



Microrganismos deteriorantes do leite armazenado em tanques de resfriamento coletivo em Rondônia



**Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Rondônia
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**

**BOLETIM DE PESQUISA
E DESENVOLVIMENTO
83**

**Microrganismos deteriorantes do leite
armazenado em tanques de resfriamento
coletivo em Rondônia**

*Juliana Alves Dias
Audenice Miranda de Oliveira
Stefany Cristina Cordeiro Macedo
Guilherme Vieira Faria
Naíle Ágata Souza Constantino
Francisco de Assis Correa e Silva*

Exemplares desta edição
podem ser adquiridos na:

Embrapa Rondônia

Rodovia BR-364, Km 5,5, Zona Rural Caixa
Postal: 127 CEP: 76815-800 - Porto Velho - RO
Fones: (69) 3219-5004 / (69) 3219-5000 |
www.embrapa.br/rondonia
www.embrapa.br/fale-conosco/sac

1ª edição
PDF digitalizado (2021)

**Comitê Local de Publicações da
Embrapa Rondônia**

Presidente
Henrique Nery Cirpiani

Secretária
Ana Karina Dias Salman

Membros
André Rostand Ramalho
César Augusto Domingues Teixeira
Lúcia Helena de Oliveira Wadt
Luiz Francisco Machado Pfeifer
Maurício Reginaldo Alves dos Santos
Pedro Gomes da Cruz
Rodrigo Barros Rocha
Victor Ferreira de Souza
Wilma Inês de França Araújo

Normalização bibliográfica
Renata Do Carmo Franca Seabra

Revisão de texto
Wilma Inês de França Araújo

Editoração eletrônica
André Luiz Garcia

Foto da capa
Renata Silva

Todos os direitos reservados.

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte,
constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Embrapa Rondônia

Microrganismos deteriorantes do leite armazenado em tanques de
resfriamento coletivo em Rondônia / Juliana Alves Dias ... [et al]. – Porto
Velho, RO: Embrapa Rondônia, 2020.

28 p.: il. color. – (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento / Embrapa
Rondônia, ISSN 1677-8618; 83).

1. Produção leiteira - Rondônia. 2. Leite - qualidade. 3. Microbiota - leite.
4. Dias, Juliana Alves. 5. Oliveira, Audenice Miranda de. 6. Macedo, Stefany
Cristina Cordeiro. 7. Faria, Guilherme Vieira. 8. Constantino, Naile Ágata
Souza. 9. Silva, Francisco de Assis Correa e. I. Embrapa Rondônia. II. Série.

CDD (21. ed.) 637.1098111

Sumário

Resumo	5
Abstract	7
Introdução.....	8
Material e Métodos	9
Resultados e Discussão	11
Conclusão.....	21
Referências	22

Microrganismos deteriorantes do leite armazenado em tanques de resfriamento coletivo em Rondônia

*Juliana Alves Dias*¹

*Audence Miranda de Oliveira*²

*Stefany Cristina Cordeiro Macedo*³

*Guilherme Vieira Faria*⁴

*Naile Ágata Souza Constantino*⁵

*Francisco de Assis Correa e Silva*⁶

Resumo – Considerando a predominância do uso de tanques de resfriamento coletivos no armazenamento do leite cru em Rondônia e a grande diversidade de microrganismos deletérios ao leite, o objetivo do trabalho foi avaliar a microbiota deteriorante do leite armazenado em 23 tanques coletivos da microrregião de Ji-Paraná e Cacoal. Para a contagem dos microrganismos utilizou-se semeadura em duplicata de 1 mL em placas de Petrifilm® AC aeróbios mesófilos e Petrifilm® EC coliformes totais de acordo com o fabricante. Para a contagem de psicotróficos e termodúricos psicotróficos, as amostras foram semeadas em ágar padrão leite a 10%. Para a pesquisa de microrganismos termodúricos mesófilos e psicotróficos, as amostras foram submetidas ao tratamento térmico ($62,8 \pm 0,5$ °C) e resfriada a 10 °C. A determinação da Contagem Total de Bactérias, convertidas em Contagem Padrão em Placas (CPP), e Contagem de Células Somáticas (CCS) foi realizada pelo método de citometria de fluxo em equipamento automatizado. A mediana de produtores dos tanques avaliados foi de 5 variando de 2 a 19. Dos 23 tanques avaliados, 65,2% apresentaram CPP acima de 300.000

¹ Médica-veterinária, Dsc. Ciência Animal, Pesquisadora A, Embrapa, Porto Velho, RO, Brasil.
E-mail: juliana.dias@embrapa.br

² Bióloga, Msc. Ciências Ambientais, Porto Velho, RO, Brasil.

