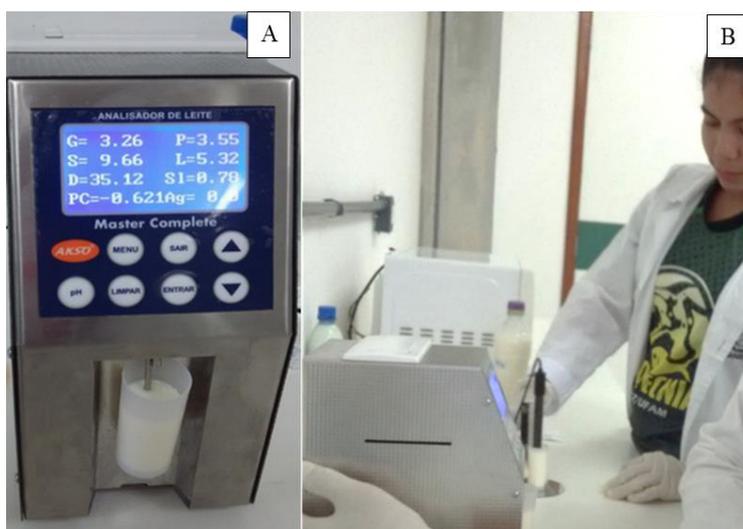


Fonte: Arquivo pessoal (2020).

#### 4.3 Avaliação da qualidade físico-química do leite bubalino

Nas amostras de leite os parâmetros avaliados foram: Teor de gordura (GORD), extrato seco desengordurado (ESD), proteínas (PROT), lactose (LACT) e densidade, essas análises foram realizadas através de um analisador de Leite Master Complete (Akso Produtos Eletrônicos LTDA) calibrado com amostras de leite de composição conhecida, de acordo com manual do fabricante (Figura 5, A e B). O valor do extrato seco total (EST) foi encontrado a partir da soma entre gordura e extrato seco desengordurado. As análises de acidez em °Dornic foram realizadas de acordo com os métodos citados pela Instrução Normativa nº 76 (BRASIL, 2018).

Figura 5 - Analisador de Leite Master Complete (A) e realização das análises físico químicas (B)



Fonte: Arquivo pessoal (2020).

Para a realização das análises, o aparelho foi higienizado com água destilada aquecida utilizando-se de três ciclos de limpeza profunda, posteriormente as amostras de leite foram homogeneizadas e dispostas em quantidades similares nos vasilhames próprios do aparelho, realizando-se assim as análises citadas acima. Todas as análises físico-químicas foram realizadas no Laboratório de Tecnologia de Produtos de Origem Animal (TPOA) da Universidade Federal do Amazonas, Campus de Parintins.

#### 4.3.1 Acidez titulável, Método B - °Dornic

Para a realização da análise de acidez titulável foi transferido 10 mL de leite para o béquer com capacidade para 25 mL e adicionadas 4-5 gotas da solução alcoólica de fenolftaleína. Paralelamente, em uma bureta graduada adicionou-se 25 mL de solução de hidróxido de sódio (N/9). A titulação foi realizada pelo gotejamento da solução de hidróxido de sódio ao leite contendo fenolftaleína, até o aparecimento de coloração rósea persistente, por aproximadamente 30 segundos (Figura 6). O volume da solução de hidróxido de sódio consumida durante o processo de titulação foi multiplicado por dez e o resultado obtido correspondeu ao grau de acidez titulável da amostra analisada (BRASIL, 2006).

Figura 6 - Análises de acidez em °Dornic



Fonte: Arquivo pessoal (2020).

#### 4.4 Avaliação da qualidade microbiológica do leite *in natura*

As análises microbiológicas às quais as amostras de leite foram submetidas foram às seguintes: Microrganismo aeróbios mesófilos (AM), coliformes totais (CT), coliformes termotolerantes (CTt) ou a 45 °C, bolores e leveduras (B/L), contagem total de bactérias aeróbias psicrotróficas, *Salmonella* spp. e *S. coagulase* positiva. A metodologia adotada foi à recomendada pela Instrução Normativa nº 62, do MAPA que Oficializa os Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água (BRASIL, 2003). Ressalta-se que todas as análises microbiológicas foram realizadas no TPOA.

##### **4.4.1 Preparo e diluições das amostras**

Para a realização das análises microbiológicas, as amostras de leite depois de homogeneizadas, foram submetidas a diluições decimais seriadas em solução salina 0,85% e duas diluições foram selecionadas para a semeadura em duplicata.

##### **4.4.2 Contagem de coliformes totais e coliformes termotolerantes**

Para a contagem de coliformes totais foram preparadas diluições em série ( $10^{-1}$  a  $10^{-3}$ ), em seguida as amostras foram transferidas para o meio de cultivo. Esperou-se 24 horas e se o teste fosse positivo se preparava as diluições em série ( $10^{-1}$  a  $10^{-3}$ ) para análises de coliformes

termotolerantes. As análises microbiológicas realizadas foram coliformes a 35/45 °C (BRASIL, 2003).

#### **4.4.3 Contagem de bolores e leveduras**

Para essas análises foi inoculado 0,1 mL, das diluições selecionadas ( $10^{-2}$  a  $10^{-5}$ ) em placas contendo meio ágar batata dextrose acidificado (BDA) acidificado em pH  $3,5 \pm 0,2$  pela adição com 1 mL de ácido tartárico a 10% (1 mL para cada 100 mL de solução). A alíquota foi homogeneizada com auxílio de alça de Drigalski até sua completa absorção e as placas foram incubadas a temperatura ambiente (aproximadamente 25 °C/2-7 dias). Foram consideradas para contagem, somente as placas que apresentaram entre 15 e 150 colônias. As contagens foram registradas, multiplicando a sua média aritmética pelo respectivo fator de diluição e expressando o resultado em Unidades Formadoras de Colônia/1,0 g de amostra (UFC/g) (BRASIL, 2003).

#### **4.4.4 Contagem de microrganismos aeróbios mesófilos e microrganismos psicrotróficos**

Para a contagem de microrganismos aeróbios mesófilos e microrganismos psicrotróficos foi inoculado 1 mL das diluições selecionadas ( $10^{-3}$  a  $10^{-8}$ ) em placas de Petri estéreis. Posteriormente foi adicionado às placas inoculadas, de 18 mL do meio “Plate Count Agar” (PCA), previamente fundido e resfriado entre 44/46 °C. As placas passaram por homogeneização com movimentos delicados no formato de oito. Após a completa solidificação do ágar, as placas foram invertidas e incubadas a 36 °C por 48 horas para mesófilos e as placas de contagem total de psicrotróficos 7 °C por dez dias. Foram consideradas para contagem, somente as placas que apresentaram de 25 a 250 colônias, multiplicada pelo respectivo fator de diluição e expressado o resultado em Unidades Formadoras de Colônias/g de amostra (UFC/g) (BRASIL, 2003).

#### **4.4.5 Detecção *Salmonella* spp.**

Para a detecção de *Salmonella* spp. foi realizada uma etapa através do pré-enriquecimento de 25 mL da amostra de leite em 225 mL de água peptonada a 1% (incubação a 36 °C/16-20 h), enriquecimento seletivo em 10 mL de caldo Rappaport Vassiliadis (41 °C/24-30 h) e 9 mL de caldo Selenito Cistina (41 °C/24-30 h) sendo suspeitos os caldos turvos após o

tempo de incubação, sendo isolado em ágar *Salmonella-Shiguella* (SS) e ágar verde brilhante. As colônias suspeitas no meio (SS) para *Salmonella* spp. positivas para a presença de H<sub>2</sub>S, produzem colônias com centros pretos e no meio Ágar Verde Brilhante produz colônias opacas branco-rosadas circundadas por um meio vermelho brilhante. Foram selecionadas de três a cinco colônias suspeitas de *Salmonella* spp., repicadas em ágar não seletivo e incubadas a 36 °C por 18 a 24 horas a fim de verificar a sua pureza. A partir do crescimento foram realizados os testes bioquímicos confirmatórios nos ágares “Triple Sugar Iron Agar” (TSI), “Lisine Iron Agar” (LIA) e Ágar Sulfeto Indol Motilidade (SIM). O resultado foi expresso como: ausência ou presença de *Salmonella* spp. em 25 mL (BRASIL, 2003).

