

**UNIVERSIDADE JOSÉ DO ROSÁRIO VELLANO
NORBERTO BONAMICHI NETO**

**QUALIDADE FÍSICO QUÍMICA E MICROBIOLÓGICA DO LEITE EM
DIFERENTES ÉPOCAS DO ANO**

**Alfenas-MG
2013**

**UNIVERSIDADE JOSÉ DO ROSÁRIO VELLANO
NORBERTO BONAMICHI NETO**

**QUALIDADE FÍSICO QUÍMICA E MICROBIOLÓGICA DO LEITE EM
DIFERENTES ÉPOCAS DO ANO**

Dissertação apresentada à Universidade José do Rosário Vellano – UNIFENAS/ FETA como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre Profissional em Sistemas de Produção na Agropecuária.

Orientador: Prof. Dr. Kleber Pelícia

**Alfenas-MG
2013**

Bonamichi Neto, Norberto

Qualidade físico química e microbiológica do leite em diferentes épocas do ano./—Norberto Bonamichi Neto.-- Alfnas, 2013.

46 f.

Orientador : Prof. Dr Kleber Pelícia

Dissertação (Mestrado em Sistemas de Produção na Agropecuária) – Universidade José do Rosário Vellano.

1. Leite cru. 2. Qualidade do leite. 3. Aeróbios Mesófilos.
4. Análises do leite. I. Título

CDU : 637.11:579(043)



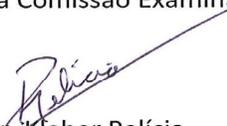
Certificado de Aprovação

TÍTULO: "QUALIDADE FÍSICO-QUÍMICA E MICROBIOLÓGICA DO LEITE EM DIFERENTES ÉPOCAS DO ANO".

AUTOR: Norberto Bonamichi Neto

ORIENTADOR: Prof. Dr. Kleber Pelícia

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de **Mestre Profissional em Sistemas de Produção na Agropecuária** pela Comissão Examinadora.


Prof. Dr. Kleber Pelícia


Prof. Dr. Délcio Bueno da Silva


Prof. Dr. Francisco Helton Sá de Lima

Alfenas, 29 de maio de 2013.


Prof. Dr. Mário Sérgio Oliveira Swerts
Diretor de Pesquisa e Pós-graduação

DEDICATÓRIA

A Deus, pela saúde, a minha mãe Ivaneide e meu irmão Caio Augusto por acreditarem em mim incondicionalmente, a minha esposa Bethânia pela paciência e compreensão pelas horas de ausência dirigidas aos estudos, a Helena, minha filha amada, por ser a razão do meu viver e ao meu tio Augusto, que desde cedo orientou meus passos em relação aos estudos.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus pela saúde e inteligência.

Agradeço ao Laticínio SANB, Carlos Eduardo Garcia e seus funcionários pela presteza e boa vontade na realização do projeto de pesquisa.

Ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sul de Minas Gerais, Campus Inconfidentes, em especial ao laboratório de microbiologia do setor de agroindústria, pelo profissionalismo e prontidão.

Aos meus colegas de turma Cezar, Edison, Mario, Thaylor, Lidiane e Iara, pelo companheirismo.

Ao meu orientador Prof. Dr. Kleber Pelícia pela dedicação, conhecimento e seriedade com que conduziu o trabalho.

Aos professores Dr. Delcio Bueno da Silva e Francisco Helton Sá de Limapela participação na banca examinadora.

Aos professores da UNIFENAS que fazem parte do corpo docente do programa de mestrado, por me engrandecer com seus conhecimentos técnicos e experiências pessoais.

*“Deus, conceda-me serenidade para aceitar as coisas
que não posso mudar, coragem para mudar as coisas
que posso e sabedoria para discernir a diferença”*

Reinhold Niebuhr

RESUMO

O objetivo do experimento foi mensurar e avaliar os efeitos da falta de refrigeração adequada na obtenção e transporte do leite cru até sua chegada ao laticínio pelos testes físicos químicos e microbiológicos na ordenha manual e sem resfriador. O experimento foi realizado com leite oriundo de um único produtor com intuito de avaliar também a influência do período do ano. Para tanto utilizou 40 fêmeas mestiças, híbridas em lactação num delineamento em blocos casualizados e os tratamentos foram montados em minutos decorridos para realizar a análise de qualidade do leite entre o fim da ordenha até o decorrer de 150 minutos, sendo, T1 de 30 minutos pós ordenha, T2 de 60 minutos pós ordenha, T3 de 90 minutos pós ordenha, T4 de 120 minutos pós ordenha e T5 de 150 minutos pós ordenha, com cinco dias, no inverno e cinco dias na primavera. Os dias são as repetições dos grupos de tratamentos em minutos decorridos analisado dentro de cada período (inverno e primavera). Foram mensuradas os testes de pH, acidez titulável, densidade, crioscopia, gordura, contagem global de aeróbios mesófilos, sólidos totais e sólidos não gordurosos. Para o período de 30 minutos pós ordenha observou diferença $p < 0,05$ para os parâmetros acidez, gordura, sólidos totais e sólidos não gordurosos, resultado que se repete nos períodos de 60 e 90 minutos pós ordenha, já nos períodos de 120 e 150 minutos pós ordenha observou diferença $p < 0,05$ para os parâmetros acidez, gordura, contagem de aeróbios mesófilos, sólidos totais e sólidos não gordurosos. O leite colhido em ambas as estações, nos períodos pós ordenha de 30 e 60 minutos se mostraram em melhor estado físico-químico e microbiológico, mostrando que o fator ambiental foi decisivo para tais resultados. Os resultados das análises foram submetidos ao Teste t de Student ao nível de significância de 5%, utilizando o software estatístico paramétrico Sisvar versão 5.1.

Palavras-Chave: Leite cru, qualidade do leite, aeróbios mesófilos, análises do leite.

ABSTRACT

The goal of the experiment was to measure and assess the effects of lack of adequate cooling in obtaining and transporting the raw milk to dairy until his arrival by physical chemical and microbiological tests on hand milking and without milk coolers. The experiment was performed with milk coming from a single producer also designed to evaluate the influence of the time of the year. For the tests were used 40 crossbred females, healthy lactating in a randomized block design and treatments were assembled in minutes elapsed to perform the analysis of quality of milk from milking until the end of the course of 150 minutes, being 30 minutes T1 after milking, 60 minutes T2 after milking, 90 minutes T3 after milking, 120 minutes T4 after milking and 150 minutes T5 after milking, during five days in the winter and five days in the spring. The days are repetitions of the treatment groups in minutes elapsed analyzed within each period (winter and spring). We measured pH tests, titratable acidity, density, freezing point, fat, total count of aerobic mesophilic, total solids and solids not. For the period of 30 minutes after milking, the difference was $p < 0.05$ for the parameters acidity, fat, total solids and solids not fat, that result is repeated in periods of 60 and 90 minutes after milking, in periods of 120 and 150 minutes after milking the difference was $p < 0.05$ for the parameters acidity, fat, aerobic mesophilic count, total solids and solids not fat. The milk collected at both stations during milking after 30 and 60 minutes is shown in better physical-chemical and microbiological, showing that the environmental factor was decisive for such results. The results of the analysis were submitted to Student's t test at a significance level of 5%, using statistical parametric Sisvar software version 5.1.

Keywords: raw milk, milk quality, aerobic mesophilic, milk analysis.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Composição físico-química e microbiológica das amostras de leite, 30 minutos pós-coleta	29
Tabela 2 – Composição físico-química e microbiológica das amostras de leite, 60 minutos pós-coleta	31
Tabela 3 – Composição físico-química e microbiológica das amostras de leite, 90 minutos pós-coleta	32
Tabela 4 – Composição físico-química e microbiológica das amostras de leite, 120 minutos pós-coleta	34
Tabela 5 – Composição físico-química e microbiológica das amostras de leite, 150 minutos pós-coleta	36

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

MAPA	- Ministério da agricultura, pecuária e abastecimento
IN	- Instrução normativa
BPP	- Boas práticas de produção
CBT	- Contagem bacteriana total
EMBRAPA	- Empresa brasileira de pesquisa agropecuária
PNMQL	- Programa nacional de melhoria da qualidade do leite
°C	- Graus Celsius
CCS	- Contagem de células somáticas
pH	- Potencial hidrogênio
°D	- Graus Dornic
NaOH	- Hidróxido de sódio
ST	- Sólidos totais
SNG	- Sólidos não gordurosos
PCA	- Contagem padrão em placas
UFC/ml	- Unidades formadoras de colônias
IBGE	- Instituto brasileiro de geografia e estatística
°H	- Graus Hortvet
rpm	- Rotações por minuto
Gd	- Gordura

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	13
2 REFERENCIAL TEÓRICO	14
2.1 Cadeia produtiva do leite no Brasil	14
2.2 Características do leite	15
2.2.1 Características físico-químicas do leite.....	16
2.2.2 Características microbiológicas do leite.....	18
2.3 Principais fatores que influem na qualidade do leite.....	19
2.4 Influência da época do ano nas características do leite	20
2.5 Contaminação bacteriana e consequências	22
3 MATERIAL E MÉTODOS	23
3.1 Local	23
3.2 Animais e manejo.....	23
3.3 Delineamento experimental	24
3.4 Colheitas de amostras e metodologias das análises.....	24
3.5 Parâmetros avaliados	25
3.5.1 Temperatura.....	25
3.5.2 pH.....	25
3.5.3 Acidez Titulável.....	25
3.5.4 Densidade	26
3.5.5 Crioscopia.....	26
3.5.6 Gordura.....	26
3.5.7 Contagem global de aeróbios mesófilos.....	26
3.5.8 Sólidos totais.....	27
3.5.9 Sólidos não gordurosos	27
3.6 Estatísticas.....	27
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	28
4.1 Avaliação dos testes físico-químicos e microbiológicos no período de 30 minutos pós ordenha	28
4.2 Avaliação dos testes físico-químicos e microbiológicos no período de 60 minutos pós ordenha.	30
4.3 Avaliação dos testes físico-químicos e microbiológicos no período de 90 minutos pós ordenha	32
4.4 Avaliação dos testes físico-químicos e microbiológicos no período de 120 minutos pós ordenha	34
4.5 Avaliação dos testes físico-químicos e microbiológicos no período de 150 minutos pós ordenha	35
4.6 Considerações finais.....	38
5 CONCLUSÃO.....	40
6 REFERÊNCIAS.....	41

1 INTRODUÇÃO

Existe uma preocupação constante pela qualidade na cadeia produtiva do leite no Brasil, por isso em 29 de dezembro de 2011 o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) publicou a Instrução Normativa 62 (IN 62), estabelecendo através de normas técnicas os requisitos e condições mínimas de higiene em todo segmento da cadeia produtiva do leite, desde a ordenha até o consumidor final, com o intuito de aumentar a qualidade dos produtos destinados para o mercado nacional e visando o competitivo mercado internacional, sempre exigente em qualidade. Quanto à colheita e transporte de leite, tais normas técnicas estão longe de serem alcançadas pela maioria dos produtores, resultando na queda de qualidade da matéria prima devido à proliferação microbiana, tendo como consequência prejuízos econômicos aos produtores e ao setor laticinista, além da diminuição da qualidade de seus derivados.