³ Zootecnista, Porto Velho, RO, Brasil.

⁴ Biólogo, Msc. Biociências e Biotecnologia, Técnico B, Embrapa, Porto Velho, RO, Brasil.

⁵ Zootecnista, Porto Velho, RO, Brasil.

⁶ Administrador, Msc. Administração de empresas, Analista A, Embrapa, Porto Velho, RO, Brasil.

UFC/mL, limite em vigor definido na legislação. A mediana dos resultados de CPP foi de 415.000 UFC/mL para as amostras de tanque da microrregião de Ji-Paraná e 555.000 UFC/mL para tanques da microrregião de Cacoal, não sendo observada diferença estatística da CPP entre as regiões. A mediana da contagem de mesófilos, psicrotróficos, psicrotróficos proteolíticos, coliformes, termodúricos mesófilos e psicrotróficos foram, respectivamente: $2,8 \times 10^5$ UFC/mL, $6,8 \times 10^5$ UFC/mL, $4,6 \times 10^5$ UFC/mL, $2,0 \times 10^4$ UFC/mL, $1,5 \times 10^3$ UFC/mL, $1,3 \times 10^3$ UFC/mL. O resultado deste trabalho demonstrou altas contagens de bactérias deteriorantes no leite cru resfriado armazenado em tanques coletivos, indicando a ocorrência de efeitos deletérios ao leite e derivados lácteos produzidos, e de prejuízos econômicos e tecnológicos para a indústria regional. A definição de estratégias específicas, priorizando a adoção de boas práticas de ordenha e adequação da logística, estrutura e processos para o resfriamento do leite, é fundamental para a redução da contaminação microbiológica da matéria-prima e adequação à legislação.

Palavras-chave: bactérias deteriorantes, tanques coletivos, qualidade do leite.

Deteriorating microorganisms in milk stored in collective cooling tanks in Rondônia

Abstract – Considering the predominance of using collective cooling tanks for the storage of raw milk in Rondônia and the great diversity of microorganisms harmful to milk, the objective of the work was to evaluate the deteriorating microbiota of milk stored in 23 collective tanks in the micro-region of Ji-Paraná and Cacoal. For counting the microorganisms, seeding in duplicate of 1 mL was used in aerobic mesophilic Petrifilm® AC and total coliform Petrifilm® EC plates according to the manufacturer. For counting psychrotrophic and psychrotrophic thermotolerant, the samples were seeded on standard 10% milk agar. For the research of psychrotrophic and thermotolerant mesophilic microorganisms, the samples were submitted to heat treatment (62.8 ± 0.5 °C) and cooled to 10 °C. The determination of the Total Bacteria Count, converted to Standard Plate Count (SPC), and Somatic Cell Count (SCC) were performed by the flow cytometry method in automated equipment. The median of farmers of the tanks evaluated was 5, varying from 2 to 19. Of the 23 tanks evaluated, 65.2% had SPC above 300,000 CFU/mL, the current limit defined in legislation. The median of SPC results was 415,000 CFU/mL for tank samples from the Ji-Paraná micro-region and 555,000 CFU/mL for tanks in the Cacoal micro-region, with no statistical difference in SPC between regions. The median count of mesophilic, psychrotrophic, proteolytic psychrotrophic, coliform, mesophilic and psychrotrophic thermotolerant were 2.8×10^5 CFU/mL, 6.8×10^5 CFU/mL, 4.6×10^5 CFU/mL, 2.0×10^4 CFU/mL, 1.5×10^3 CFU/mL and 1.3×10^3 CFU/mL, respectively. The result of this work revealed high deteriorating bacteria counts in raw milk stored in collective tanks, indicating the occurrence of deleterious effects to the milk and dairy products, and economic and technological losses for the regional industry. Defining specific strategies, prioritizing in the adoption of good practices in milking and adaptations in logistic, structure and processes for the milk cooling is fundamental for the microbiological contamination reduction in raw material and adequacy to legislation.