#### **4.4.6 Contagem de *Staphylococcus coagulase* positiva**

Para a contagem de *S. coagulase* positiva, foi realizada através da técnica de plaqueamento em superfície, utilizando-se como inóculo 0,1 mL das diluições decimais e como meio de contagem o Ágar Baird-Parker (BPA) adicionado de telurito de potássio a 1% e emulsão de gema de ovo e incubado a 37 °C por um período de 48 horas e as placas que continham entre 20 e 200 colônias foram selecionadas para contagem, verificando a presença de colônias típicas e colônias atípicas. Foram consideradas como colônias típicas àquelas que apresentaram as seguintes características: circulares, pretas, pequenas, lisas, convexas, com bordas perfeitas, rodeadas por uma zona opaca e/ou halo transparente. Tais colônias foram isoladas em Ágar Nutriente inclinado (37 °C por 24 horas), sendo em seguida submetidas ao teste de coagulase (BRASIL, 2003).

#### **4.5 Análise estatística**

Os resultados obtidos nas análises físico-química foram tabulados em planilhas Excel e submetidos as análises estatísticas descritiva (média aritmética, valor mínimo, valor máximo e desvio padrão) e comparados com a Instrução Normativa nº 76 e 77, do MAPA. Para os resultados microbiológicos foram obtidas as médias e realizada uma estatística descritiva e comparadas com os padrões estabelecidos pela legislação.

## **5 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

## 5.1 Análise físico-química do leite *in natura*

A qualidade físico-química do leite é de extrema importância para assegurar seu consumo pela população e garantir seu aproveitamento como matéria-prima, pois os resultados obtidos por meio das análises físico-químicas, permitem avaliar a sua integridade, bem como as condições higiênico-sanitárias adotadas na ordenha, armazenamento e transporte (TRONCO, 2013).

Os resultados referentes as análises físico-químicas (valores médios, máximos, mínimos e desvios padrões) do leite *in natura* provenientes das propriedades rurais constam na Tabela 1. Na mesma tabela, são verificados os padrões legislados pelo Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal - (BRASIL, 2017).

**Tabela 1.** Médias e desvio padrão da composição físico-química do leite de búfala produzido nas propriedades rurais, Região do Baixo Amazonas

Variáveis	Média	Mín.	Máx.	SD	RIISPOA
<b>Gordura (%)</b>	5,60	3,48	6,66	0,81	Mín. 3,0*
<b>EST (%)</b>	15,28	11,48	17,88	1,58	Mín. 11,4*
<b>ESD (%)</b>	9,67	7,76	11,55	0,97	Mín. 8,4*
<b>Lactose (%)</b>	5,60	4,02	6,3	0,62	Mín. 4,3*
<b>Proteína (%)</b>	3,60	2,64	4,68	0,52	Mín. 2,9*
<b>Densidade (g/mL)</b>	1031	1028	1034	1,96	1028 a 1034*
<b>Acidez (°D)</b>	17	12	22	3,15	14 a 18*

EST = Extrato Seco Total; ESD = Extrato Seco Desengordurado; SD = Desvio padrão; Mín = Mínimo; Máx = Máximo; \*valores mínimos preconizados pelo Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal - RIISPOA (BRASIL, 2017)

Devido à ausência de uma legislação própria para a produção de leite de búfalas no Brasil, optou-se por adotar aqueles recomendados pelo RIISPOA, para a avaliação dos parâmetros físico-químicos (BRASIL, 2017).

Os resultados médios obtidos neste trabalho para os teores de gordura, extrato seco total e densidade atendem os requisitos mínimos estabelecidos pelo RIISPOA. Entretanto, o teor médio da gordura foi de 5,60%, variando entre 3,48 e 6,6%.

Neves (2002) e Macedo *et al.* (2001) em suas pesquisas encontraram teores médios de gordura superiores (6,0 e 6,59%, respectivamente). Em uma pesquisa realizada por Caldeira *et al.* (2010) no estado da Bahia, para o desenvolvimento de bebidas lácteas elaboradas com leite de búfala e com diferentes níveis de iogurte e soro lácteo, encontraram teor médio de gordura de 5,80%. Lima *et al.* (2014) em pesquisa realizada no estado do Rio Grande do Norte encontraram teor de gordura de 5,44% em amostras de leite de búfala coletadas durante 13 meses, resultado inferior ao encontrado nesse estudo.

Teixeira *et al.* (2005) encontrou em seu estudo teor de gordura para leite bubalino em oito propriedades que variou entre 5,83 e 7,9%. Segundo Amaral *et al.* (2005), essas diferenças podem ter influências de fatores ambientais, estação do ano, nutrição, raça, idade, estágio de lactação e genética.

A gordura é um dos componentes mais abundantes do leite de búfala, apresenta maior valor econômico, sendo de extrema importância na produção de derivados lácteos, contribui para o sabor característico do leite e seus produtos quando processados (FIGUEIREDO *et al.*, 2010).

Destaca-se que a gordura no leite, é o constituinte que mais sofre oscilação, devido a diversos fatores, como por exemplo, alimentação, escore corporal, raça, saúde do animal, temperatura, dentre outros (OLIVEIRA; SANTOS, 2012). Peres (2001) afirmou, que a gordura é o componente do leite que apresenta maior amplitude de variação, uma vez que dependendo da dieta fornecida aos animais, a fração de gordura no leite pode variar entre duas e três unidades percentuais (GONÇALVES *et al.*, 2020).

Os teores de extrato seco total (EST) no leite de búfala foram em média de 15,28% variando de 11,48 a 17,88%, esses valores estão dentro da faixa que é preconizado pelo RIISPOA. A média para EST nessa pesquisa foi superior aos resultados encontrados por Mendes *et al.* (2010), que ao analisarem a composição centesimal de 32 amostras de leite informal comercializado no município de Mossoró - RN, encontraram valores médios de extrato seco total variando de 11,65 a 12,64%, e inferior ao encontrado por Macedo *et al.* (2001) com média de 17,01%.

O teor de EST tem especial importância no leite de búfala por se configurar um dos principais parâmetros de avaliação, permitindo identificar indícios de ações fraudulentas, como adição de água ao leite, e até mesmo estimar o rendimento na fabricação de derivados lácteos (ARAÚJO *et al.*, 2011).

Com relação ao extrato seco desengordurado (ESD), a média observada nesse estudo foi de 9,67%, sendo que 11,90% das amostras (05/42) se encontra com teor mínimo de 7,76%, 7,91%, 8,0%, 8,29% e 8,37%, abaixo do recomendado pela legislação. Vários fatores podem

influenciar o teor de ESD do leite *in natura*, entre eles pode-se citar a nutrição animal e os fatores genéticos. O ESD é um parâmetro menos variável usado para nivelar o teor de sólidos do leite de rebanhos em diferentes condições de manejo (ARAÚJO et al., 2011), por desconsiderar a variação no teor de gordura do leite.

Os teores encontrados para lactose variaram de 4,02 a 6,3%, com valor médio de 5,60%, sendo que três amostras apresentaram valor abaixo da especificação adotada pelo RIISPOA que é de 4,3%. Conferindo dessa forma, a possível causa do baixo teor de ESD.

Lima (2006) em seu estudo encontrou variação do teor de lactose de 4,43 a 4,48%, já Soares *et al.* (2013) encontraram teores de lactose mais baixos com média de 4,80% em fêmeas na terceira lactação, assim como Lima *et al.* (2014) que, também na região Nordeste encontraram teores médios de 4,77%.

A lactose além de ser o principal açúcar do leite é responsável pela manutenção do equilíbrio osmótico da glândula mamária, além de ser considerada uma importante fonte de energia para a nutrição humana; ainda, representa o principal substrato para as bactérias ácido-láticas que participam dos processos fermentativos de produção de derivados como os leites fermentados e alguns tipos de queijos (LEHNINGER, 2014). A possível causa do baixo teor de lactose deve estar relacionada a contaminações por microrganismos deteriorantes como os do grupo dos coliformes, que podem alterar os teores de lactose do leite já que são capazes de fermentar esse carboidrato.

Quanto às proteínas, o teor médio encontrado foi de 3,60%, sendo que seis amostras (14,28%) apresentaram valores abaixo do preconizado que é de 2,9% no mínimo e, os teores variaram de 2,64 e 4,68%. As proteínas do leite são classificadas em dois grandes grupos, as caseínas e as proteínas do soro, das proteínas totais do leite de búfala, aproximadamente 77 a 79% são caseínas e o restante são proteínas do soro com traços de proteínas menores (SAHAI, 1996).

Andrade (2015) em sua pesquisa relatou média de 4,22% de proteínas ao analisar dados provenientes de planilhas de controle zootécnico em uma unidade produtiva no agreste do estado do Rio Grande do Norte, com registros diários de informações individuais referentes às búfalas suplementadas com selênio. Já Caldeira *et al.* (2010) no estado da Bahia, também encontraram valor médio superior (4,0%) ao obtido nesse estudo, avaliando o leite de búfala usado como matéria-prima para uma bebida láctea com diferentes níveis de iogurte e soro lácteo.