O emprego de Boas Práticas de Produção (BPP) na bovinocultura leiteira tem sido uma valiosa alternativa para diminuir os riscos de contaminação em vários setores do processo de produção, como a ordenha, transporte, industrialização e conseqüentemente aumentando e muito a qualidade microbiológica do leite. A utilização dessas técnicas de (BPP) em propriedades com ordenha manual reduziram consideravelmente a contagem bacteriana total (CBT) em 86,99% e 87,90% em propriedades com ordenha mecânica (VALLIN *et al.*, 2009).

Segundo a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (BRASIL, 2011a), no Brasil na década de 1980, a produção leiteira foi de 11.162.000 toneladas, já em 2011 foi de 32.296.000 toneladas, evidenciando o crescimento e a importância desse segmento na economia nacional. Parte da produção leiteira nacional é classificada como leite cru tipo C, produzido e transportado sem nenhum tipo de tratamento térmico até a empresa processadora. A utilização de tanque de resfriamento de leite e ordenhadeira mecânica nas propriedades ainda é pequeno, segundo dados divulgados por (BRASIL, 2011a), onde no Brasil apenas 10,79% das propriedades possuem tanque de resfriamento e 2,45% realizam a ordenha de forma mecanizada, esses dados incidem diretamente na qualidade microbiológica do leite e secundariamente na qualidade e vida útil de seus derivados, já que a ordenha, armazenamento e transporte não refrigerado até o laticínio formam as condições ideais para contaminação e proliferação de microrganismos. Objetivou-se com o estudo, avaliar a qualidade físico-química e microbiológica do leite em diferentes épocas do ano.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Cadeia produtiva do leite no Brasil

O Brasil é o quinto maior produtor de leite do mundo, com um volume de 32.296.000 toneladas, corresponde a aproximadamente 5,3% da produção mundial, ocupando lugar de destaque no agronegócio brasileiro, sendo o sexto colocado em valor bruto da produção agropecuária nacional (BRASIL, 2011a).

Segundo Silva *et al* (2009), ocorreram profundas mudanças na cadeia produtiva do leite e setor laticinista, como o aumento do *mix* de produtos e maior participação do leite longa vida no mercado formal de leite fluido, a adoção de resfriadores de leite na propriedade e o transporte refrigerado do leite, contribuíram para a formação de um quadro favorável ao setor leiteiro.

O Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2011b), em 29 de dezembro de 2011, publicou a Instrução Normativa N 62 (IN 62) que vigorou em primeiro de janeiro de 2012 nas regiões sul, sudeste e centro oeste, com o intuito de estabelecer padrões mínimos de qualidade que devem ser adotados na produção, identidade, qualidade do leite tipo A, Cru refrigerado e pasteurizado, bem como o regulamento técnico para a coleta de leite cru refrigerado e seu transporte a granel, com a intenção de melhorar a qualidade do leite e seus derivados, fixando padrões mínimos de células somáticas, contagem bacteriana e características físico-químicas.

Segundo Tinôco *et al* (2002), as condições físico-químicas do leite devem ser estudadas em laboratório para a determinação correta de sua qualidade, dando máxima atenção aos fenômenos deterioradores e processamento inadequado. As maiores limitações ligadas à qualidade físico-química do leite estão intimamente relacionadas ao seu estado de conservação, referente ao seu tratamento térmico adequado e integridade físico-química, relacionadas à adição ou remoção de substâncias químicas próprias ou estranhas à sua composição, alterando seu estado natural.

A qualidade do leite nacional vem melhorando substancialmente, com o auxílio do Programa Nacional de Melhoria da Qualidade do Leite (PNMQL), implantado pelo MAPA e em conjunto com a IN 51 publicada em 2002, foram fundamentais à melhoria da qualidade do leite e seus derivados, abrindo portas e criando novas oportunidades de exportação (MARTINS, 2004).

2.2 Características do leite

Entende-se por leite, sem outra especificação, o produto oriundo da ordenha completa e ininterrupta, em condições de higiene, de vacas saudáveis, bem alimentadas e descansadas. O leite de outras espécies deve denominar-se segundo a espécie da qual proceda (BRASIL, 2011b).

O leite é uma combinação de diversos elementos sólidos dispersos em água, os elementos sólidos representam aproximadamente 12 a 13% do leite e a água aproximadamente 87%. Os elementos sólidos do leite são principalmente lipídios (3,5% a 5,3%), carboidratos (4,7% a 5,2%), proteínas (3% a 4%), sais minerais e vitaminas (1%), seus constituintes se mantêm em equilíbrio, criando uma relação de estabilidade, também é definido como sendo um líquido protéico composto por gorduras, lactose, minerais e soro proteínas (HURLEY, 2006).

Este, por sua vez, é dividido em lipídeos e sólidos totais não gordurosos (SNG), que contêm as proteínas, glicídeos (lactose) e sais minerais (cinzas). Além desses compostos encontram-se, em quantidades bem menores, vitaminas, enzimas, gases CO₂, O₂, N₂, compostos nitrogenados não protéicos (amônia, aminoácidos e uréia) e traços de alumínio (Al), zinco (Zn), manganês (Mn), ferro (Fe), cobre (Cu) e iodo (I) (OLIVEIRA, 1986).

Segundo (BRASIL, 2011b), leite cru é o produto não submetido a qualquer tipo de tratamento térmico na fazenda leiteira onde foi produzido e integral quanto ao teor de gordura, transportado em vasilhame adequado e individual de capacidade até 50 l (cinquenta litros) e entregue em estabelecimento industrial adequado até duas horas após sua ordenha.

Foram descritos por (DÜRR, 2004 e MARTINS, 2007), que os fatores que definem o leite como sendo de qualidade estão relacionados com a sua integridade, sendo, ausente de subtração de seus nutrientes, adição de adulterantes (água ou outras substâncias) que alterem seu estado natural, afetando assim suas características organolépticas e físico-químicas; deve conter carga microbiológica reduzida e ausência de patógenos, sujidades, agrotóxicos, resíduos de medicamentos ou qualquer outro contaminante.

Conforme Rangel *et. al.* (2009), a qualidade do leite infere em suas características próprias como também as características de todo seu processo de obtenção e produção no que diz respeito a higiene no processo de ordenha, refrigeração e manutenção do leite em temperaturas de 4°C, para garantir a qualidade geral da bebida e seus derivados, a necessidade

de criação de um sistema de controle e certificação da qualidade do leite foi à grande motivadora para a criação e implementação do Programa Nacional de Melhoria da Qualidade do Leite.

2.2.1 Características físico-químicas do leite

Em situações normais, o leite apresenta reação ligeiramente ácida, oscilando entre 6,6 e 6,8, com média de 6,7 a 20°C ou 6,6 a 25°C. Leite proveniente de glândulas mamárias acometidas por mastite ou mamite, apresenta-se alcalino, podendo chegar a 7,3 a 7,5. (BRASIL, 2012a). Os microrganismos mesófilos estão presentes no leite que se encontra em situações precárias de higiene e ausentes no leite sob refrigeração, em tal modo, bactérias como *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Lactococcus* e algumas enterobactérias interferem fermentando a lactose, produzindo ácido láctico ocasionando a acidificação do leite (GALTON *et al.*, 1986).

A indústria laticinista utiliza a determinação da acidez do leite no controle da matéria prima, sendo muito usado na classificação e controle da produção de derivados como o queijo. O resultado é apresentado em graus Dornic (°D) ou em g/l de ácido láctico da amostra (BRASIL, 2006). Nesta análise, é utilizado um reagente básico, o hidróxido de sódio (NaOH), neutralizando o ácido do leite e uma substância indicadora (fenolftaleína), usada para quantificar o álcali que foi necessário para neutralizar o ácido do leite. O indicador em contato com uma substância ácida continua incolor, porém reage em meio alcalino, apresentando coloração rósea. Sendo que o álcali (NaOH N/9) é adicionado a amostra de leite até que a mesma adquirira a coloração rósea. Cada 0,1 ml da solução de NaOH N/9 gasto no teste corresponde a 1°D ou 1g de ácido láctico/l, portanto amostras de leite com acidez titulável mais elevada, podem apresentar, em média, teores de proteína e minerais maiores do que aquelas com acidez titulável menor, sendo assim, o resultado deste teste pode apresentar variação de 14 a 18 °D (BRASIL, 2006).

Segundo (BRASIL, 2006) a densidade do leite é uma relação entre seu peso e volume e é normalmente medida a 15°C ou corrigida para essa temperatura. A densidade do leite é, em média, 1,032 g/ml, podendo variar entre 1,028 e 1,034 g/ml, o teste é realizado através de um termolactodensímetro. Resultados onde a densidade está abaixo do mínimo, indica uma possível adição de água no leite ou problemas nutricionais. O teste aponta uma

alteração clara de densidade somente quando mais que 5 a 10% de água for adicionada ao leite, densidade acima do índice normal indica desnate ou adição de algum produto corretivo.

Devido sua composição, o leite possui a temperatura de congelamento mais baixa do que a da água, sendo o índice crioscópico ou crioscopia a medida do ponto de congelamento. O ponto de congelamento máximo do leite aceito pela legislação brasileira é - 0,530 °H a - 0,550 °H (equivalentes a -0,512 °C e a -0,531 °C) e esse índice é usado para detectar adulteração do leite com água, adicionando água ao leite, o ponto de congelamento aumenta em direção ao ponto de congelamento da água (0 °C) (BRASIL, 2006). O ponto de congelamento do leite dos animais da mesma espécie pode apresentar ligeira variação, mas o de um conjunto de animais tenderá sempre a se aproximar do valor médio (BRASIL, 2012b).