Keywords: deteriorating bacterial, collective cooling tanks, milk quality.

Introdução

A qualidade microbiológica do leite cru resulta entre outros fatores, das condições de manejo da ordenha e de resfriamento e conservação da matéria-prima. Considerando a influência da temperatura na conservação do leite cru, foi estabelecida a obrigatoriedade do resfriamento do leite e o transporte a granel com o objetivo de conservar a sua qualidade até a recepção em estabelecimentos com inspeção sanitária oficial (Brasil, 2002; 2018a).

Para o perfil do produtor predominante no estado de Rondônia, caracterizado pela baixa escala de produção de leite, a aquisição de tanques de resfriamento foi considerada ponto crítico e a estratégia adotada foi a utilização de tanques de expansão coletivos. Esta estratégia resultou em aumento na adoção desta tecnologia pelos produtores de 6,8% em 2006 (IBGE, 2006) para 68% em 2013 (IDARON, 2013), o que refletiu no aumento do leite industrializado no estado. De acordo com os dados obtidos pela Agência de Defesa Sanitária Agrosilvopastoril do Estado de Rondônia (IDARON), em 2017 89,5% do leite resfriado recebido pela indústria estava armazenado em tanques de resfriamento coletivos (IDARON, 2017). Embora tenham sido observados avanços estruturais com foco na melhoria da qualidade do leite em Rondônia com a aquisição de tanques de resfriamento, melhoria das estradas e qualidade da energia elétrica, ainda são observados indicadores insatisfatórios de qualidade microbiológica do leite, em grande parte em virtude da baixa adoção de boas práticas agropecuárias e a deficiente logística para o resfriamento do leite (Carvalho, 2012; Dias et al., 2015a).

Em estudo realizado por Dias et al. (2015b) na microrregião de Ji-Paraná, RO, foi avaliada a qualidade microbiológica do leite total de 266 rebanhos, e observaram que 195 (73,0%) apresentaram Contagem Padrão em Placas (CPP) > 100.000 UFC/mL. Neste trabalho, a entrega do leite no tanque comunitário realizada por carreteiro foi considerada fator de risco para CPP > 100.000 UFC/mL demonstrando que esta prática associada a falhas de manejo e a alta temperatura da região contribui para a baixa qualidade do leite. Na mesma microrregião foram avaliados 73 tanques de resfriamento e o resultado de CPP demonstrou mediana de 196.500 UFC/mL e 965.000 UFC/mL para tanques individuais e coletivos respectivamente, demonstrando a importância de conhecer os fatores associados à baixa qualidade microbiológica do leite em tanques de uso coletivo da região (Dias et al., 2014).

Diferentes grupos de microrganismos podem compor a microbiota deteriorante do leite. Os aeróbios mesófilos incluem um grupo de microrganismos capazes de se multiplicarem numa faixa de temperatura entre 20 °C e 45 °C, e encontram nas temperaturas ambientes condições ótimas para o seu metabolismo (Franco; Landgraf, 2003). São fermentadores de lactose produzindo ácido láctico e outros ácidos orgânicos, o que causa a acidez do leite (Brito et al., 2003). O resfriamento do leite após a ordenha reduz significativamente a multiplicação dos aeróbios mesófilos, porém, favorece a multiplicação da microbiota psicotrófica (Santana et al., 2001). Bactérias psicotróficas são aquelas capazes de se desenvolver em temperaturas abaixo de 7 °C, sendo os principais agentes de deterioração do leite cru refrigerado e de seus derivados (Frank et al., 1992).

Considerando a alta contagem de bactérias observada em leite armazenado em tanques coletivos de Rondônia, e a grande diversidade de microrganismos deletérios ao leite pasteurizado, UHT e derivados, este trabalho teve o objetivo de avaliar a microbiota deteriorante do leite armazenado em tanques de resfriamento coletivos localizados nas microrregiões de Cacoal e Ji-Paraná, e identificar as condições estruturais e procedimentos adotados para o resfriamento e conservação do leite cru refrigerado.