A média do teor de proteína encontrada nessa pesquisa é inferior às obtidas por Figueiredo *et al.* (2010), de 4,44%, por Neves (2002) de 4,26% e por Macedo *et al.* (2001), de 4,23%. As proteínas são fundamentais para o desenvolvimento de todas as espécies, pois sua

função natural é fornecer aos mamíferos jovens os aminoácidos essenciais necessários para o desenvolvimento do filhote (FOX; MCSWEENEY, 1998).

No entanto, os teores de proteína no leite sofreram variação de acordo com o estágio de lactação do animal, devido fatores ambientais e nutricionais, como a alimentação com diferentes níveis e fontes de nitrogênio, além da disponibilidade de energia na dieta. Alterações nos teores de proteínas podem também estar relacionados a fraudes e a contaminações excessivas, em especial por microrganismos proteolíticos do grupo dos psicrotróficos (SANTOS; FONSECA, 2007).

A densidade do leite está baseada na relação entre massa e volume, sendo que resultados inseridos no intervalo compreendido entre 1028 e 1034 g/mL são considerados aceitáveis. Observou-se que todas as amostras para densidade estão de acordo com os padrões recomendados, com média de 1031 g/mL.

Em uma pesquisa realizada por Caldeira *et al.* (2010), os autores avaliaram o leite comercializado em Janaúba/MG, todas as amostras analisadas estavam em conformidade com o padrão para densidade. Cunha Neto *et al.* (2005) encontraram valores variando de 1032,6 a 1033,3 g/mL em leite bubalino produzido na região de São Paulo.

Diversos fatores contribuem para a variação da densidade do leite, sejam de origem natural ou devido a adulterações realizadas. Valores de densidade abaixo do padrão exigido pela legislação podem ser indicativos de fraude por adição de água, assim como a retirada de gordura do leite. Já valores de densidade acima do padrão podem indicar fraude por adição de substâncias reconstituíntes ou desnate do leite (PEREIRA, 2001).

Para a acidez titulável, o valor médio observado foi de 17 °D e variou de 12 a 22 °D, sendo que 16 (38,09%) das amostras estão em desacordo com o padrão estabelecido pelo RIISPOA que é de 14 a 18 °D, e destas onze (26,19%) foram consideradas ácidas e cinco (11,90%) alcalinas. Acidez elevada pode estar relacionada ao excesso de forragem grosseira, sem observação de características nutricionais, fornecimento de alimentos e minerais inapropriados, silagens de baixa qualidade, além de fatores ambientais.

Segundo Oliveira *et al.* (2003), a acidez elevada no leite pode ser resultado das altas contagens de microrganismos deteriorantes e/ou patogênicos, em especial os coliformes, que ao fermentarem a lactose produzem ácidos; por outro lado, a alcalinidade pode ser devido à presença de resíduos de substâncias químicas que podem ter sido incorporadas ao leite de forma accidental (resíduos de sanitizantes).

Cavalcanti (2011) avaliando a qualidade do leite cru recebido em três tanques (Tanques 1, 2 e 3) de dez produtores rurais, pelo menos uma amostra de cada produtor no Tanque 1

apresentou valores de acidez fora do intervalo estabelecido pelo MAPA. Segundo esse autor, as causas principais para presença de amostras com acidez acima do recomendável é devido a contaminação por microrganismos provenientes dos manipuladores, falta de higiene dos utensílios e a temperatura de recebimento do leite acima de 30 °C.

Silva (2008) analisando a qualidade de leite pasteurizado comercializado no estado de Alagoas, verificou que 7,5% das 28 amostras analisadas apresentaram acidez fora dos padrões exigidos pela legislação, indicando ausência de refrigeração ou falta de adoção de práticas higiênicas na cadeia de produção do leite.

Os resultados das análises de acidez titulável nas amostras de leite analisadas no presente trabalho foram indicativos de contaminação microbiológica da matéria-prima. Isso pode ter ocorrido devido a falta de adoção das boas práticas de higiene na ordenha durante toda a cadeia de obtenção do leite, desde a ordenha até o transporte da matéria-prima.

As análises de acidez titulável são parâmetros de extrema importância para verificar a qualidade da matéria-prima utilizada, pois o leite ácido é considerado matéria-prima de má qualidade e não deve ser utilizado para processamento de produtos lácteos para consumo humano (ALVES, 2008).

## 5.2 Análises microbiológicas

Os resultados referentes às análises microbiológicas das amostras de leite de búfala (valores das contagens médias de microrganismos) estão expressos na Tabela 2.

**Tabela 2.** Contagens médias de microrganismos em amostras de leite búfala coletadas em 14 propriedades rurais, localizadas na Região do Baixo Amazonas

<b>Microrganismos</b>	<b>Média de 42 amostras</b>
<b>Aeróbios mesófilos (UFC/mL)</b>	6,9 x 10 <sup>5</sup>
<b>Bolores /Leveduras (UFC/mL)</b>	2,2 x 10 <sup>5</sup>
<b>Coliformes 35 °C (NMP/mL)</b>	810,88
<b>Coliformes 45 °C (NMP/mL)</b>	14,37

<b>Psicrotróficos (UFC/mL)</b>	7,6 x 10 <sup>5</sup>
<b><i>Staphylococcus coagulase</i> positiva (UFC/mL)</b>	>10 <sup>2</sup>
<b><i>Salmonella</i> spp. (em 25 mL)</b>	Ausência

A Instrução Normativa nº 62, do MAPA, estabelece critério microbiológico apenas para a contagem de aeróbios mesófilos (AM), ou contagem padrão em placas (CPP), apenas para o leite cru de origem bovina (BRASIL, 2011) que é de 3,0 x 10<sup>5</sup> UFC/mL no máximo; das 42 amostras de leite cru analisadas, 19 (45,23%) apresentaram contagens acima desse critério com média de 6,9 x 10<sup>5</sup> UFC/mL. Essa contaminação é indicativo da saúde da glândula mamária, das falhas higiênico-sanitárias durante a ordenha, manejo incorreto dos animais, uso de água não potável e/ou higienização insatisfatória de equipamentos e utensílios (GONÇALVES et al., 2020).

É importante ressaltar que o leite *in natura* é um dos alimentos mais perecíveis e não foi submetido a nenhum tratamento térmico antes das análises. Tagami *et al.* (2005) ao analisarem a microbiota do leite cru, verificaram que 43,7% das amostras possuíam elevadas contaminações por aeróbios mesófilos. Moura (2016) ao analisar leite de búfalas de rebanho do estado do Rio Grande do Norte obteve contagens de AM que variaram de 9,1 x 10<sup>3</sup> UFC/mL a 6,9 x 10<sup>6</sup> UFC/mL. Costa Filho *et al.* (2014) encontraram contagem média de 8,9 x 10<sup>5</sup> UFC/mL em leite de búfala do agreste do estado do Rio Grande do Norte, e relataram não ter sido observada diferença significativa em relação às diferentes épocas do ano, resultado superior aos valores encontrados no presente estudo.

Cavalcanti (2011) verificou que a contagem bacteriana total nas amostras de leite cru coletadas variou de 1,2 x 10<sup>6</sup> a 1,1 x 10<sup>7</sup> UFC/mL, intervalo este acima do limite estabelecido pela IN 62, do MAPA. A aplicação de boas práticas de produção no processo de ordenha diminuiria a CBT do leite dessas propriedades a níveis aceitáveis e conseqüentemente, promoveriam um produto final de qualidade.

Lima (2006) constatou que o manejo adequado é fator de grande importância na determinação da qualidade do produto. Então, faz-se necessário a implantação de boas práticas higiênico-sanitárias em todas as etapas da cadeia de produção do leite, desde a higiene da ordenha, manipuladores, utensílios e armazenamento do leite, tendo em vista a adequação aos parâmetros exigidos e a produção de derivados de qualidade (ROSÁRIO, 2013).

Ressalta-se que valores elevados de aeróbios mesófilos no leite *in natura*, pode favorecer alterações indesejáveis nesta matriz alimentícia, como por exemplo, a rápida degradação da lactose no leite, que libera, dentre outros componentes, ácido lático, favorecendo assim, ao aumento da acidez no leite e consequentemente, a redução da estabilidade térmica do leite fluído (DIAS et al., 2014).

A média das análises para contagens de B/L foi de  $2,2 \times 10^5$  UFC/mL. O leite é considerado excelente substrato para o desenvolvimento de diversos microrganismos, dentre os quais, uma variada gama de leveduras e bolores com distintas características biológicas (FRANCO; LANDGRAF, 2001). O contágio por esses microrganismos geralmente é de origem ambiental, sendo que aos bolores se atribui a produção de micotoxinas, que representam risco à saúde por serem resistentes aos tratamentos térmicos aplicados ao leite; já as leveduras produzem substâncias que favorecem a produção de limosidades resultando em aspecto e odor desagradáveis para os produtos.