Alguns fatores podem levar a variações na concentração de vários dos constituintes do leite, como a estação do ano, idade, estado de saúde e raça das vacas, acesso à água, alimentação, temperatura ambiente, hora da ordenha, mas as diferenças não chegam a causar alterações no ponto de congelamento do leite. A determinação de fraude no leite por adição de água é a aplicação mais usual da crioscopia em laticínios. O teste é realizado em um aparelho denominado crioscópio, no qual a amostra do leite é congelada e o ponto de congelamento é lido em um termômetro de alta precisão (BRASIL, 2012b).

Quanto as quantidades de proteína no leite, elas se apresentam em uma média de 3,0%, já a gordura pode oscilar entre 3 e 6%, sendo o componente mais nobre do leite, a gordura forma uma emulsão relativamente estável, constituída por pequenos glóbulos e envoltos por uma membrana protéica que tem como função proteger e isolar as duas frações, uma solúvel e a outra insolúvel em solução aquosa. A maior fração é composta pela matéria gorda, que representa cerca de 99,5% de compostos lipídicos subdivididos em lipídios simples, lipídios complexos e ácidos graxos livres e 0,5% de compostos lipossolúveis constituídos por colesterol, hidrocarbonetos, vitaminas lipossolúveis e alguns alcoóis (VALSECHI, 2001).

A composição do leite de uma vaca holandesa no topo de sua produção é em média de 88% de água e 12% de sólidos totais, já de uma vaca Jersey, que produz menos leite, estes índices ficam em torno de 85,5% de água e 14,5% de sólidos totais. O teor de matéria gorda acompanha o mesmo critério, quanto mais leite uma vaca produz, mais baixo será o seu teor de gordura, é preciso lembrar que estes nutrientes possuem seus níveis máximos e mínimos, o teor de gordura varia entre 3 a 6%, sendo que para a indústria quanto mais alto este nível, maior será o aproveitamento da matéria prima (BEHMER, 1999).

A preocupação do Ministério da Agricultura em relação ao prazo de entrega do leite e sua temperatura máxima é impedir a multiplicação dos microrganismos do leite, pois estes podem degradar proteínas e gordura, além de liberar toxinas que podem ser prejudiciais ao organismo humano (CARVALHO, 1995).

Algumas enfermidades como a mastite determina mudanças nas concentrações dos principais componentes do leite como a gordura, podendo alterar a concentração em até 12%. Os principais mecanismos pelos quais ocorre alteração nos níveis dos componentes do leite são as lesões das células epiteliais produtoras de leite, que podem resultar em alteração da concentração de lactose, proteína e gordura. (PHILPOT & NICKERSON, 2002).

A soma dos valores das proteínas, açúcares, lipídios, sais minerais e vitaminas presentes no leite são expressos como sólidos não gordurosos (SNG). Quanto maior esse valor maior será o rendimento industrial na confecção de seus derivados. Já os sólidos desengordurados são obtidos pela subtração entre o valor dos sólidos não gordurosos e o percentual de gordura (BRASIL, 2006).

2.2.2 Características microbiológicas do leite

No leite cru encontra-se uma diversidade de bactérias, incluindo as psicrófilas, que em baixas temperaturas como 7 °C ou menos podem se multiplicar variavelmente a sua temperatura ótima de multiplicação, as bactérias lácticas que são responsáveis em acidificar o leite cru em condições de refrigeração precária ou inexistente e as termofílicas, que sobrevivem a baixas e altas temperaturas quanto à pasteurização, as bactérias patogênicas, principalmente as que causam mastite e os coliformes fecais (HAYES & BOOR, 2001).

Segundo (SIQUEIRA, 1995), microrganismos, especialmente as bactérias aeróbias e mesófilas, por se multiplicarem na presença de oxigênio e sob temperatura entre 20 e 45 °C, e com temperatura ótima de desenvolvimento em torno de 37 °C, portanto, são amplamente estudadas por serem causadoras de processos deteriorantes nos alimentos causando intoxicações alimentares.

A análise de contagem padrão em placas é de grande utilidade para a determinação do número de bactérias aeróbias ou facultativas e mesófilas que se encontram na forma vegetativa ou esporulada. O PCA tem sido usado como indicador de qualidade higiênica das matérias primas, determinando qual poderá ser o tempo útil do produto na prateleira. Amostras de alimentos com alta concentração de microrganismos mesófilos refletem a falta de

higiene e condições insatisfatórias no que diz respeito ao tempo e temperatura na conservação, estocagem, manuseio, produção, estocagem, limpeza precária de superfícies e descongelamento ineficaz (TORTORA *et al.*, 1993 e SIQUEIRA, 1995).

O MAPA preconiza que a contagem padrão de placas expressa em unidades formadoras de colônias UFC/ml seja realizada no mínimo uma vez ao mês e realizada a média geométrica dos últimos três meses, quanto aos índices máximos de aeróbios mesófilos aceitados para o leite cru é de 6×10^5 (BRASIL, 2011b).

O grupo de microrganismos chamados de psicotróficos são resistentes a resfriamento e as enzimas produzidas pelo seu metabolismo são responsáveis por importantes alterações sensoriais nos derivados lácteos, contaminações por psicotróficos superiores a $1,0 \times 10^4$ UFC/ml produzem enzimas suficientes para causar alterações no odor e sabor e também no rendimento industrial do leite, refletindo em sua vida de prateleira (ADAMS *et al.*, 1975 e BRANDÃO, 2000).

2.3 Principais fatores que influem na qualidade do leite

São vários os fatores que influem na qualidade final do leite, como atributos genéticos do animal, tipo de manejo e alimentação dos animais, mas por outro lado, a qualidade higiênica é influenciada através do estado sanitário do rebanho e manejo utilizado na obtenção do leite, transporte, armazenamento e distribuição do leite (COLDEBELLA, 2004). Existe uma grande diferença quanto à qualidade do leite entre fazendas, devido a cada propriedade apresentar formas únicas de cumprir o manejo da ordenha, disponibilidade de ingredientes na sua dieta e fatores sanitários, refletindo seriamente na qualidade e composição do leite (CUNHA *et al.*, 2008).

O resfriamento do leite na fazenda em conjunto com a granelização do transporte, gerou uma série de profundos e inegáveis benefícios e uma série de fatores limitantes que merecem ser mencionados e ponderados. Dentre os fatores limitantes, podemos apontar a falta de eletrificação rural, estrutura viária inadequada, alto custo do resfriador, treinamento dos produtores e a marginalização seguida da exclusão de pequenos produtores (SANTOS & FONSECA, 2003).

A temperatura em que o leite é mantido e transportado até a unidade beneficiadora é de extrema importância durante todo o processo em um laticínio, pois temperaturas de

resfriamento que não se encontram abaixo de 5°C prejudicam e diminuem a qualidade do leite causando prejuízos que são irreparáveis (FONSECA & SANTOS, 2000).

Segundo Fonseca *et al* (2004), a carga inicial de microrganismos está intimamente relacionada com a higiene dos utensílios utilizados no processo de ordenha e transporte do leite. Hábitos efetivos de higiene do sistema de ordenha, baldes e latões seguem como os principais fatores responsáveis pela produção de leite de qualidade, para manutenção de um baixo índice microbiológico, devemos nos atentar à ordenha e ao armazenamento do leite, já que segundo estudos, em 95% dos casos onde existem problemas de alta contagem bacteriana total estão seriamente relacionados com a baixa eficiência na higienização de utensílios, sistema de ordenha mecânica e deficiência nos hábitos de higiene na ordenha ocasionados por mão de obra desqualificada.

Embora a legislação vigente estabeleça como valor uma temperatura de 7°C ou menos, o ideal segundo Santos & Fonseca (2003) é que a temperatura do leite durante o transporte permaneça abaixo dos 5°C, pois resfriamentos marginais, entre 5 e 10 °C promovem uma alteração quantitativa e qualitativa na micro biota do leite, selecionando desta forma microrganismos psicotróficos, que não são desejados uma vez que podem causar muitos prejuízos na própria matéria-prima e ao leite após processado.

Seguindo orientações da IN 62, o MAPA admite que o leite cru seja transportado até as unidades de processamento em latões em temperatura ambiente, desde que o estabelecimento aceite esse tipo de matéria-prima e que a mesma siga alguns padrões de qualidade como contagem bacteriana total (CBT), contagem de células somáticas (CCS), resíduos de antibióticos, pH e que o período entre a conclusão de sua ordenha e entrega no laticínio não ultrapasse o limite máximo de 2 horas (BRASIL, 2011b).

2.4 Influência da época do ano nas características do leite

As estações do ano apresentam incidência direta sobre as concentrações de sólidos do leite, bem como nas forrageiras utilizadas na alimentação e pastejo, influenciando em sua taxa de crescimento, qualidade da fibra devido e percentagem de matéria seca; a época do ano também tem influência no favorecimento de diversas doenças em vacas como a mastite, correlacionadas devido ao aumento do índice pluviométrico e temperatura, favorecendo a proliferação de microrganismos (RIEKERINK *et al.*, 2007).

Segundo Fontaneli *et al.* (2000), a influencia da época do ano nas pastagens e conseqüentemente na qualidade do leite é inegável, o autor cita que o período mais deficitário das pastagens devido a época do ano é no outono, e esse fato é chamado de “vazio forrageiro outonal”, nesta época do ano as pastagens do outono se mostram com pequena quantidade de nutrientes, já as pastagens oriundas do inverno ainda não se formarão.

Elgersma *et al.* (2004) relata que quando se altera a dieta de vacas em lactação, ocorre mudanças na composição do leite, quando vacas alimentadas com dieta a base de silagem passam a ser alimentadas a pasto, ocorrem mudanças significativas na composição do leite.

Tal estudo vem a corroborar com a perspectiva geral de que a gordura é o elemento do leite mais susceptível à alterações na dieta (WALSTRA *et al.*, 2006). Heckel *et al.* (2009), ao estudar os índices de gordura no inverno e verão, obtiveram menor índice de gordura no verão, devido a maior oferta de alimentos frescos oriundos de pastagens e capineiras, já no inverno a gordura aumentou, devido a maior oferta de silagem e alimentos concentrados, fato igualmente observado por Elgersma *et al.* (2004).