Estudos epidemiológicos relacionados à qualidade microbiológica do leite fornecem diretrizes para a definição de estratégias para adoção/adequação de práticas e processos a fim de garantir padrões de produção, e reduzir o descarte de matéria prima fora dos padrões higiênico-sanitários estabelecidos, entre outros efeitos adversos nos derivados lácteos. Portanto, está alinhado ao “Objetivo de Desenvolvimento Sustentável” – ODS 12 proposto pela Organização das Nações Unidas (ONU), que visa garantir padrões de produção e de consumo sustentáveis.

Material e métodos

Locais e período do estudo

Foram avaliados 23 tanques coletivos, sendo 10 localizados na microrregião de Ji-Paraná e 13 localizados na microrregião de Cacoal, estado de Rondônia, no período de março a abril de 2017.

Coleta das amostras e dados

As amostras de leite foram coletadas de tanques de resfriamento coletivo, após homogeneização do leite, da parte superior e central do tanque e acondicionadas em frascos de vidro estéreis para a análise de microrganismos deteriorantes e em frascos contendo conservante azidiol e bronopol para a determinação da Contagem Padrão em Placas (CPP) e Contagem de Células Somáticas (CCS), respectivamente. Os frascos foram identificados e armazenados em caixas isotérmicas contendo gelo reciclável e encaminhados imediatamente para o Laboratório de Qualidade do Leite na Embrapa Rondônia para análise laboratorial.

No momento da coleta das amostras de leite foi aplicado um questionário epidemiológico ao responsável do tanque, a fim de obter informações relacionadas às características gerais do tanque, limpeza e manutenção dos equipamentos, logística de resfriamento e análises do leite realizadas pelo produtor/indústria. Os tanques de resfriamento selecionados foram georreferenciados por meio de equipamento de GPS (*Global Positioning System*).

Diagnóstico microbiológico e indicadores higiênico-sanitários

Para a pesquisa de microrganismos deteriorantes, as amostras de leite dos tanques coletivos foram diluídas serialmente em escala decimal utilizando solução salina esterilizada 0,85%. As diluições selecionadas para cada microrganismo foram semeadas em duplicata em placas Petrifilm® AC (para aeróbios mesófilos) e Petrifilm® EC (para coliformes totais e *E. coli*), seguindo os procedimentos descritos por Morton (2001) e interpretadas de acordo com as recomendações do fabricante.

Para a contagem de psicrotróficos e termodúrico psicrotróficos foi utilizado o método de semeadura em superfície, em duplicata, em ágar padrão para contagem (PCA) acrescido de leite em pó à 10%, e incubados a 7 °C por 10 dias conforme procedimento descrito por Frank e Yousef (2004). Para a determinação da contagem de termodúricos foi realizado o preparo térmico da amostra antes de proceder a diluição das amostras de leite. Para isso, uma alíquota de 5 mL da amostra de leite foi incubada em banho-maria a 62,8 °C por 30 minutos. Para a contagem de termodúrico mesófilo, foi utilizado o

método em superfície em PCA. As placas foram incubadas a 37 °C por 48-72 horas de acordo com Frank e Yousef (2004).

A determinação da Contagem Total de Bactérias, convertidas em Contagem Padrão em Placas (CPP), e Contagem de Células Somáticas (CCS) foi realizada pelo método de citometria de fluxo em equipamento automatizado Bentley IBC® (Bentley Instruments) e CombiScope FTIR400 (Delta Instruments) respectivamente, de acordo com a International Organization for Standardization (2006, 2013).

Análise dos dados

As informações do questionário epidemiológico e os resultados da pesquisa de microrganismos deteriorantes e determinação de CPP e CCS foram armazenados em um banco de dados do programa Epiinfo 7.2.2.16. A análise de frequência e estatística descritiva das variáveis do questionário epidemiológico e resultados laboratoriais foram realizadas utilizando o programa Epiinfo 7.2.2.16. Para análise dos dados, as contagens de bactérias foram convertidas em log e os resultados comparados utilizando o teste U de Mann-Whitney com nível de significância de 5%.