Em pesquisa com leite cru de búfalas no estado do Pará, foi encontrado contagens médias para bolores e leveduras de  $1,6 \times 10^3$  UFC/mL, portanto abaixo das observadas nesse estudo, sendo que os autores atribuíram essa contaminação como consequência de falhas higiênico-sanitárias na ordenha, nos animais, e/ou no ambiente, apesar da utilização de Boas Práticas de Produção na obtenção da matéria-prima (FIGUEIREDO et al., 2010).

Com relação a coliformes a 35 °C, 29 (69,04%) amostras apresentaram contagens  $\geq 1100$  NMP/mL, 13 (30,95%) apresentaram contagens que variaram de 23 a 460 NMP/mL. Os coliformes totais são considerados importantes indicadores das condições higiênico-sanitárias e, por serem microrganismos capazes de fermentar a lactose, com produção de gás e ácidos (FRANCO; LANDGRAF, 2001), altas contagens na matéria-prima comprometem a qualidade dos produtos finais. Em estudo conduzido no estado do Pará, que avaliou 20 amostras de leite cru de búfalas, Figueiredo *et al.* (2010) encontraram contaminação por coliformes em apenas 20% das amostras e contagem média de 1,5 NMP/mL.

Para a contagem de coliformes a 45 °C, as amostras apresentaram contagens média de 14,37 NMP/mL é resultado de apenas três amostras que apresentaram contagens com valores de 460 NMP/mL, 23 NMP/mL e 3,9 NMP/mL. Esse grupo de microrganismos tem como principal representante *E. coli*, que possui como *habitat* o trato intestinal de animais de sangue quente, inclusive os seres humanos, e esse resultado é indicativo da possível presença de enteropatógenos e também, indica falhas durante a ordenha. Ainda, esses microrganismos são deteriorantes por continuarem a fermentar a lactose produzindo gás e ácidos.

Moraes *et al.* (2005) verificaram a presença de coliformes termotolerantes em leite cru acima de  $10^3$  NMP/mL nas 22 propriedades pesquisadas. Esses resultados indicam processamento inadequado e/ou recontaminação pós-processamento, sendo as causas mais frequentes aquelas provenientes da matéria-prima, equipamento contaminado ou manipulação sem cuidados de higiene. Trabalho realizado por Tebaldi *et al.* (2008), mostrou que, das 16 amostras analisadas, cinco apresentaram contagem acima de  $10^3$  NMP/mL, indicando higiene inadequada na obtenção do leite.

Os resultados obtidos na pesquisa de PSI demonstraram que 50% das amostras apresentaram contagens superiores à dos AM. Esses microrganismos produzem enzimas proteolíticas e lipolíticas, que interferem no tempo de prateleira do produto, além de causarem rancidez, o que compromete a qualidade final dos produtos e gera rejeição pelos consumidores.

Com relação aos microrganismos potencialmente patogênicos pesquisados no leite cru, para *S. coagulase* positiva foram avaliadas três amostras de cada propriedade, 42 com resultados  $\geq 100$  UFC/mL. A elevada contagem de *Staphylococcus* podem resultar em problemas na sanidade do rebanho, como a presença de mastite subclínica, aumentando o risco de produção de toxinas estafilocócicas que são resistentes ao processo de pasteurização (TEBALDI *et al.*, 2008).

Segundo Santos (2002), os *Staphylococcus* estão entre as principais bactérias causadoras da mastite. O crescimento de colônias semelhantes à *Staphylococcus* foi observado em 57,14% das amostras de leite cru, variando de  $3,2 \times 10^3$  a  $2,6 \times 10^5$  UFC/mL. Isso pode ser explicado pela diversificação de manejos utilizados pelos produtores, o que leva à maior ou menor contaminação do leite. Marques *et al.* (2005) observaram colônias de *Staphylococcus* em 100% das amostras de leite cru, com contagens variando de  $1,0 \times 10^5$  a  $2,5 \times 10^7$  UFC/mL. Angêlo *et al.* (2014) realizaram análises em leite cru de tanques comunitários de 2.010 produtores onde em todos os tanques houve a presença de *S. coagulase* positiva, e com valores acima de  $10^3$  UFC/ mL, indicando a presença de mastite.

A legislação brasileira Instrução Normativa nº 62 não menciona parâmetros para *S. coagulase* positiva para leite cru refrigerado e leites fermentados. Esta análise foi realizada na pesquisa em questão para maior segurança do consumidor, sendo que a presença da mesma pode ser indicativa de mastite no rebanho como também enfermidades do trato respiratório do manipulador (BRASIL, 2011).

A detecção de *Salmonella* spp. foi realizada em três amostras de cada propriedade rural, não sendo observado desenvolvimento. Bonrruque *et al.* (2016) ao coletarem amostras de leite cru em dez propriedades criadoras de bubalinos em São Paulo conseguiram isolar *Salmonella*

em duas propriedades. Arcuri *et al.* (2006) ao analisar o leite bovino oriundo de várias fazendas no sudeste do Brasil, obteve que 95,8% das amostras estavam contaminadas com *Salmonella* spp. mostrando o risco em potencial para quem o manuseia e que pode ser fonte de contaminação para os derivados.

Não há menção sobre os limites para *Salmonella* spp. na legislação apresentada acima para essa categoria. Entretanto, foram realizadas as análises tendo em vista que a presença desta no leite *in natura* pode ser responsável por várias doenças acometidas ao homem, entretanto, ela é destruída com o processamento térmico.

Portanto um elevado grau de contaminação por microrganismos se torna prejudicial tanto ao consumidor quanto a indústria, pois estes são responsáveis por alterações indesejáveis na composição do leite. Estes microrganismos indesejados realizam fermentação da lactose formando principalmente ácido lático, acético, propiônico e fórmico, resultando em um aumento da acidez total, revelando assim os problemas de manejo da ordenha e higienização de equipamentos e utensílios e nas etapas de resfriamento (ROSA; QUEIROZ, 2007).

### 5.3 Avaliação das boas práticas de higiene na ordenha

#### 5.3.1 Higiene da ordenha

O leite é um alimento extremamente completo, uma vez que se destina à alimentação do filhote de cada espécie, mas sua qualidade é diretamente afetada pela higiene como ele é obtido, pela forma como a ordenha é realizada, pela limpeza dos equipamentos e pela saúde da glândula mamária, que tem como principal enfermidade, a mastite (FONSECA; SANTOS, 2000).

Na tabela abaixo estão os valores percentuais das treze variáveis que foram observadas nessa pesquisa, que devem ser levadas em consideração para obtenção de uma matéria-prima de qualidade.

**Tabela 3.** Parâmetros preconizados pela Instrução Normativa n° 77 do MAPA (BRASIL, 2018)

Variáveis	Propriedades	%
Local da ordenha limpo	-	0%
Local da ordenha coberto	4	28,57%
Local da ordenha cimentado	-	0%
Conduz os animais calmamente	14	100%

<b>Higieniza as mãos antes da ordenha</b>	6	42,8%
<b>Realiza <i>pré-dipping</i></b>	5	35,71%
<b>Seca os tetos da vaca</b>	-	0%
<b>Descarta os três primeiros jatos</b>	9	64,28%
<b>Usa a caneca de fundo preto</b>	-	0%
<b>Realiza <i>pós-dipping</i></b>	-	0%
<b>Fornece alimento após ordenha</b>	-	0%
<b>Água tratada</b>	-	0%
<b>Limpeza dos utensílios e equipamentos</b>	14	100%

A obtenção de leite de qualidade implica na necessidade de um manejo de ordenha que reduza a contaminação física, química e microbiológica. Tais medidas de manejo envolvem todos os aspectos da obtenção do leite de forma rápida, eficiente e sem riscos para a saúde do animal e para a qualidade do leite (VIDAL; NETTO, 2018).

Na Tabela 3, as variáveis local da ordenha limpo, local da ordenha coberto e local da ordenha cimentado apresentaram resultados de 0, 28,57 e 0%, respectivamente. O local onde é realizada a ordenha, por exemplo, é o primeiro passo para se buscar melhorias, pois nessa pesquisa a ordenha ocorria na grande maioria em curral sem cobertura, com presença de esterco e de animais doméstico nas proximidades (aves e cachorro). Entre as quatorze propriedades visitadas, em apenas quatro a ordenha ocorria em curral com cobertura (Figura 7).

Figura 7 - Locais onde se realizava ordenha



Fonte: Arquivo pessoal (2020).