As variações sazonais e suas influencias na produção e alterações nas características físico-químicas do leite, foram tema de estudo realizado por Gonzalez *et al.* (2004), onde foi avaliado 10 propriedades leiteiras na região de Pelotas, RS, o experimento teve duração de onze meses do ano, e não foi encontrado nenhuma diferença significativa nos índices de gordura e sólidos totais entre os meses pesquisados, já estudos realizados por Roma Jr. *et al.* (2009), também analisando os efeitos das estações do ano sobre a composição do leite, e sobre tudo a contagem bacteriana de 2.970 colheitas de leite nos estados do sudeste brasileiro, apontaram que na estação do outono o leite se encontra com maior qualidade, se mostrando com maior índice de gordura e com menor contagem bacteriana, fato validado por ser uma época do ano com médias de temperatura mais baixas e com pouca precipitação de chuva.

Tais variações na composição do leite oriundas a fatores sazonais são descritos por Mesquita *et al.* (2008), onde foi constatado que houve diminuição dos índices de gordura, proteína e sólidos totais nos meses de agosto, setembro, outubro e novembro, meses caracterizados pela seca e pouca disponibilidade de alimentos frescos. Foi observada uma propensão de aumento da gordura e proteína nos meses de abril, maio e junho, os autores mencionam que o manejo dietético com maior aporte calórico, somados a fatores sazonais contribuíram para o resultado encontrado, uma vez que é habitual se manter as vacas a pasto no período chuvoso e estabuladas ou semiestabuladas no período mais seco.

As estações do ano interferem até na aferição da crioscopia, sendo encontrada uma relação significativa entre o ponto de congelamento e a estação do ano, nos meses em que a temperatura atmosférica foi mais alta, o ponto de congelamento também foi mais alto. Fato que Carvalho (1989), correlacionou a influencia sazonal sobre o índice crioscópico do leite, devido mudanças no conteúdo químico dos alimentos disponíveis.

2.5 Contaminação bacteriana e consequências

A carga microbiana do leite é uma variável que sofre influência da pré contaminação do leite em virtude das suas condições sanitárias em termos de mastite, sendo o leite contaminado ainda dentro do úbere e da taxa de multiplicação dos microrganismos, ou seja, das condições de higiene em que o leite será ordenhado, armazenado e transportado, oferecendo condições propícias para sua multiplicação, portanto devemos tomar a devida atenção na qualidade da água utilizada na lavagem dos tetos durante a ordenha e na higienização e desinfecção do sistema de ordenha mecânica, seguido das condições de limpeza dos utensílios, equipamentos de ordenha, limpeza e desinfecção da superfície dos tetos também são diretamente responsáveis pela carga bacteriana (EVERSON 1984, BEHMER, 1999 e CALDERÓN *et al.*, 2006).

Portanto, a quantificação bacteriana do leite cru, exerce o papel de auxiliar na avaliação dos procedimentos na obtenção do leite e armazenamento na propriedade rural e simultaneamente, auxilia a mensurar os prováveis efeitos adversos sobre o rendimento industrial e na segurança alimentar do leite. Vários gêneros de bactérias utilizam a lactose, e o resultado de seu metabolismo leva à produção de ácido láctico, o qual em quantidade elevada pode instabilizar a caseína acidificando o leite. (FONSECA & SANTOS, 2000). Essas alterações são responsáveis por limitações na utilização da matéria-prima e comprometem as propriedades organolépticas e a vida de prateleira dos produtos lácteos (CALDERÓN *et al.*, 2006).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Local

O experimento foi realizado na cidade de Inconfidentes – MG, localiza-se a 869 metros de altitude e seu clima é tropical de altitude, com media anual de 18°C. A precipitação média anual varia de 1.400mm a 1.800mm. O período seco tem duração de dois a três meses e coincide com os meses mais frios, onde a temperatura é inferior a 18°C. A amplitude térmica anual (diferença entre média do mês mais frio) varia de 5°C a 7°C. No inverno registram-se temperaturas mínimas absolutas inferiores a 0°C nas porções mais elevadas (BRASIL, 2012c).

O experimento foi realizado em uma propriedade leiteira que fornece a um laticínio localizado no município de Inconfidentes – MG. A propriedade se encontra em regime de ordenha manual, sem armazenamento do leite em resfriador e o transporte feito pelo próprio produtor até o laticínio em latões apropriados de 50 litros.

3.2 Animais e manejo

O rebanho é composto por 40 vacas mestiças Girolanda, que em sua maioria apresentavam-se em começo e pico da fase de lactação, os animais foram arraçoados no inverno à base de silagem de milho, capim elefante com cana triturada e farelo de soja, portanto na primavera a dieta foi alterada para pastejo, capim elefante com cana triturada e farelo de soja, o rebanho não dispunha de suplemento mineral, apenas de sal comum.

O manejo da ordenha foi cumprido de forma simples, de manhã e a tarde, em curral coberto, porém sem paredes e sem cercas de madeira, o piso é de cimento rústico e sua limpeza foi feita através de raspagem, os tetos foram lavados com água corrente e secados com toalhas descartáveis de papel, fazendo uso de pré e pós dipping.

A cronometragem do tempo teve inicio logo após o termino da ordenha e terminou após o decorrer de 150 minutos.

3.3 Delineamento experimental

Em uma única propriedade, foram utilizadas 40 vacas mestiças Girolanda e o delineamento usado foi o de blocos casualizados e a divisão dos grupos de tratamentos foi feita em minutos decorridos para realizar a análise de qualidade do leite entre o fim da ordenha até o decorrer de 150 minutos, sendo, T1 de 30 minutos pós ordenha, T2 de 60 minutos pós ordenha, T3 de 90 minutos pós ordenha, T4 de 120 minutos pós ordenha e T5 de 150 minutos pós ordenha, com cinco dias, no inverno e cinco dias na primavera. Os dias são as repetições dos grupos de tratamentos em minutos decorridos analisado dentro de cada período (inverno e primavera).

3.4 Colheitas de amostras e metodologias das análises

No período da manhã, foram colhidos para amostragem 50 litros de leite acondicionados no próprio latão de 50 litros proveniente da propriedade em que foi produzido, o percurso de nove quilômetros foi cronometrado em 20 minutos, o leite foi transportado diretamente da propriedade até o laboratório de microbiologia do setor de agroindústria do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sul de Minas Gerais – Campus Inconfidentes, o latão ficou sob temperatura ambiente na área externa do laboratório, onde após homogeneização, foram realizadas as colheitas das amostras para realização das análises do leite, obedecendo a sua classificação de tempo descritas nos grupos de tratamentos.

A colheita das amostras foram realizadas nos dias 20, 21, 22, 23, 24 de julho de 2012, inverno, e foram repetidos nos dias 15, 16, 17, 18, 19 de outubro de 2012, primavera, com o intuito de comparar possíveis diferenças nos resultados, devido à alteração da temperatura e índice pluviométrico.

Em julho, durante cinco dias foram colhidas 25 amostras, sendo que a colheita foi repetida em outubro para observar a influência do período na qualidade do leite, onde foram mensuradas os testes de temperatura, pH, acidez titulável, densidade, crioscopia, gordura, contagem global de aeróbios mesófilos, sólidos totais e sólidos não gordurosos.

3.5 Parâmetros avaliados

3.5.1 Temperatura

Após o leite ser homogeneizado ainda no latão de 50 litros, com o uso de um agitador de aço inoxidável, foi aferida a temperatura através de um termômetro digital da marca Incoterm 6032, de acordo com (BRASIL, 2006).

Para simular as condições de campo, o latão ficou exposto diretamente ao clima, na área externa do laboratório.

3.5.2 pH

Foi utilizado um peagâmetro digital da marca Hanna Instruments, diretamente no latão de 50 litros de acordo com (Brasil, 2006).

3.5.3 Acidez Titulável

No teste da acidez titulável, usa-se o hidróxido de sódio (NaOH) para neutralizar o ácido do leite juntamente com a fenolftaleína, que é uma substância indicadora para mostrar a quantidade de hidróxido de sódio foi necessária para neutralizar a acidez do leite. O indicador permanece incolor quando misturado com uma substância ácida, mas adquire coloração rósea em meio alcalino. Portanto, o álcali (NaOH N/9) é adicionado ao leite até que o leite adquirira a coloração rósea. Cada 0,1 ml da solução de NaOH N/9 gasto no teste corresponde a 1°D ou 0,1g de ácido láctico/l (BRASIL, 2006).

3.5.4 Densidade

Na determinação da densidade, foi colocado em uma proveta 250 ml de leite, em seguida, introduziu-se nesta proveta o termolactodensímetro, após a estabilização do termolactodensímetro, anotou-se a temperatura e a densidade. O valor da densidade normal para leite cru deve estar entre 1.028 e 1.034g/ml a 15 °C (BRASIL, 2006).

3.5.5 Crioscopia

Foi utilizado um crioscópio digital micro processado – M.90/BR da marca Laktron, em um tubo de ensaio com capacidade de 2,5ml coloca-se a amostra de leite, em alguns segundos é dado o resultado da temperatura de congelamento em graus Hortvet, o leite em sua normalidade fica em torno de -0,530 °H a -0,550 °H (equivalentes a -0,512 °C a -0,531 °C) (BRASIL,2006).

3.5.6 Gordura

Para a detecção do teor de gordura foi utilizado o método de Gerber, que consisti em adicionar em um butirômetroGerber 10 ml de ácido sulfúrico, em seguida adicionou-se 11 ml de leite, utilizando uma pipeta volumétrica, acrescentou-se 1 ml de álcool amílico. O butirômetro foi tampado com uma rolha de borracha e agitado, logo após centrifugou-se por quatro a cinco minutos a uma rotação de 1200 a 1400 r.p.m. Depois foi deixado por dois a três minutos em banho-maria em temperatura de 65 a 66 °C, a leitura do percentual de gordura é realizada diretamente no butirômetro que possui graduação (BRASIL, 2006).

3.5.7 Contagem global de aeróbios mesófilos

Consiste no plaqueamento de alíquotas da amostra do leite, diluída e homogeneizada, em meio de cultura padrão como o "Plate Count Agar" (PCA) e incubado em estufa a 37°C por 48 horas, após a incubação se realiza a contagem das colônias formadas pelas bactérias com o auxílio de um contador de colônias(ICMSF, 1984 e JAY 1992).

3.5.8 Sólidos totais

Segundo (BRASIL, 2006), para determinarmos sólidos totais de uma amostra, foi utilizado o Disco de Ackermann devido sua praticidade e precisão.