Resultados e discussão

Caracterização dos tanques de resfriamento coletivos

As características gerais dos tanques coletivos avaliados estão apresentadas na Tabela 1. Dos tanques avaliados, dois equipamentos da microrregião de Cacoal não possuíam edificação própria, sendo localizados na varanda da casa dos produtores responsáveis. Na microrregião de Ji-Paraná, os tanques estavam localizados de forma predominante em edificações de alvenaria (87,5%), e na microrregião de Cacoal 53,8% dos tanques estavam instalados em edificações de madeira. Nos tanques avaliados foi observada a presença de pontos de água em 87% das edificações, sendo mais frequentemente utilizada a água de poço na microrregião de Ji-Paraná, e de nascentes na microrregião de Cacoal. Em 22 tanques avaliados (95,6%) havia vulnerabilidade quanto a entrada de pessoas estranhas.

A mediana de produtores de leite por tanque coletivo foi 5, variando de 2 a 19. A capacidade dos tanques estudados era superior à quantidade recebida, sendo a mediana da capacidade dos tanques refrigerados de 1.000 litros e o volume de leite recebido por dia de 195 litros, sendo os resultados por microrregiões apresentados na Tabela 2. A mediana da distância da propriedade ao tanque coletivo foi de 50 metros, variando de 0 a 5.000 metros. As maiores distâncias entre propriedade e tanque de resfriamento foram verificadas na microrregião de Cacoal, nas situações em que a entrega do leite era realizada por intermediários/carreiros (n=3).

As variáveis relacionadas à limpeza e manutenção do tanque e logística de resfriamento do leite estão apresentadas na Tabela 3. A limpeza do tanque era realizada de forma predominante pelo produtor, e em 50% (5/10) dos tanques (Ji-Paraná) e 45,4% (5/13) (Cacoal) o procedimento era realizado exclusivamente por mulheres. Para a limpeza, o detergente neutro era utilizado em 91% dos tanques, utilizando de forma predominante vassoura (Ji-Paraná) ou esponja sintética (Cacoal) em condições regulares de conservação. Considerando a condição geral, nove tanques (39,1%) foram considerados limpos.

A entrega do leite no tanque coletivo era realizada de forma predominante pelo produtor, sendo a entrega realizada por intermediários/carreiros verificada em três dos tanques avaliados da microrregião de Cacoal. Nestes tanques, o carreiro era responsável pela lavagem dos latões e posterior entrega aos produtores, permanecendo o latão nas bancadas instaladas nas margens da estrada e expostos a poeira e outras variáveis climáticas. A lavagem dos latões era realizada na área do tanque de forma deficiente e sem estrutura adequada. Dias et al. (2016) relataram que a presença do intermediário está relacionada a distância entre a propriedade e o tanque, e tempo entre o fim da ordenha e a entrega do leite no tanque, contribuindo para um maior tempo para o resfriamento do leite e falhas na lavagem e manejo dos latões, refletindo em altas contagens de bactérias.

De acordo com os responsáveis dos tanques, o teste do alizarol era realizado no momento da entrega do leite em apenas dois tanques, e sem regularidade na execução do teste. Em todos os tanques era realizada a coleta de amostras para análise físico-química e determinação dos indicadores higiênico-

sanitários e composicionais. O retorno dos resultados das análises de leite ao produtor responsável pelo tanque era realizado somente nos tanques localizados na microrregião de Cacoal. Quanto ao conhecimento relacionado à legislação que trata sobre a qualidade do leite, somente dois produtores responsáveis por tanques relataram ter conhecimento.

Tabela 1. Características gerais dos tanques de resfriamento coletivos avaliados, microrregião de Ji-Paraná e Cacoal, Rondônia, 2017.

Variável	Categoria	Microrregião Ji-Paraná		Microrregião Cacoal	
		n	%	n	%
Características gerais do tanque					
Edificação para o tanque	Sim	10	100	11	84,6
	Não	-	-	2	15,4
Material da edificação	Madeira	1	12,5	7	53,8
	Alvenaria	7	87,5	4	30,8
	Varanda da casa	-	-	2	15,4
Piso da edificação	Cerâmica	5	50,0	6	46,2
	Cimento	4	40,0	4	30,8
	Cimento queimado	1	10,0	3	23,1
Parede da edificação	Cimento	5	50,0	3	23,1
	Tijolo	2	20,0	1	7,7
	Madeira	3	30,0	7	53,8
	Sem parede	-	-	2	15,4
Ponto de água na edificação	Sim	8	80,0	12	92,3
	Não	2	20,0	1	7,7
Fonte da água	Poço Amazônico	6	60,0	3	27,3
	Nascente	4	40,0	8	72,7
Tratamento da água	Sim	2	33,3	2	20,0
	Não	4	66,7	8	80,0
Material para coar o leite na entrada do tanque	Sim	4	40,0	2	15,4
	Não	6	60,0	11	84,6
Estrutura vulnerável para entrada de pessoas estranhas	Sim	10	100,0	12	92,3
	Não	-	-	1	7,7

Tabela 2. Distribuição das variáveis relacionadas às características gerais e logística de resfriamento dos tanques de resfriamento avaliados, microrregião de Ji-Paraná e Cacoal, Rondônia, 2017.