A condução dos animais para a ordenha deve ser realizada de forma calma e sem agressões, 100% dos produtores rurais adotam essa prática durante o manejo dos animais. Na maioria das vezes, os animais destinados à produção leiteira são dóceis e, quando submetidos a condições de manejo rotineiras, não apresentam qualquer resistência à condução para o local de ordenha, dispensando até mesmo o uso de peias. Ressalta-se que não se deve carregar qualquer instrumento de agressão (pedaço de madeira, corda, ferrão, bastão elétrico, cano ou chicote) quando se estiver conduzindo as vacas, pois os animais podem se estressar.

Para a higiene das mãos antes da ordenha observou-se que 6 (42,8%) dos produtores realizam essa prática, pois é uma técnica fácil e eficaz de ser executada e acessível a qualquer produtor, sendo um dos requisitos para reduzir a população bacteriana e melhorar a qualidade bacteriológica do leite.

O *pré-dipping* é recomendado a fim de reduzir patógenos ambientais. Na maioria das vezes, o procedimento é realizado com produtos à base de cloro, que devem permanecer em contato com os tetos por no mínimo 30 segundos.

Cinco (35,71%) dos produtores realizam esse procedimento, onde é lavado com água proveniente de lagos, não havendo nenhum tipo de tratamento, e 0% dos ordenhadores adotam essa prática de secar as tetas dos animais com papel toalha descartável, dessa forma estando em desacordo com a legislação. Em todas as propriedades rurais, os produtores realizavam ordenha manual, uma vez ao dia nas primeiras horas da manhã (Figura 8).

Figura 8 - Ordenha manual



Fonte: Arquivo pessoal (2020).

A infraestrutura em sistemas de ordenha mecânica só apresentam viabilidade em criações nas quais o número de vacas a serem ordenhadas diariamente é elevado e o processo manual necessitaria de um grande número de pessoas, dessa forma encarecendo a mão de obra. Em propriedades de grande porte, na grande maioria o processo mecanizado é utilizado para produção de leite acima de 250 L/dia (BERGAMACHI, 2011).

Em pesquisas realizadas por Martins (2009) e Netto *et al.* (2009), os autores comprovaram que o tipo de ordenha reflete diretamente na qualidade microbiológica do leite, onde confirmaram que o leite cru obtido de ordenhas manuais obtiveram valores elevados para a presença de *E. coli* em comparação com a ordenhadeira mecânica.

O descarte dos três primeiros jatos de leite ocorria em 64,28% das propriedades, sabe-se que o primeiro leite tirado é o mais contaminado por microrganismos. Assim, através do descarte dos primeiros jatos de leite, em caneca com fundo escuro é possível descobrir o início de mastite clínica pela presença de grumos ou pus (CIÊNCIA DO LEITE, 2011).

Já para o teste da caneca de fundo preto, 0% dos produtores adotavam essa prática, esse teste é deve ser realizado em todas as ordenhas e em todos os animais. Além de servir de diagnóstico da forma clínica da mastite, estimula a descida do leite e retira os primeiros jatos, que apresentam maior concentração de microrganismos.

Após a ordenha 0% dos produtores realizavam o *pós-dipping*, os animais eram soltos após a ordenha, essa prática ocorria em 100% das propriedades, estando, portanto, em desacordo com a legislação vigente. A legislação preconiza que os animais sejam mantidos em pé por um tempo suficiente para que o esfíncter do teto volte a se fechar, evitando que haja qualquer tipo de contaminação (BRASIL, 2011). Para isso, recomenda-se oferecer alimentação no cocho após a ordenha para evitar que haja contaminação microbiana em função do esfíncter ainda permanecer aberto.

Quanto a utilização da água para lavagem dos utensílios, manejo do animais e consumo próprio, 0% das propriedades rurais utilizavam água tratada. A água era proveniente de lagos, sendo armazenada em caixas d'água como reservatório e não realizavam a cloração (Figura 9).

Figura 9 - Água utilizada na higienização dos utensílios, consumo e manejo dos animais



Fonte: Arquivo pessoal (2020).

Em um estudo realizado por Oliveira (2010) no Campo das Vertentes, observou-se que 70% das queijarias abasteciam com água proveniente de nascentes e 4% cloravam a água. Ressalta-se que a qualidade microbiológica da água é essencial para a fabricação de um produto final de qualidade, sendo que a mesma pode ser um meio de contaminação.

Dessa forma recomenda-se que a água utilizada nas propriedades leiteiras e que realizam o beneficiamento do leite, receba tratamento bactericida para evitar contaminações por coliformes ou microrganismos patogênicos e assim possa ser usada nas práticas de higiene da ordenha, do manipulador, dos utensílios e para fabricação dos queijos, sem comprometer a saúde humana e animal (AMARAL et al., 2003; AMARAL et al., 2006; BARROS, 2011).

Para atividades de produção e de beneficiamento de alimentos, a água deve apresentar-se em condições potáveis, inodora, incolor e insípida (BRASIL, 1997). As características da água potável devem estar de acordo com a Portaria nº 2.914 do Ministério da Saúde, de 12 de dezembro de 2011 (BRASIL, 2011).

Quanto aos processos de limpeza dos utensílios e equipamentos, verificou-se que todos os produtores de leite realizam uma pré-lavagem dos utensílios, utilizando água e “sabão” foi usado como agente de limpeza, por ser do conhecimento dos produtores. Por fim, observou-se que os utensílios usados (baldes plásticos) pelos produtores representa uma prática inadequada, uma vez que estes baldes plásticos não permitem a higienização adequada (Figura 10).

Figura 10 - Utensílios usados (baldes plásticos) pelos produtores



Fonte: Arquivo pessoal (2020).

No entanto, a qualidade do leite cru é influenciada por múltiplas condições, entre as quais se destacam os fatores zootécnicos, associados ao manejo, à alimentação e o potencial genético dos rebanhos, além dos fatores já mencionados. Os primeiros são responsáveis pelas características de composição do leite e, também, pela produtividade. A obtenção e o armazenamento do leite, por outro lado, relacionam-se diretamente com a qualidade microbiológica do produto, determinando, inclusive, sua vida de prateleira (VIDAL; NETTO, 2018).

## **6 CONCLUSÃO**

Considerando os resultados microbiológicos e físico-químicos obtidos nas amostras de leite cru de búfalas produzido nas propriedades rurais, os resultados apresentaram alterações físico-químicas e presença de microbiota deteriorante, com impacto na qualidade da matéria-prima. Os elevados números de contaminações microbianas está associado às condições higiênicas-sanitárias inadequadas na qual o leite é obtido.

Percebe-se que os produtores ainda desconhecem os princípios básicos da higiene do leite e suas implicações na qualidade do mesmo. Pelos dados obtidos, verifica-se que o desafio maior é o de desenvolver programas de treinamentos, pois a ausência de tais programas, somadas às exigências das Instruções Normativas nº 62 e 76, pode levar um número importante de produtores ao não atendimento dos requisitos mínimos de qualidade do leite.

No entanto, é preciso estar atento a vários detalhes com relação ao rebanho, higiene na ordenha, ambiente e equipamentos, pois estes são fatores que afetam diretamente a contaminação microbiana do leite *in natura*.

Neste sentido, na produção do leite *in natura*, existem muitos pontos negativos, uma vez que os consumidores correm o risco de ingerir um produto inadequado e que dispõem de menos informação que os produtores sobre o produto final. Dessa forma, justifica-se a intervenção governamental no atendimento a legislação higiênico-sanitário para garantir a saúde pública e a proteção dos consumidores.

Para melhorar a qualidade do leite, sugere-se que ações educacionais possam ser implementadas em relação às boas práticas de produção e às boas práticas de higiene na ordenha durante todas as etapas da cadeia produtiva do leite, visando dessa forma, a obtenção de leite refrigerado com melhor qualidade e que atenda integralmente aos parâmetros exigidos pela legislação vigente, possibilitando assim, a melhoria da qualidade do leite e seus derivados nos municípios da região do Baixo Amazonas.

## 7 REFERÊNCIAS

ALMEIDA FILHO, E. S.; NADER FILHO, A. Ocorrência de *Staphylococcus aureus* em queijo tipo “frescal”. **Revista de Saúde Pública**, v. 34, n. 6, p. 578-580, dezembro de 2000.

ALVES, R.N. *et al.* 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/MG** - 2008.

AMARAL, L.A.; Nader Filho, A.; Rossi Júnior, O.D.; Ferreira, F.L.A.; Barros, L.S.S. Água de consumo humano como fator de risco à saúde em propriedades rurais. **Revista de Saúde Pública** /Journal of Public Health, v. 37, n. 04, p. 510-514, 2003.

AMARAL, F.R. *et al.* Qualidade do leite de búfala: composição. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 29, n. 2, p. 106-110, abril/jun. 2005.