Já de posse dos teores da densidade e da gordura da amostra, com o auxílio do DISCO DE ACKERMANN, faz-se o alinhamento do mesmo, equiparando o valor da densidade a 15 °C juntamente com a gordura nas escalas respectivas, o resultado é indicado de forma direta como % de sólidos totais.

3.5.9 Sólidos não gordurosos

Conforme o M.A.P.A, Os sólidos não gordurosos fazem referência à fração sólida do leite como, proteínas, lactose e sais minerais, excluindo a gordura. Os sólidos não gordurosos são obtidos pela diferença dos sólidos totais menos a gordura. (BRASIL, 2006).

3.6 Estatísticas

Os resultados das análises foram submetidos ao Teste t de Student ao nível de significância de 5%, utilizando o software estatístico paramétrico Sisvar versão 5.1.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As temperaturas e índice pluviométrico no município durante o inverno apresentaram máximas de 11 e 21°C e 32 mm de precipitação. Na primavera, as máximas registradas foram de 17 e 29 °C e 154 mm de precipitação (INPE, 2012).

Também foi aferida a temperatura do leite diretamente no latão de 50 litros oriundo da propriedade rural, no inverno as máximas foram de 20 a 26°C, com médias de 23,5°C, já na primavera as máximas foram de 26 a 30°C, com médias de 28°C. Os dados foram colhidos para fins de correlação da temperatura com a degradação enzimática do leite, relacionados com os processos deteriorantes e proliferação bacteriana.

Os resultados dos testes de temperatura, pH, acidez titulável, densidade, crioscopia, gordura, contagem global de aeróbios mesófilos, sólidos totais e sólidos não gordurosos a seguir são importantes na qualidade físico-química e microbiológica do leite, por serem susceptíveis à alteração de temperatura.

4.1 Avaliação dos testes físico-químicos e microbiológicos no período de 30 minutos pós ordenha

Com os resultados obtidos na Tabela 1, ficou evidente que no inverno e primavera, no período de 30 minutos pós ordenha, os parâmetros pH, densidade, crioscopia e contagem de aeróbios mesófilos não houve diferença estatística ($p>0,05$) e se mantendo dentro da normalidade, conforme estabelecido pelo MAPA em (BRASIL, 2011b), sendo as médias obtidas foram pH 6,66, densidade 1,030 g/ml a 15 °C, crioscopia -0,534 °H e contagem de aeróbios mesófilos $7,41 \times 10^5$ UFC/ml.

Os parâmetros acidez, gordura, sólidos totais e sólidos não gordurosos apresentaram diferença estatística ($p<0,05$), se mostrando em níveis superiores no inverno, os resultados foram acidez 16,8 °D, gordura 3,69%, sólidos totais 12,16% e sólidos não gordurosos 8,47%. Acredita-se que fatores climáticos como o aumento da temperatura levaram os animais a condições estressantes, como citado por Fonseca & Santos (2000). Acredita-se que animais submetidos ao estresse calórico foram observados por (BRASIL *et al.* 2000), ocasionando

queda no consumo de alimento, aumento da ingestão de água e queda na produção de leite, que por sua vez teve redução nos índices de gordura, lactose, sólidos totais e proteína.

Tabela 1 – Composição físico-química e microbiológica das amostras de leite, 30 minutos pós-coleta

Período	pH	Acidez (°D)	PARÂMETROS AVALIADOS					S.T (%)	S.N.G (%)
			Densidade g/ml a 15 °C	Crioscopia (°H)	Gordura (%)	Cont. Aeróbios Mesófilos (UFC/ml)			
Inverno	6,70	16,20 ^b	1,029	- 0,534	3,88 ^a	7,34x10 ⁵	12,86 ^a	8,98 ^a	
Primavera	6,62	17,40 ^a	1,031	- 0,533	3,50 ^b	7,48x10 ⁵	11,46 ^b	7,96 ^b	
Média	6,66	16,80	1,030	- 0,534	3,69	7,41x10 ⁵	12,16	8,47	
CV(%)	1,54	5,47	0,33	1,02	3,56	47,90	6,45	8,50	

Letras distintas na mesma coluna indicam diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$) – teste t de Student

S.T: Sólidos totais

S.N.G: Sólidos não gordurosos

Segundo Fontaneliet *al.*, (2000), a influencia da época do ano nas pastagens e conseqüentemente na qualidade do leite é inegável, fato que explicaria a queda da gordura e sólidos no leite oriundo da primavera obtidos no presente estudo.

No presente estudo, notou-se uma relação inversamente proporcional no que se refere à queda do pH e o aumento da acidez titulável do leite, quanto mais o pH do leite diminui, ficando mais ácido, o mesmo ocorre com a acidez titulável, mesmo assim, os resultados se encontram dentro do índice aceitado pelo MAPA caracterizando leite fresco que é de 15 °D a 18 °D, foi observada maior acidez do leite na primavera, quando comparado com o inverno.

Nota-se o aumento da gordura do leite no inverno em relação à primavera o que refletiu nos resultados de sólidos totais sólidos não gordurosos, onde a soma dos valores das proteínas, açúcares, lipídios, sais minerais e vitaminas presentes no leite são expressos nos sólidos totais.

Segundo Fonseca & Santos (2000), as médias de gordura podem sofrer pequenas variações dentro de um mesmo rebanho quando levamos em consideração a raça dos animais e dietas variadas, fase de lactação, período da ordenha e fatores sazonais, fatos que corroboram com os obtidos por (BRASIL *et al.* 2000), as estações do ano apresentam incidência direta sobre as características do leite, bem como nas forrageiras utilizadas na alimentação e pastejo, influenciando em sua taxa de crescimento, qualidade da fibra devido e percentagem de matéria seca; já Gomes *et al.*(2011), encontrou resultados onde não houveram diferença significativa nos índices de gordura, sólidos totais e sólidos não gordurosos em

estudo realizado na região sudeste do Pará, onde o autor comparou o leite obtido nos períodos da seca e das águas, ficando claro que os fatores climáticos não foram suficientes para alterar a composição do leite, principalmente no se diz respeito aos sólidos totais, deve-se levar em conta a amplitude térmica e pluviométrica do estado do Pará, onde o calor e a umidade se faz presente na grande maioria do ano.

O aumento do teor de gordura no leite no inverno pode ser conferido à dieta que possui grande inclusão de volumoso caracterizado pelo alto teor de fibra Barros (2002).

Segundo Fernandes (2010), após estudo onde constatou que os componentes sólidos do leite sofreram aumento no período da seca, principalmente no mês de junho, aumentando o rendimento industrial, ou seja, a composição do leite sofreu influencia sazonal, fato que corrobora com os resultados deste estudo.

No presente estudo, no inverno ocorreram os melhores resultados referentes à densidade, gordura, sólidos totais e sólidos não gordurosos, resultado este, semelhante ao encontrado por Fernandes (2010) e Gomes *et al* (2011), onde houve aumento dos componentes sólidos na estação do inverno. A época do ano tem influencia sobre a qualidade das pastagens e a dieta oferecida aos animais em lactação, devido a isso são esperadas algumas variações naturais na porcentagem desse elemento no leite. Animais de alta produção também tendem a enfrentar problemas quanto a porcentagens de sólidos no leite ordenhado, muitas vezes vacas da raça Holandesa de alto desempenho, possuem grandes volumes ordenhados durante a fase de lactação, mas os sólidos em geral presentes no leite, como a gordura, por exemplo, podem apresentar-se abaixo dos valores mínimos exigidos pela legislação (SANTOS & FONSECA, 2003).

4.2 Avaliação dos testes físico-químicos e microbiológicos no período de 60 minutos pós ordenha.

Ficou evidente que no inverno e primavera, no período de 60 minutos pós ordenha, os parâmetros pH, densidade, crioscopia e contagem de aeróbios mesófilos não houve diferença estatística ($p < 0,05$) e se mantendo dentro da normalidade, conforme estabelecido pelo MAPA, com média de 6,60 para pH, densidade 1,030 g/ml a 15 °C, crioscopia -0,536 °H e contagem de aeróbios mesófilos de $8,67 \times 10^5$ UFC/ml.

Já os parâmetros acidez, gordura, sólidos totais e sólidos não gordurosos apresentaram diferença estatística ($p < 0,05$), se mostrando em níveis superiores no inverno, como citado por Fonseca & Santos (2000) e (BRASIL *et al.* 2000), apresentando médias de 16,95 °D, 3,67%, 12,17% e 8,50% respectivamente.

Tabela 2 – Composição físico-química e microbiológica das amostras de leite, 60 minutos pós-coleta

Período	pH	Acidez (°D)	Densidade g/ml a 15 °C	PARÂMETROS AVALIADOS				
				Crioscopia (°H)	Gordura (%)	Cont. Aeróbios Mesófilos (UFC/ml)	S.T (%)	S.N.G (%)
Inverno	6,60	16,30 ^b	1,028	- 0,537	3,84 ^a	8,14x10 ⁵	12,93 ^a	9,09 ^a
Primavera	6,60	17,60 ^a	1,032	- 0,534	3,50 ^b	9,20x10 ⁵	11,40 ^b	7,90 ^b
Média	6,60	16,95	1,030	- 0,536	3,67	8,67x10 ⁵	12,17	8,50
CV(%)	0,90	4,16	0,20	0,86	3,91	1,76x10 ²	7,11	8,52

Letras distintas na mesma coluna indicam diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$) – teste t de Student

S.T: Sólidos totais

S.N.G: Sólidos não gordurosos

Os parâmetros quanto à qualidade física e microbiológica do leite estão dentro aos descritos por Fonseca & Santos (2000), estes autores observaram que a nutrição exerceu efeito sobre o teor de sólidos totais, relatando o seu aumento em dietas com maior proporção de volumoso, fato que pode explicar o aumento dos índices no inverno, devido à dieta mais calórica oriunda de alimentos concentrados. O alto teor de gordura no leite no inverno, pode ser conferido à dieta que possui grande inclusão de volumoso caracterizado pelo alto teor de fibra (FONTANELI, 2000; BARROS, 2002 e GOMES 2011).

O pH se mostrou com os mesmos valores para ambas as estações, mas apontando maior acidez titulável para a primavera, fato que também ocorreu no período de 30 minutos pós ordenha, podemos relacionar a maior contagem de aeróbio mesófilos também na primavera, devido ao aumento do índice pluviométrico e com isso a umidade do ar, estabelecendo um ambiente propício para a multiplicação de microrganismos, causando o aumento da acidez titulável, conforme descrito Fernandes (2010).