Variáveis	Microrregião de Ji-Paraná					Microrregião de Cacoal				
	N ¹	Média	Min. - Máx. ²	Q2 ³	Q1 - Q3 ⁴	N	Média	Min. - Máx.	Q2	Q1 - Q3
Características gerais do tanque										
Número de produtores	10	5	2 - 9	5	4 - 5	12	7	2 - 19	5	2 - 12
Capacidade do tanque (litros)	10	936	500 - 1.950	1000	500 - 1.120	13	1.238	350 - 2.200	1.010	1.000 - 1.775
Volume de leite recebido (litros/dia)	9	202	66 - 500	159	121 - 255	10	293	52 - 620	257	135 - 428
Logística de resfriamento										
Distância mínima da propriedade ao tanque (metros)	5	80	50 - 150	50	50 - 125	11	123	0 - 400	50	0 - 300
Distância máxima da propriedade ao tanque (metros)	5	830	200 - 2000	700	225 - 1500	11	1.977	200 - 5.000	1.500	600 - 3.000

¹ Número de tanques avaliados; ² Mínimo - Máximo; ³Mediana; ⁴1º Quartil - 3ºQuartil

Tabela 3. Variáveis relacionadas à limpeza e manutenção, logística de resfriamento do leite e das análises de amostras de leite realizadas em tanques coletivos, microrregião de Ji-Paraná e Cacoal, Rondônia, 2017.

Variável	Categoria	Microrregião Ji-Paraná		Microrregião Cacoal	
		n	%	n	%
Limpeza e manutenção					
Responsável pela limpeza do tanque	Proprietário	8	80,0	11	100,0
	Encarregado	2	20,0	-	-
Sexo do responsável	Feminino	5	50,0	5	45,4
	Masculino	4	40,0	3	27,3
	Ambos	1	10,0	3	27,3
Treinamento para limpeza do tanque	Sim	1	10,0	6	54,5
	Não	9	90,0	5	45,5
Tipo de detergente	Neutro	10	100,0	11	84,6
	Caseiro	-	-	1	7,7
	Alcalino	-	-	1	7,7
Utensílios utilizados	Escova para tanques	3	30,0	2	15,4
	Esponja sintética	1	10,0	6	46,2
	Vassoura	5	50,0	4	30,8
	Outros	1	10,0	1	7,7
Condição dos utensílios	Bom	2	20,0	3	23,1
	Regular	5	50,0	7	53,8
	Ruim	3	30,0	3	23,1
Condição de limpeza do tanque	Limpo	4	40,0	5	45,4
	Interno - limpo; Externo- sujo	4	40,0	4	36,4
	Sujo	2	20,0	2	18,2
Condição de limpeza da edificação	Limpo e seco	6	66,7	1	11,2
	Limpo e molhado	2	22,2	4	44,4
	Sujo	1	11,1	4	44,4
Logística de resfriamento do leite					
Entrega do leite no tanque	Produtor	10	100,0	10	76,9
	Intermediário/ carreteiro	-	-	3	23,1

(Continua)

Tabela 3. Continuação.

Variável	Categoria	Microrregião Ji-Paraná		Microrregião Cacoal	
		n	%	n	%
Responsável pela higienização do latão de leite	Produtor	10	100,0	10	76,9
	Intermediário/ carreteiro	-	-	3	23,1
Periodicidade da captação do leite pela indústria	48 horas	10	100,0	11	100,0
Condições da estrada de acesso ao tanque	Bom	4	40,0	1	7,7
	Regular	5	50,0	9	69,2
	Ruim	1	10,0	2	15,4
Análises do leite e conhecimento da legislação					
Teste do alizarol na recepção do leite no tanque	Sim	1	10,0	1	8,3
	Não	9	90,0	11	91,7
Capacitação para realização do teste do alizarol	Sim	-	-	4	30,8
	Não	10	100,0	9	69,2
Análises do leite do tanque	Sim	10	100,0	13	100,0
Retorno dos resultados laboratoriais	Informa e faz recomendações	-	-	11	84,6
	Não informa	10	100,0	2	15,4
Conhecimento da Instrução Normativa 62	Sim	1	10,0	1	7,7
	Não	9	90,0	12	92,3