AMARAL, L.A.; Rossi Júnior, O.D.; Nader Filho, A.; Barros, L.S.S.; Silvaes, P.M. Água utilizada em propriedades rurais para o consumo humano e na produção de leite como veículo de bactérias do gênero *Aeromonas*. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, v. 101, p. 103-107, 2006.

AMORIM, A. L. B. Avaliação da presença de substâncias químicas em leites cru e beneficiado produzidos e comercializados no Distrito Federal e Entorno. Dissertação **de mestrado em saúde animal**. Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária – Universidade de Brasília, 2017.

ANDRADE, K.D. Qualidade do leite de búfala (*Bubalus bubalis*) suplementada com selênio. 2015. **Dissertação de Mestrado**. Universidade Federal do Rio Grande do Norte.

ÂNGELO, F.F. *et al.* Bactérias psicotróficas em leite cru refrigerado. **Rev. Científica de Medicina Veterinária - ISSN: 1679-7353**. Janeiro de 2014.

ANTUNES, V.C. *et al.* Contagem total de microrganismos mesófilos e de psicotróficos no leite cru e pasteurizado, transportado via latão ou granelizado. **Revista do Instituto de Laticínios “Candido Tostes”**, v. 57, n. 327, p. 198-202, 2002.

ARCURI, E.F. *et al.* Qualidade microbiológica do leite refrigerado nas fazendas. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 58, n. 3, p. 440-446, jun. 2006.

ARAÚJO, T.P.M., *et al.* Influência das estações do ano sobre a composição do leite de búfalas mantido em tanque de resfriamento. **Agropecuária Científica do Semi-Árido**. v. 7, n. 1, 2011.

ÁVILA, C.R.; GALLO, C.R. Pesquisa de *Salmonella* spp. em leite cru, leite pasteurizado queijo tipo "minas frescal" comercializados no município de Piracicaba, SP. **Sci. Agric.**, v. 53, p. 159-163, 1996.

BARROS, L.S.S. Grau de contaminação das águas de poços de propriedades. **Magistra (online)**, v. 23, p. 207-214, 2011.

BENKERROUM, N. Antimicrobial peptides generated from milk proteins: a survey and prospects for application in the food industry. **International Journal of Dairy Technology**, Huntingdon, v. 63, n. 3, p. 320-338, 2010.

BERGAMASCHI, M.A. Produção de leite no Brasil. **Folha de São Paulo**. São Paulo, 06 de janeiro de 2011.

BERRY, D.P.; O'BRIEN, B.; O'CALLAGHAN, E.J. *et al.* Temporal trends in bulk Tank somatic cell count and total bacterial count in Irish dairy herds during the past decade. **Journal of Dairy Science**. v. 89, n. 11, p. 4083-4093, 2006.

BITTENCOURT, R. H. *et al.* Caracterização de requeijão marajoara e minas frescal produzidos com leite de búfalas no estado do Pará, Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, p. 1687-1692, 2013.

BONRRUQUE, D.R. *et al.* Isolamento de *Salmonella* e *Listeria* em leite cru de búfala. **Revista Eletrônica Biociências, Biotecnologia e Saúde**, v. 10, n. 19, p. 3, 2016.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº 368, de 4 de setembro de 1997. Aprova o regulamento técnico sobre as condições higiênico-sanitárias e de boas práticas de fabricação para estabelecimentos elaboradores / industrializadores de alimentos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 8 de setembro. 1 seção, 1997.

BRASIL. MAPA. Instrução Normativa nº 62, de 26 de agosto de 2003. Oficializa os Métodos Analíticos Oficiais para controle de Produtos de Origem Animal e Água. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 18 set. 2003.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - MAPA. Instrução Normativa nº 68, de 12 de dezembro de 2006. Métodos analíticos oficiais físico-químicos para controle de leite e produtos lácteos. ed. MAPA. Brasília, DF: **Diário Oficial da União Federativa do Brasil**, 14 de dezembro de 2006, seção 1, p. 8-30, 2006.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº 7**, de 03 de maio de 2016. Altera o Art. 1 A tabela 2 do item 3.1.3.1 do Anexo II da Instrução Normativa n. 62, de 29 de dezembro de 2011.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal, **Instrução Normativa nº 62** de 29 de dezembro de 2011. Aprova os Regulamentos Técnicos de Produção, Identidade e Qualidade do Leite tipo A, Leite Cru Refrigerado, Leite Pasteurizado e o Regulamento Técnico da Coleta de Leite Cru Refrigerado e seu Transporte a Granel. Diário Oficial da União. 30 dezembro de 2011; Seção 1. p. 6. 2011.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal, Decreto nº 9.013 de 27 de março de 2017. Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal. **Diário Oficial da União**. 30 março de 2017; Seção 1. p. 3. 2017.

BRASIL. Instrução Normativa N° 76 do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento de 26 de novembro de 2018. Aprova os regulamentos técnicos que fixam a identidade e as características de qualidade que devem apresentar o leite cru refrigerado, o leite pasteurizado, e o leite tipo A. Brasília/DF. **Diário oficial da união**, Ed. 230, seção 1, p. 10. Publicada em 30 de novembro de 2018.

BRASIL. Instrução Normativa N° 77 do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento de 26 de novembro de 2018. Estabelece os critérios e procedimentos para produção, acondicionamento, conservação, transporte, seleção e recepção do leite cru em estabelecimentos registrados no serviço de inspeção oficial. Brasília/DF. **Diário oficial da união**, Ed. 230, seção 1, p. 10. Publicada em 30 de novembro de 2018.

BRASIL. Ministério da Saúde. SVA. **Surtos de doenças transmitidas por alimentos no Brasil**. 2019. Disponível em: <<http://portalarquivos2.saude.gov.br>> Acesso em: 30 de março de 2022.

BRITO, M.A.V.P. Avanços tecnológicos para o aumento da produtividade leiteira. **Anais**. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, p. 83-94, 2000.

CALDEIRA, L.A. *et al.* Desenvolvimento de bebida láctea sabor morango utilizando diferentes níveis de iogurte e soro lácteo obtidos com leite de búfala. **Ciência Rural**, v. 40, n. 10, 2010.

CARVALHAL, M.V.L.; COSTA, F.O. Produção e bem-estar de búfalas (*Bubalus bubalis*) leiteiras: uma revisão. **Revista Acadêmica: Ciência Animal**, v. 16, n. 1, p. e 161102, 2018.

CATAO, R.M.R.; CEBALLOS, B.S.O. Pesquisa de *Listeria* spp., coliformes totais e fecais e *E. coli* no leite cru e pasteurizado de uma indústria de laticínios, no estado da Paraíba (Brasil). **Ciência e Tecnologia de Alimento**, v. 21, p. 281-287, 2001.

CAVALCANTI, V.R. Avaliação físico-química e microbiológica de leite cru recebido em tanques comunitários. **Dissertação** (Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2011.

CIÊNCIA DO LEITE. Lácteos Seguros - **Produção higiênica do leite**, 2008. Disponível em: <<http://www.cienciadoleite.com.br>> Acesso: 20 de junho de 2022.

COSTA FILHO, M.H.B. *et al.* Sazonalidade e variação na qualidade do leite de búfalas no Rio Grande do Norte. **Acta Veterinária Brasileira**, v. 8, n. 3, p. 201-208, 2014.

COUSIN, M. A. Presence and activity of Psychrotrophic microorganisms in milk and dairy products: a review. *Journal of Food Protection*, Des Moines, v. 45, p. 172-207, 1982.

CUNHA NETO, A.; SILVA, C.G. M.; STAMFORD, T.L.M. *Staphylococcus* enterotoxigênicos em alimentos in natura e processados no estado de Pernambuco, Brasil. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 22, p. 263-271, 2002.

CUNHA NETO, O.C. *et al.* Avaliação físico-química e sensorial do iogurte natural produzido com leite de búfala contendo diferentes níveis de gordura. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 25, n. 3, p. 448-453. 2005.

DANTAS, D.S. Qualidade microbiológica do queijo de coalho comercializado no município de Patos, PB. **Dissertação** (Mestrado em Zootecnia). Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Saúde e Tecnologia Rural, p. 80, 2012.

DERETI, R.M. Boas práticas agropecuárias na produção leiteira: diagnóstico e ajuste de não conformidades. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v. 71, n. 6, p. 2075-2084, 2019.

DIAS, J.A.; ANTES, F.G. Qualidade Física - Químico, Higiênico Sanitário e Composicional do Leite Cru, Indicadores e Aplicações Práticas da Instrução Normativa 62. Documentação 158 Porto Velho. RO, **EMBRAPA**, Outubro, 2014.