No inverno, evidenciou-se os melhores resultados referentes à densidade, gordura, sólidos totais e sólidos não gordurosos, ficando evidente um aumento nos índices da contagem de aeróbios mesófilos na primavera em relação ao inverno, fato confirmado por Brasil *et al.* (2000) e Barbieri (2005), onde cita que a estação chuvosa teve relação direta no aumento dos índices de microrganismos encontrados no leite devido à maior precipitação

neste período, o que pode ser justificado pela dificuldade em manter as condições higiênicas adequadas nas instalações, animais e equipamento de ordenha.

4.3 Avaliação dos testes físico-químicos e microbiológicos no período de 90 minutos pós ordenha

Na Tabela 3, com período de pós ordenha de 90 minutos, os parâmetros pH, densidade, crioscopia e contagem de aeróbios mesófilos não houve diferença estatística ($p < 0,05$) e se mantendo dentro da normalidade, conforme estabelecido pelo MAPA, com exceção ao pH, que em ambas as estações se mostrou ácido, em destaque para a primavera onde a acidez titulável chegou a 18°D, valor limite segundo MAPA e com contagem de aeróbios mesófilos de $1,17 \times 10^6$ UFC/ml, que explica a queda do pH e aumento da acidez.

Tabela 3 – Composição físico-química e microbiológica das amostras de leite, 90 minutos pós-coleta

Período	PARÂMETROS AVALIADOS							
	pH	Acidez (°D)	Densidade g/ml a 15 °C	Crioscopia (°H)	Gordura (%)	Cont. Aeróbios Mesófilos (UFC/ml)	S.T (%)	S.N.G (%)
Inverno	6,57	16,4 ^b	1,028	- 0,536	3,84 ^a	$1,02 \times 10^6$	12,98 ^a	9,14 ^a
Primavera	6,53	18,0 ^a	1,030	- 0,539	3,50 ^b	$1,32 \times 10^6$	11,50 ^b	8,00 ^b
Média	6,55	17,2	1,029	- 0,538	3,67	$1,17 \times 10^6$	12,24	8,57
CV(%)	1,73	8,60	0,29	0,660	4,86	$7,41 \times 10^1$	6,64	11,87

Letras distintas na mesma coluna indicam diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$) – teste t de Student

S.T: Sólidos totais

S.N.G: Sólidos não gordurosos

A queda do pH e aumento da acidez corroboram com os estudos de Fonseca & Santos (2000), onde cita que a falta de refrigeração adequada desencadeia a multiplicação de aeróbios mesófilos, estes microrganismos, fermentam a lactose produzindo ácido láctico, que causa acidificação do leite comprometendo sua utilização na indústria, como no presente estudo o leite não provinha de nenhum tipo de tratamento térmico, é certo que o leite sofreu a ação de microrganismos mesófilos, causando a acidificação e elevando os índices da contagem em UFC/ml.

Já os parâmetros gordura, sólidos totais e sólidos não gordurosos apresentaram diferença estatística ($p < 0,05$), se mostrando em conformidade com os parâmetros estabelecidos pelo MAPA quanto à qualidade física do leite e se mostrando em maior concentração no inverno, apresentando as seguintes médias de 3,67%, 12,24% e 8,57% respectivamente.

A gordura sofreu aumento no inverno, fato provavelmente relacionado à adição de alimentos concentrados no mesmo período, fato confirmado por estudos de Fonseca & Santos (2000), onde verificou o efeito da nutrição sobre o teor de sólidos totais, relatando o seu aumento em dietas com maior proporção de concentrados, fato que pode explicar o aumento dos índices no inverno. Segundo descrito por (BRASIL *et al.* 2000), animais submetidos ao estresse calórico sofrem com a queda no consumo de alimento, aumento da ingestão de água e queda na produção de leite, que por sua vez teve redução nos índices de gordura lactose, sólidos totais e proteína.

Os índices das contagens de aeróbios mesófilos, apesar de não haver diferença estatística para ambas as estações, apresentou aumento expressivo, atingindo a média de $1,17 \times 10^6$ UFC/ml indicando que no período de 90 minutos pós ordenha os fatores ambientais como aumento do índice pluviométrico e temperatura, juntamente com a dificuldade de se manter o local de ordenha em condições de higiene aceitáveis, somados a falta de refrigeração começaram a afetar a qualidade do leite fazendo com que os microrganismos se proliferem, segundo (GUIMARÃES, 2002 e BRITO *et al.* 1998) o sistema de produção tem pouca ou nenhuma correlação quanto a qualidade do leite obtido, sendo a contagem de microrganismos mesófilos um importante indicador de qualidade do leite, uma vez que os mesmos encontram situações ótimas de proliferação em ambientes onde há falta de higiene e ou refrigeração inadequada ou inexistente do leite, os quais predominam em situações em que há falta de condições básicas de higiene, os microrganismos mesófilos se multiplicam entre um grande intervalo de temperatura, entre 5 a 50 °C, sendo sua temperatura ótima de proliferações entre 25 e 40°C, este grupo de microrganismos são de suma importância quanto a vida útil de prateleira dos derivados lácteos.

4.4 Avaliação dos testes físico-químicos e microbiológicos no período de 120 minutos pós ordenha

Os resultados das análises decorrentes das amostras de leite com período pós ordenha de 120 minutos, fica claro que no inverno e primavera somente o pH, densidade e crioscopia não apresentaram diferença estatística ($p < 0,05$) e se mantendo dentro da normalidade, conforme estabelecido pelo MAPA, com médias de 6,51, 1,029 g/ml a 15 °C e -0,536 °H respectivamente.

O aumento da densidade do leite descrita no inverno foi proporcional com o aumento da gordura do leite, de acordo com Tronco (2003), a densidade do leite varia entre 1,028 g/ml a 1,034 g/ml a 15°C, ou seja, leite com maior teor de gordura apresenta menor densidade em relação ao leite com baixo teor de gordura, em razão do extrato seco desengordurado que acompanha o aumento do teor de gordura.

Já os parâmetros acidez, gordura, contagem de aeróbios mesófilos, sólidos totais e sólidos não gordurosos apresentaram diferença estatística ($p < 0,05$), com médias de 17,5 °D, 3,65%, 1,83x10⁶ UFC/ml, 12,12% e 8,47% respectivamente. A acidez se apresentou na primavera com 18,2°D, índice superior ao preconizado pelo MAPA que é de 18 °D para leite fresco. Pode-se correlacionar este fato ao maior número na contagem de aeróbios mesófilos também encontrada na primavera, fato explicado por (GALTON *et al.*, 1986) e também justificada pelo passar do tempo em que o leite ficou sem resfriamento adequado e em temperatura ambiente, estimulando a proliferação de microrganismos.

Tabela 4 – Composição físico-química e microbiológica das amostras de leite, 120 minutos pós-coleta

Período	PARÂMETROS AVALIADOS							
	pH	Acidez (°D)	Densidade g/ml a 15 °C	Crioscopia (°H)	Gordura (%)	Cont. Aeróbios Mesófilos (UFC/ml)	S.T (%)	S.N.G (%)
Inverno	6,55	16,8 ^b	1,028	- 0,537	3,80 ^a	1,24x10 ^{6a}	12,82 ^a	9,02 ^a
Primavera	6,47	18,2 ^a	1,030	- 0,535	3,50 ^b	2,42x10 ^{6b}	11,41 ^b	7,91 ^b
Média	6,51	17,5	1,029	- 0,536	3,65	1,83x10 ⁶	12,12	8,47
CV(%)	1,70	3,02	0,35	0,41	5,15	2,25x10 ¹	4,93	4,98

Letras distintas na mesma coluna indicam diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$) – teste t de Student

S.T: Sólidos totais

S.N.G: Sólidos não gordurosos

Quanto ao pH e acidez titulável, caracterizou-se uma relação inversamente proporcional, ou seja, quanto mais o pH do leite diminui, ficando mais ácido, o mesmo ocorre com a acidez titulável.

Os índices de contagem de aeróbios mesófilos se mostraram em diferença estatística ($p < 0,05$), com aumento considerável na primavera, onde chegou a $2,42 \times 10^6$ UFC/ml, segundo relatos de Fonseca & Santos (2000), altas contagens de aeróbios mesófilos estão intimamente relacionadas a hábitos de higiene precária, principalmente na ordenha, limpeza dos utensílios e equipamentos, fatores ambientais como a qualidade da água utilizada para a lavagem dos tetos e equipamentos de ordenha e resfriamento do leite e ocorrendo com menos frequência a alta contagem bacteriana provenientes de mastites, fato que se agrava na primavera devido ao aumento do índice pluviométrico, dificultado a manutenção dos hábitos de higiene no local da ordenha, fato também descrito por Barbieri (2005), onde cita que a estação chuvosa se inicia no final de setembro e termina no início de maio, sugere-se então, que este aumento se deu devido à maior precipitação neste período, o que pode ser justificado pela dificuldade em manter as condições higiênicas adequadas nas instalações, animais e equipamento de ordenha.

4.5 Avaliação dos testes físico-químicos e microbiológicos no período de 150 minutos pós ordenha

Os resultados das análises decorrentes das amostras de leite com período de pós ordenha de 150 minutos, fica claro que no inverno e primavera somente o pH, densidade e crioscopia não houve diferença estatística ($p < 0,05$) e se mantendo dentro da normalidade, conforme estabelecido pelo MAPA, apresentando médias de 6,52, 1,031 g/ml a 15 °C e -0,536 °H respectivamente.

Para os parâmetros acidez, gordura, contagem de aeróbios mesófilos, sólidos totais e sólidos não gordurosos apresentaram diferença estatística ($p < 0,05$), onde a acidez titulável foi de 18,2°Dna primavera, índice acima do recomendado pelo MAPA que é de 18°D para leite fresco, fato que pode ser relacionado à expressiva contagem de aeróbios mesófilos na mesma época do ano que foi de $4,94 \times 10^6$ UFC/ml.