EL-SALAM, M.H.A.; EL-SHIBINY, S.A. Comprehensive review on the composition and properties of buffalo milk. **Dairy Science and Technology**, Zürich, v. 91, n. 6, p. 663-699, 2011.

FEITOSA, T. *et al.* Pesquisa de *Salmonella* sp., *Listeria* sp. e microrganismos indicadores higiênico-sanitários em queijos produzidos no Estado do Rio Grande do Norte. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 23, p. 162-165, 2003.

FIGUEIREDO, E.L.; JUNIOR, J.B.L.; TORO, M.J.U. Caracterização físico-química e microbiológica do leite de búfala “in natura” produzido no estado do Pará. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, Paraná, v. 04, n. 01: p. 19-28, 2010.

FRANCO, B.D.G.M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia de alimentos**. São Paulo: Atheneu, p. 182, 1996.

FRANCO, B.D.G.M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos Alimentos**. 1 ed. São Paulo: Editora Atheneu, p.182, 2001.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microrganismos Indicadores**. São Paulo: Atheneu, 2008. Cap. 6. p. 93-107.

FONSECA, L.F.L.; SANTOS, M.V. Qualidade do leite e controle da mastite. São Paulo: Lemos, 2000, p. 314.

FONSECA, L.F.L.; SANTOS, M.V. **Qualidade do leite e controle da mastite**. 2 ed. São Paulo: Lemos, 2001, p. 175.

FOX, P.F.; MCSWEENEY, P.L.H. Dairy chemistry and biochemistry. London: **Blackie Academic**, 1998.

GODKIN, A. Qualidade do leite ao redor do mundo: O papel da CCS. In. II simpósio internacional sobre qualidade do leite, 2000, Curitiba. **Anais**. Curitiba: Universidade Federal do Paraná, 2000, p. 9-20.

GONCALVES, R.B.O. *et al.* Características microbiológicas, celulares, físicas e químicas de leite cru refrigerado em Aparecida do Taboado-MS. **Braz. J. of Develop**, v. 6, n. 2, p. 7290-7300, 2020.

GOUVEIA, C. de O.; NASCIMENTO, M. C. M.; CASTRO, T. de A.; NETO, T. M. dos S. Manual de Leite e Derivados. SEBRAE-PE. **Serie Agronegócios**. Edição SEBRAE. SENAR. COPERATA, p. 9, Recife, 2000.

GUIMARÃES, D.H.P.; SILVA, F.R.S.R.; LÊNTHOLA, N.M. Iogurte elaborado à base de leite de búfala sabor queijo com geleia de goiaba. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 18, n. 1, p. 57-61, 2015.

HAJDENWURCEL, J.R. **Atlas de microbiologia de alimentos**, São Paulo: Fonte de Comunicações e Editora, 1 ed. 1998, p. 66.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Censo Agropecuário - 2017**. Disponível em: <https://censoagro2017.ibge.gov.br/>. Acesso em: 15 de novembro de 2019.

JACOB, V.R. *et al.* Aspectos de qualidade físico-química de doce de leite de búfalas da raça Murrah, a partir de leite fresco e armazenado. **Agroecossistemas**, Santarém, v. 9, n. 2, p. 288-298, 2017.

JAY, J.M. **Microbiologia de Alimentos**. 6 ed. Porto Alegre: Artmed, 2005.

LEHNINGER, A.L. **Princípios de Bioquímica**. 6 ed. São Paulo: Sarvier, 2014, p.839.

LIMA, M.C.G. Contagem de células somáticas e análises físico-químicas e microbiológicas do leite cru tipo c produzido na região agreste do estado de Pernambuco. **Arquivo do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 73, n. 1, p. 89-95, 2006.

LIMA, T.C.C. *et al.* Composição e qualidade do leite e do soro do leite de búfalas no estado do rio grande do norte. **Acta Veterinaria Brasilica**, v. 8, n. 1, p. 25-30, 2014.

MACEDO, M.P., WECHSLER, F.S., RAMOS, A.A., AMARAL, J.B, SOUZA, J.C., RESENDE, F.D., OLIVEIRA, J.V. Composição físico-química e produção do leite de búfalas da raça Mediterrâneo no Oeste do Estado de São Paulo. **Revista Brasileira de Zootecnia**. Viçosa. v. 30, n. 3. , p. 1084-1088, 2001.

MACHADO, A.L. Desempenho produtivo de búfalas (*Bubalus bubalis*) da raça Murrah. Cruz das Almas, 2014, p. 55. **Dissertação** (Mestrado), Universidade Federal do Recôncavo da Bahia.

MARQUES, M.S.; COELHO JR, L.B.; SOARES, P.C. Avaliação da qualidade microbiológica do leite pasteurizado tipo C processado no estado de Goiás. *In*: Congresso Latino-Americano e VII Brasileiro de Higienistas de Alimentos, 2, 2005, Búzios. **Anais**. Búzios, v. 19, n. 130, 2005

MARQUES, C.S.S. *et al.* Segmentation of the buffalo meat consumer market in Belém, Pará, Brazil. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 45, n. 6, p. 336-344, 2016.

MARTINS, P.C. *et al.* O futuro é leite em excesso. Piracicaba. **Portal Milkpoint**. Jan. 2007. Disponível em<<http://www.milkpoint.com.br/>. Acesso: 2 de novembro de 2021.

MENDES, C.G.; SAKAMOTO, S.M.; SILVA, J.B.A.; JACOME, C.G.M.; LEITE, A.I. Análises físico-químicas e pesquisa de fraude no leite informal comercializado no município de Mossoró, RN. **Ciência Animal Brasil**, Goiânia, v. 11, n. 2, p. 349-356, abril/junho de 2010.

MORAES, C.R.; FUENTEFRIA, A.M.; ZAFFARI, C.B.; CONTE, M.; ROCHA, J.P.A.V.; SPANAMBERG, A.; VALENTE, P., CORÇÃO, G. e Costa, M. Qualidade microbiológica de leite cru produzido em cinco municípios do Estado do Rio Grande do Sul. **Acta Scientiae Veterinariae**, n. 33, v. 3, p. 259-264, 2005.

MORENO, I. et. al. Qualidade de leites pasteurizados produzidos no Estado de São Paulo. **Indústria de Laticínios**, n. 13, p. 56-61, 1999.

MOURA, E.O. Perfil microbiológico e de celularidade do leite de búfalas. 2016, p. 96. **Dissertação** (Mestrado em Produção Animal) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte - UFRN. Macaíba, Rio Grande do Norte. 2016.

NASSU, R.T.; MACEDO, B.A.; LIMA, M.H.P. Coleção Agroindústria Familiar - Queijo coalho, **Embrapa Informação Tecnológica**, Brasília, DF, 2006.

NETTO, A.S. *et al.* Estudo comparativo da qualidade do leite em ordenha manual e mecânica. **Revista do Instituto de Ciências de Saúde**, v. 27, n. 9, p. 345-349, 2009.

NETO, O. J. A. G.; et al. Distribuição da carne de búfalos (*Bubalus bubalis*) no Município de São Luís-MA. **Brazilian Journal of Animal and Environmental Research**, v. 3, n. 3, p. 1141-1147, 2020.

NEVES, E.C. A Recent progress concerning buffalo milk technology in Amazon-Brazil. *In*: **Buffalo Symposium of Américas**. Belém, 2002. p. 312-316.

OLIVEIRA, A.M.; GONÇALVES, M.O.; SHINOHARA, N.K.S.; STAMFORD, T.L.M. Manipuladores de alimentos: um fator de risco. **Revista Higiene Alimentar**, v. 17, n. 114/115, p. 12-19, 2003.

OLIVEIRA, V.J. Da qualidade e organização da produção ao reconhecimento de região produtora de Queijo Minas Artesanal: a experiência dos produtores da Microrregião Campo das Vertentes-MG. 2010, 205f. **Tese** (Doutorado em ciência dos alimentos) Universidade Federal de Lavras, Lavras.

OLIVEIRA, E.N.A.; SANTOS, D.C. Avaliação da qualidade físico-química de leites pasteurizados. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, 2012.

OLIVEIRA, A. L. VANELI, N. R. VARGAS, P. de O. MARTINS, A. D. de O. CÓCARO, E. S. COELHO, A. D. F. Avaliação das características físico-químicas, microbiológicas e rotulagem de leite pasteurizado comercializado na microrregião de Ubá – Minas Gerais. *Rev. Inst. Laticínios Cândido Tostes, Juiz de Fora*, v. 70, n. 6, p. 301-315, 2015.

OLIVIERI, D.A. Avaliação da qualidade microbiológica de amostras de mercado de queijo mussarela, elaborado a partir de leite de búfala (*Bubalus bubalis*). 2004, p. 61. **Dissertação** - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.

PEREIRA, D.B.C. **Físico - química do leite e derivados: métodos analíticos**. 2 ed. Juiz de Fora: Templo gráfica e editora, 2001.

PEREIRA JÚNIOR, J.B.; FERNANDES, K.G.; MÜLLER, R.C.S. Determinação direta de Ca, Mg, Mn e Zn em amostras de leite de búfala da Ilha de Marajó por espectrometria de absorção atômica com chama (FAAS). **Química Nova**, São Paulo, v. 32, n. 9, p. 2333-2335, 2009.

PERES, J.R. **O leite como ferramenta do monitoramento nutricional**. Porto Alegre: Gráfica da UFRGS, 2001. p. 30-45.

PINNA, M.H.; LIZIEIRE, R.S. Leite de qualidade. **Revista do Conselho Federal de Medicina Veterinária**, Brasília, v. 21, p. 47-51, 2000.

PONCE, P. Composición láctea y SUS interrelaciones: expresión genética, nutricional, fisiológica y metabólica de La lactación em lãs condiciones del trópico. **Rev. Salud Animal**, vol. 31, n.2, p. 69-76, 2009.

RAMOS, S.N.M.; COSTA, C.A. Ocorrência de *Listeria monocytogenes* em queijo artesanal tipo coalho comercializado na cidade de Manaus-AM, Brasil. **Acta Amazônica**, v. 33, n. 4, p. 613-18, 2003.

REZER, A. P. S. Avaliação da Qualidade Microbiológica e Físico-Química do leite UHT integral comercializado no Rio Grande do Sul. 2010, 73 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2010.

RIEDEL, G. **Controle sanitário dos alimentos**. São Paulo: 3 ed., p. 73. Atheneu, 1995.

ROSA, L.S.; QUEIROZ, M.I. Avaliação da qualidade do leite cru e resfriado mediante a aplicação de princípios do APPCC. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n. 2, p. 422-430, 2007.

ROSÁRIO, D.K.A. Avaliação da qualidade microbiológica, antibióticos e chumbo em leite cru refrigerado do município de Alegre/ES. 2013. 43 f. **Monografia** (Graduação) - Engenharia de Alimentos, Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre, 2013.

SAHAI, D. Buffalo milk: Chemistry and processing technology. Karnal: **Shalini International**. (SI) Publications, India, 132001. 1996.

SALOTTI, B.M. *et al.* Qualidade microbiológica do queijo minas frescal comercializado no município de Jaboticabal, SP, Brasil. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 73, p. 171-175, 2006.

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

SANTOS, M.V.; FONSECA L.F.L. **Estratégias para controle de mastite e melhoria da qualidade do leite**. São Paulo: Manole, p. 314, 2007.

SANTOS, M.V. Efeito da mastite sobre a qualidade do leite e dos derivados lácteos. *In*: Congresso panamericano de qualidade do leite e controle de mastite, 2002, Ribeirão Preto, SP. **Anais**. Disponível em: <[www.milkpoint.com.br](http://www.milkpoint.com.br)>. Acesso: 26 março de 2009.

SANTOS, E.B. *et al.* Potential biogenic amine-producing bacteria in ripened cheeses. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, Niterói, v. 24, n. 4, p. 207-215, 2017.

SENA, A.L.; SANTOS, M.A.S.; SANTOS, J.C.; HOMMA, A.K.O. Avaliação do nível tecnológico dos produtores de leite na região Oeste do Estado do Pará. **Revista de Economia e Agronegócio**, v. 10, n. 3, 2012.

SHINDHU, J.S.; ARORA, S. Buffalo milk. *In*: FUQUAY, J. W.; FOX, P.F.; MCSWEENEY, P. L. H. (Eds.). **Encyclopedia of Dairy Sciences**. San Diego: Academic Press, 2011, p. 503-511.

SHINOHARA, N. K. S. *et al.* *Salmonella* spp. Importante agente patógeno veiculado em alimentos. **Revista Ciências e Saúde Coletiva**, v. 13, n. 5, p. 1675-1683, 2008.

SILVA, M.S.T. *et al.* **Programa de incentivo a criação de búfalos por pequenos produtores PRONAF**. Belém, PA: CPATU, 2003.

SILVA NETTO, F.G.S.; BRITO, L.G.; FIGUEIRÓ, M.R. A ordenha da vaca leiteira. Porto Velho: **Embrapa Rondônia**, 2006. p. 1- 4.

SILVA, M.A.P. Influência dos tipos de ordenha, transporte e tempo de armazenamento na qualidade do leite cru refrigerado da região sudoeste do estado de Goiás. 2008. 83 f. **Tese** (Doutorado) - Escola de Veterinária, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2008.

SILVA, N. *et al.* **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. 5. ed, São Paulo: Blucher, 2017. 560 p.

SOARES, A.D. *et al.* Composição do leite de búfala em diferentes ordens de parto. **Agropecuária científica no semiárido**, v. 9, n. 4, p. 53-60, 2013.

SOARES, F. A. C. **Composição do leite: Fatores que alteram a qualidade química**. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2013. Acesso em: 14 de dezembro 2019.

TAGAMI, P.M.; DAMIAN, N.; TAKAHASHI, H.T., FALCONI, F.A. Avaliação da qualidade do leite cru e submetido à fervura convencional comercializado informalmente no município de

Cascavel - PR. *In: Simpósio Latino Americano de Ciência de Alimentos*, 6. 2005. Unicamp, Campinas, novembro de 2005.

TEBALDI, V.M.R.; OLIVEIRA, T.L.; BOARI, C.A; PICCOLI, R.H. Isolamento de coliformes, estafilococos e enterococos de leite cru provenientes de tanques de refrigeração por expansão comunitários: identificação, ação lipolítica e proteolítica. **Ciência e Tecnologia Alimentar**. v. 28 n. 3 Campinas julho/setembro de 2008.

TEIXEIRA, L.V.; BASTIANETTO, E.; OLIVEIRA, D.A.A. Leite de búfala na indústria de produtos lácteos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 29, n. 2, p. 96-100, abril/junho, 2005.

TORTORA, G.J.; FUNKE, B.R.; CASE, C.L. **Microbiologia**. 10. ed. Porto Alegre: Artmed, 2012, p. 964.

TRABULSI, L. R.; ALTERTHUM, F. **Microbiologia**. 6. Ed. São Paulo: Atheneu. 2015, p. 888.

TRONCO, V.M. **Manual para inspeção da qualidade do leite**. 3ed. Santa Maria: UFSM, 2008. p. 206.

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

VIDAL, A.M.C.; NETTO, A.S. **Obtenção e processamento do leite e derivados** Pirassununga, Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo, 2018, p. 220.

VIEIRA, L.C.; CRISTOVÃO, C.M.; HASHIGUTI, F. **Criação de Gado Leiteiro na Zona Bragantina, Embrapa Amazônica Oriental, sistema de produção**, ISSN 1809 4325 - Versão eletrônica, dezembro de 2005.

VIEIRA, J.N. *et al.* Bubalinocultura no Brasil: Short communication. **PUBVET**, Londrina, v. 5, n. 2, p. 1003, 2011.

ZACARCHENCO, P.B. Bolores e leveduras em queijos. **Revista Tecnolat**. Expresso, ano II, n. 8, setembro/outubro de 2011.

ZOCAL, R.; CARNEIRO, A.V. Uma análise conjuntural da produção de leite brasileira. Panorama do Leite online: **Embrapa**, ano 2, n. 19, maio 2008.

## 8 ANEXO

ANEXO I - Check-list elaborado com embasamento na Instrução Normativa Nº 77, de 26 de novembro do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2018).

<b>Fazenda:</b>	
<b>Localização:</b>	
<b>Proprietário:</b>	

Variáveis observadas		P*1	P*2	P*3	P*4	P*5	P*6	P*7	P*8	P*9	P*10	P*11	P*12	P*13	P*14
Local da ordenha coberto	Sim														
	Não														
Local da ordenha limpo	Sim														
	Não														
Local da ordenha cimentado	Sim														
	Não														
Conduz os animais calmamente	Sim														
	Não														
Lavar as mãos antes da ordenha	Sim														
	Não														
Realiza <i>pré-dipping</i>	Sim														
	Não														
Seca os tetos da vaca	Sim														
	Não														
Descartar os três primeiros jatos de leite	Sim														
	Não														
Realiza <i>pós-dipping</i>	Sim														
	Não														
Usa a caneca de fundo preto	Sim														
	Não														
Fornece alimento após ordenha	Sim														
	Não														
Água tratada	Sim														
	Não														
Limpeza dos utensílios e equipamentos	Sim														
	Não														

\*Propriedade