Tabela 5 – Composição físico-química e microbiológica das amostras de leite, 150 minutos pós-coleta

Período	PARÂMETROS AVALIADOS							
	pH	Acidez (°D)	Densidade g/ml a 15 °C	Crioscopia (°H)	Gordura (%)	Cont. Aeróbios Mesófilos (UFC/ml)	S.T (%)	S.N.G (%)
Inverno	6,54	17,0 ^b	1,030	- 0,533	3,72 ^a	1,03x10 ^{6b}	12,84 ^a	9,12 ^a
Primavera	6,49	18,2 ^a	1,032	- 0,539	3,50 ^b	4,94x10 ^{6a}	11,48 ^b	7,98 ^b
Média	6,52	17,6	1,031	- 0,536	3,61	2,99x10 ⁶	12,16	8,55
CV(%)	2,14	3,02	0,08	1,140	6,42	9,09x10 ¹	5,78	8,47

Letras distintas na mesma coluna indicam diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$) – teste t de Student

S.T: Sólidos totais

S.N.G: Sólidos não gordurosos

A diferença estatística relacionada ao aumento da gordura no inverno pode ser relacionada a fatores sazonais devido à queda de qualidade e quantidade das pastagens que durante o período do inverno, fato que leva o produtor a suplementar a dieta do rebanho, no presente estudo os animais foram arraçoados com adição de farelo de soja, o que provavelmente contribuiu para o aumento dos índices de gordura. Com o aumento da gordura houve influência para diminuição da densidade, conforme relatado por Tronco (2003). Fatores ambientais e sazonais causam alterações produtivas e conseqüentemente alteram a composição química do leite, principalmente em animais submetidos ao estresse calórico, como observado por (BRASIL *et al.* 2000) e Gomes *et al.* (2011), onde citam que vacas expostas a altas temperaturas e radiação solar apresentaram queda no consumo de alimento, aumento da ingestão de água e queda na produção de leite, que por sua vez teve redução nos índices de gordura lactose, sólidos totais e proteína.

No parâmetro contagem de mesófilos aeróbios houve um aumento significativo na primavera chegando a $4,94 \times 10^6$ UFC/ml, devido a fatores ambientais como o aumento da temperatura e índice pluviométrico, na estação chuvosa aumenta-se a dificuldade em se manter limpo o local de ordenha, fato que somado a falta de tratamento térmico do leite por 150 minutos reflete os resultados obtidos.

Gigante (2008), cita que a qualidade do leite cru está intimamente ligada à carga bacteriana inicial, sendo necessários bons hábitos de higiene e um sistema de refrigeração que se inicie logo após a ordenha, tais atitudes refletem diretamente na qualidade do produto final e na sua vida útil de prateleira, segundo descrito por (BRANDÃO, 2000 e ADAMS *et al.*, 1975), segundo os autores, contaminações por microrganismos superiores a $1,0 \times 10^4$

UFC/ml produzem enzimas suficientes para produzir alterações no odor e sabor e também no rendimento industrial do leite, refletindo em sua vida de prateleira.

Segundo Siqueira (1995), microrganismos, especialmente as bactérias aeróbias e mesófilas, por se multiplicarem na presença de oxigênio e sob temperatura entre 20 e 45°C, e com temperatura ótima de desenvolvimento em torno de 37°C são responsáveis em acidificar o leite cru em condições de refrigeração precária ou inexistente, tais características ambientais de foram encontradas no presente estudo, onde no inverno a temperatura do leite diretamente aferida no latão foi de 20 a 26 °C e na primavera foi de 26 a 30 °C, haja vista a ausência do tratamento térmico caracterizando ótimas condições para a proliferação bacteriana.

Resultados descritos por Nero *et al* (2004), na região de Botucatu - SP, onde realizou colheitas em um laticínio que não dispunha de transporte a granel refrigerado e o leite era transportado pelos próprios produtores em latões expostos a altas temperaturas por longos períodos durante o transporte, os resultados foram que 68% das amostras ficaram acima de 10^6 UFC/ml, resultados semelhantes aos encontrados no presente estudo nos períodos de 90, 120 e 150 minutos pós ordenha, sendo registradas médias de $1,17 \times 10^6$, $1,83 \times 10^6$ e $2,99 \times 10^6$ UFC/ml, o estudo de Nero se mostra similar ao presente trabalho em relação ao transporte sem refrigeração e aos longos períodos em que o leite ficou sem refrigeração adequada, mostrando uma parcela da realidade dos pequenos e micro produtores que não dispõe de resfriadores na propriedade e nem de uso comunitário e sem nenhum incentivo financeiro para a aquisição do mesmo, não conseguem atingir as metas de premiação dos laticínios referentes a contagem bacteriana, sendo um problema de ordem pública, diante da importância e do risco sanitário que se envolve.

Foi descrito por (MARTINS et al., 2004), que leite com contagens de microrganismos acima de 10^6 , seria desaconselhado o seu uso na fabricação de derivados devido a provável presença de enzimas degradativas extracelulares. Mesmo o leite sendo armazenado sob temperaturas inferiores a 5 °C como descritas pelo MAPA na propriedade rural e na indústria, existe a contaminação primária que está ligada a higiene da ordenha e do ordenhador, utensílios e ambiente, causando a queda da qualidade da matéria prima. A refrigeração do leite tem como objetivo controlar a multiplicação de aeróbios mesófilos. Estes microrganismos, em sua maioria, fermentam a lactose produzindo ácido láctico, que causa acidificação do leite comprometendo sua utilização na indústria (FONSECA & SANTOS, 2000), fato que explicaria a acidificação do leite referente aos índices de contagem de aeróbios mesófilos, que conferiram $4,94 \times 10^6$ na primavera no período de 150 minutos pós ordenha, números bem superiores aos encontrados por FAGAN (2008), onde comparou a

contagens de aeróbios mesófilos em granjas leiteiras no inverno e primavera, encontrando respectivamente $9,0 \times 10^3$ UFC/ml e $12,23 \times 10^3$, o autor concluiu que as contagens de aeróbios mesófilos apresentaram variações nas estações do ano, vindo a corroborar com os resultados do presente estudo.

4.6 Considerações finais

Aspectos relacionados ao ordenhador, como a higiene pessoal e treinamento, assim como o uso comunitário de tanques de expansão, sendo a refrigeração e a conservação do leite abaixo de 7°C influenciam a qualidade microbiológica do leite, sabe-se que a população de coliformes pode dobrar a cada vinte minutos no leite em temperatura média de 30°C , como o presente estudo se desenvolveu sob um sistema de coleta e transporte sem nenhuma refrigeração por conta dos produtores e laticinistas, colocando-se a prova a qualidade do leite e seus derivados (MESQUITA *et al.*, 2002 e BUENO *et al.*, 2004).

Interpretando os resultados das análises, o pH sofreu pequenas alterações, tanto no inverno quanto na primavera nos períodos de 30, 60, 90, 120 e 150 minutos pós coleta, mantendo-se em média 6,5; a acidez titulável apresentou seus maiores índices individuais na primavera chegando a $18,2^\circ\text{D}$ no período de 120 e 150 minutos pós coleta e o menor resultado foi de $16,2^\circ\text{D}$ no período de 30 minutos do inverno, com diferença estatística ($p < 0,05$) sendo a menor média $16,8^\circ\text{D}$ e a maior média $17,60^\circ\text{D}$; já a densidade se manteve constante durante todo o experimento e em ambas as estações com média de $1,030\text{ g/ml}$ a 15°C , descartando qualquer indício de fraude, fato fortalecido pela crioscopia, que manteve-se sem alterações significantes nos meses descritos e nem nos períodos de tratamentos, apresentando média de $-0,536^\circ\text{H}$; a % de gordura apresentou diferença estatística ($p < 0,05$) em todos os tratamentos, sempre com os maiores índices presentes no inverno, em média 3,8% e na primavera média de 3,5%.

Os sólidos totais e sólidos não gordurosos apresentaram diferença estatística ($p < 0,05$) em todos os tratamentos, os maiores resultados para os sólidos totais foram apresentados no inverno, conferindo média de 12,8% e 11,40% na primavera, já os sólidos não gordurosos apresentaram a sua maior média de 9,1% no inverno e 7,9% na primavera.

A contagem de aeróbios mesófilos nos períodos de 30, 60 e 90 minutos não apresentaram diferença estatística ($p < 0,05$) para as estações descritas, porém no período de 90

minutos apesar de não constar diferença estatística, houve um aumento significativo do número da contagem em ambas as estações saltando de milhares para milhões UFC/ml, a primavera foi à estação em que foram aferidas as maiores contagens, nos períodos de 120 e 150 minutos apresentaram diferença estatística ($p < 0,05$) para o inverno e primavera, sendo a primavera a estação que apresentou a contagem mais alta e como já era esperado, o período de 150 minutos em outubro, demonstrou a maior contagem de aeróbios mesófilos $4,94 \times 10^6$ UFC/ml, fato descrito por Barbieri (2005) e Ferreira *et al.* (2006).

5 CONCLUSÃO

O leite colhido em ambas as estações, nos períodos pós ordenha de 30 e 60 minutos se mostraram em melhor estado físico-químico e microbiológico, mostrando que o fator ambiental foi decisivo para tais resultados.

6 REFERÊNCIAS

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

BARBIERI, P.R.B. **Caracterização da estação chuvosa nas regiões sul e sudeste do Brasil associado com a circulação atmosférica**. 2005. 121f. Dissertação (Mestre em Meteorologia)- Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais (INPE), São José dos Campos, 2005.

BARROS, L. Transtornos metabólicos que podem ser detectados por meio do leite. In: **AValiação metabólico nutricional de vacas leiteiras por meio de fluídos corporais**, 1, 2002, Santa Maria. **Anais...** Santa Maria : UFSM, 2002.

BEHMER, Manuel Lecy Arruda. **Tecnologia do leite**: leite, queijo, manteiga, caseína, iogurte, sorvetes e instalações: produção, industrialização, análise. 13. ed. São Paulo: Nobel, 1999. 104p.

BRANDÃO, S.C.C. O Futuro da Qualidade do Leite Brasileiro. **Revista Indústria de Laticínios**, São Paulo, v.5, n.28, p.68-71, jul/ago. 2000.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria da Defesa Agropecuária. Laboratório Nacional de Referência Animal. Instrução Normativa 68 de 12/12/2006. Métodos Analíticos Oficiais Físico Químicos para Controle de Leite e Produtos Lácteos. Disponível em: <http://www.infinityfoods.com.br> acesso em 18 fev. 2012.

BRASIL. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – **EMBRAPA**; Estatísticas do leite, 2011. Disponível em: <http://www.cnpqgl.embrapa.br/> Acesso em 16 fev. 2012.

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. Regulamento Técnico de Produção, Identidade e Qualidade do Leite tipo A, o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite Cru Refrigerado, o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite Pasteurizado e o Regulamento Técnico da Coleta de Leite Cru Refrigerado e seu Transporte a Granel. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/> acesso em 16 fev. 2012.

BRASIL .Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – **EMBRAPA**; Composição do leite. Disponível em:
<http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Agencia8/AG01/arvore/AG01_128_21720039243.html> Acesso em 20 fev. 2012.

BRASIL (2012b). Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – **EMBRAPA**; Crioscopia. Disponível em: <http://http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Agencia8/AG01/arvore/AG01_185_21720039246.html> Acesso em 17 ago. 2012.

BRASIL (2012c). Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – **IBGE; Geociências:** cidades. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/cidadesat/topwindow.htm?1>> Acesso em 18 fev. 2012.

BRASIL, L.H.A. et al. Efeito do estresse térmico sobre a produção composição química do leite e respostas termorreguladoras de cabras da raça Alpina. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.29, n.6, p.1632-1641, nov/dez. 2000.

Brito J. R. F.; Dias J. C. Conceitos básicos da qualidade. In: **A qualidade do leite**. Juiz de Fora: Embrapa-CNPGL, 1998. p.59-66.

BUENO, V.F.F. *et al.* Influência da temperatura de armazenamento e do sistema de utilização do tanque de expansão sobre a qualidade microbiológica do leite cru. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 18, n.124, p. 62-67, 2004.

CALDERÓN, A.; GARCIA, F.; MARTINEZ, G. Indicadores de calidad de lechescrudes em diferentes regiones de Colômbia. **Rev. M. V. Z**, Córdoba, v.11, p.725-737, enero/junio 2006.

CARVALHO, Arnaldo Laboissieret *et al.* **Qualidade do leite do Centro-Oeste**. Goiânia: Editora da UFG, 1995.

CARVALHO, I. C. de. Crioscopia do leite. **Revista Instituto Cândido Tostes**, Juiz de Fora , v. 12, n. 38, p.161-170, 1989.

COLDEBELLA, A. *et al.* Contagem de células somáticas e produção de leite em vacas holandesas confinadas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 33, n. 3, p. 623-634, maio/jun.2004.

CUNHA, R. P. L. *et al.* Mastite subclínica e relação da contagem de células somáticas com número de lactações, produção e composição química do leite em vacas da raça holandesa. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 60, n. 1, p. 19-24, 2008.

DÜRR, J.W. Programa nacional de melhoria da qualidade do leite: uma oportunidade única. In: **O COMPROMISSO com a qualidade do leite no Brasil**. Passo Fundo, RS: Editora Passo Fundo, 2004. p.38-55.

EVERSON, T, C. Concerns and problems of processing and manufacturing in super plants. **Journal Dairy Science**, Champaign,v.67, n.12., p.2095-2100, ago.1984.

ELGERSMA, A. *et al.* Quick changes in milk fat composition from cows after transition from fresh grass to a silage diet. **Animal Feed Science and Technology**, [S.l.], v. 117, n. 1-2, p. 13-27, nov. 2004.

FAGAN, E.P. *et al.* Avaliação de padrões físico-químicos e microbiológicos do leite em diferentes fases de lactação nas estações do ano em granjas leiteiras no Estado do Paraná – Brasil. **Semina, Ciências Agrárias**, Londrina,v.29, n.3, p.651-660, jul/set. 2008.

FERNANDES V, G. Análises físico-químicas de amostras de leite cru de um laticínio em Bicas-MG. **Revista Instituto Cândido Tostes**, Juiz de Fora , v.65, n.375, p.3-10, jul/ago. 2010.

FERREIRA ,L.M. *et al.* Variabilidade fenotípica e genotípica de estirpes de *Staphylococcus aureus* isolados em casos de mastite subclínica bovina. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.36,n. 4., p.1228-1234, maio 2006.

FONSECA, L. F, L.; SANTOS, M. V. **Qualidade do Leite e Controle de Mastite**. São Paulo: Lemos Editorial, 2000.

FONSECA, M. *et al.* Contagem de células somáticas e composição de leite cru granelizado do estado de Minas Gerais. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora , v.59, n, 339, p. 485-488, mar. 2004.

FONTANELI, R.S. *et al.* Análise econômica de sistemas de produção de grãos com pastagens anuais de inverno, em sistema de plantio direto. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 35, n. 11, p. 2129-2137, nov. 2000.

GALTON, D. M.; PETERSON, L. G.; MERILL, W. G. Effects of premilking udder preparation practices on bacterial counts in milk and on teats. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v. 69, n. 1, p. 260-266, nov. 1986.

GIGANTE, M.L. Importância da qualidade do leite no processamento de produtos lácteos. **Ciência Animal Brasileira**, Passo Fundo, v. 9, n. 4, p. 1152-1158, out./dez. 2008.

GOMES Daiany Iris *et al.* Qualidade do leite bovino oriundo de diferentes propriedades rurais na região sudeste do Pará, Brasil/ **Revista de Ciências Agrárias, UFRA**, v.54, n.2, p.165-171, Maio/Ago. 2011.

GONZALEZ, H.L. *et al.* Avaliação da qualidade do leite na bacia leiteira de Pelotas, RS. Efeito dos meses do ano. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 33, n. 6, p. 1531-1543, nov./dez. 2004.

Guimarães, R. Importância da matéria-prima para a qualidade do leite fluido de consumo. **Higiene dos Alimentos**, São Paulo, v.16, n.102-103, p. 25-34, ago.2002.

HAYES, M.C.; BOOR, K. Raw milk and fluid milk products. In: MARTH, E. H.; STEELE, J.L.(Eds.). **Applied dairy microbiology**, 2.ed. New York: Marcel Dekker, 2001. p. 59-76.

HECK, J.M.L. *et al.* Seasonal variation in the Dutch bovine raw milk composition. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 92, n. 10, p. 4745-4755, Oct. 2009.

HURLEY, W. L. **Milk Composition; Synthesis**: Physicochemical properties. U.S.A: Resource Library; University of Illinois, 2006.

INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS. **Microorganismos de los alimentos: técnicas de análisis microbiológico**. Zaragoza: Acribia, 1984. 431p.

Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais (INPE) – Ministério da Ciência Tecnologia e Inovação. Disponível em: <http://www.bancodedados.cptec.inpe.br/>. Acesso 10 jul.2012.

JAY, J. M. **Modern food microbiology**. 4. ed. New York : Chapman & Hall, 1992.

MARTINS, M. C. Competitividade da cadeia produtiva do leite na Brasil. **Revista de Política Agrícola**, Brasília, v.13, n.3, p. 38-51,jul/dez. 2004.

MARTINS, M. L. *et al.* Detecção de Proteases Bacterianas em Leite por Métodos Imunológicos. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 59, n. 339, p. 61, jul./ago. 2004.

MARTINS, P. R. G. *et al.* Produção e qualidade do leite em sistemas de produção da região leiteira de Pelotas, RS, Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.37, n.1, p.212-217, jan/fev. 2007.

MESQUITA, A.J. *et al.* **Milk quality in bulk tanks of community and individual use, in Goiás State, Brazil**. Ribeirão Preto: Instituto Fernando Costa, 2002.

MESQUITA, A.J. *et al.* **A qualidade do leite na Região Centro Oeste e Norte do Brasil avaliada no Laboratório de Qualidade do Leite**. Goiânia, 2008. p. 11-23.

NERO, L.A.*et. al.* **Leite cru de quatro regiões leiteiras brasileiras: perspectivas de atendimento dos requisitos microbiológicos estabelecidos pela IN51.** Passo Fundo: UPF, 2004.

OLIVEIRA, A. J.; CARUSO, J. G. B. Leite . Características, Composição Química, Propriedades, Obtenção Higiênica, Conservação e Tratamento. In: CAMARGO, R. **Tecnologia dos Produtos Agropecuários** : alimentos. Piracicaba : Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 1986. p.191 - 203.

PHILPOT, W. N.; NICKERSON, S. C. **Vencendo a luta contra a mastite.** Campinas: Westfalia, 2002. 192p.

RANGEL. A. H. N. *et al.* Correlação entre a contagem de células somáticas (CCS) e o teor de gordura, proteína, lactose e extrato seco desengordurado do leite. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, Mossoró - RN, v.4, n.3, p. 57 – 60, Maio 2009.

RIEKERINK, R.G.M.O.; BARKEMA, H.W.; STRYHN, H. The effect of season on somatic cell count and the incidence of clinical mastitis. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 90, n. 4, p. 1704-1715, apr. 2007.

ROMA Jr. *et al.* Sazonalidade do teor de proteína e outros componentes do leite e sua relação com programa de pagamento por qualidade. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 61, n. 6, p. 1411-1418, dez. 2009.

SANTOS, M. V.; FONSECA, L. F. L. Bactérias psicotróficas e a qualidade do leite. **Revista CBQL**, São Paulo, v.19, n. 15, p. 12-15, Jun/Jul. 2003.

SILVA, A. T. B. *et al.* Cadeia produtiva do leite no Brasil: cenários para 2020. **Agroanalysis**, FGV, v.29, n.2, p. 1-7, jan. 2009.

SIQUEIRA, R. S. **Manual de Microbiologia de Alimentos.** EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa e Tecnologia Agro-Industrial de Alimentos (Rio de Janeiro-RJ). Brasília: EMBRAPA-SPI; Rio de Janeiro: EMBRAPA-CTAA. 1995. 159 p.

TINÔCO, A. L. A. *et al.* Análise das condições físico-químicas do leite oferecido ao comércio em Viçosa – MG. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 16, n. 98, p. 101-106, jul. 2002.

TORTORA, G. J.; FUNKE, R. B. ; CASE, C. L. **Introducción a La Microbiología.** Zaragoza: Editorial Acribia, 1993. 792 p.

TRONCO, V. M. **Manual para inspeção da qualidade do leite**. 2. ed. Santa Maria : UFSM, 2003.

VALLIN, V. M. *et al.* Melhoria da qualidade do leite a partir da implantação de boas práticas de higiene na ordenha em 19 municípios da região central do Paraná. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 30, n. 1, p. 181-188, Jan./Mar. 2009.

VALSECHI, O. A. **Tecnologia de Produtos Agrícolas de Origem Animal**: o leite e seus derivados. Araras : Universidade Federal de São Carlos, 2001.

WALSTRA, P.; WOUTERS, J.T.M.; GEURTS, T.J. **Dairy Science and Technology**. 2. ed. Boca Raton: Taylor & Francis Group, 2006.782 p.