Análise de microrganismos deteriorantes e indicadores de qualidade do leite

Na Tabela 4 está apresentada a distribuição dos resultados da CPP e CCS em amostras de leite armazenado nos tanques coletivos avaliados. Os resultados da distribuição da CCS entre os tanques avaliados, demonstraram o atendimento aos limites vigentes estabelecidos pela IN76 para este indicador (500.000 céls/mL) (BRASIL, 2018b). Dos 23 tanques de resfriamento avaliados, 21 (91,3%) apresentaram CCS abaixo de 500.000 céls/mL.

Os resultados da avaliação da CPP demonstraram que dos 23 tanques coletivos avaliados, 65,2% apresentaram CPP acima de 300.000 UFC/mL, limite definido na legislação vigente (BRASIL, 2018b). A mediana dos resultados de CPP foi de 415.000 UFC/mL para as amostras de tanque da microrregião de Ji-Paraná e 555.000 UFC/mL para tanques da microrregião de Cacoal, não sendo observada diferença estatística da CPP entre as regiões ($p>0,05$).

Estudos realizados em Rondônia demonstraram alta frequência de tanques de resfriamento coletivos acima do limite estabelecido para a CPP. Resultados obtidos por Carvalho (2012) na microrregião de Ji-Paraná/RO demonstraram médias de CPP em tanques de resfriamento estatisticamente maiores ($p<0,05$) no período chuvoso em comparação com período seco sendo a média geométrica de CPP de 724.000 UFC/mL e 631.000 UFC/mL, respectivamente. Estudo realizado por Dias et al. (2017), avaliaram espacialmente os resultados das análises oficiais de CPP de tanques de resfriamento vinculados a dois laticínios no estado de Rondônia, e demonstrou média geométrica de CPP em tanques coletivos de 732.000 UFC/mL e 515.000 UFC/mL. Nas áreas prioritárias, a presença de intermediários na entrega do leite no tanque foi considerada ponto crítico para ocorrência de resultados de CPP acima dos estabelecidos pela legislação.

O resultado da avaliação de microrganismos deteriorantes em amostras de leite cru armazenados em tanques de resfriamento coletivo demonstrou mediana da contagem de mesófilos, psicrotróficos, psicrotróficos proteolíticos, coliformes, termodúricos mesófilos e psicrotróficos de $2,8 \times 10^5$ UFC/mL, $6,8 \times 10^5$ UFC/mL, $4,6 \times 10^5$ UFC/mL, $2,0 \times 10^4$ UFC/mL, $1,5 \times 10^3$ UFC/mL, $1,3 \times 10^3$ UFC/mL respectivamente (Tabela 5).

A alta contagem de bactérias deteriorantes em leite armazenado em tanques coletivos pode estar relacionada a fatores como infraestrutura deficiente, baixa adoção de boas práticas de ordenha nas propriedades do estado (Carvalho, 2012; Dias, et al., 2015a, Sebrae, 2015; Dias et al., 2017) e falhas na logística de resfriamento associado a deficiências nos procedimentos de limpeza e manutenção de tanques de resfriamento (Dias, et al., 2014).

Estudos realizados em diferentes regiões de Rondônia demonstram a ocorrência de altas contagens de bactérias quando a entrega do leite no

Tabela 4. Distribuição dos resultados da contagem total de bactérias e contagem de células somáticas de amostras de leite armazenado em tanques de resfriamento coletivos, microrregiões de Ji-Paraná e Cacoal, Rondônia, 2017.

Requisitos	Microrregião de Ji-Paraná				Microrregião de Cacoal			
	N ¹	Média	Q2 ²	Q1 - Q3 ³	N	Média	Q2	Q1 - Q3
CCS (cél/mL * 1.000) ⁴	10	262	228	174 - 335	13	268	256	148 - 388
CPP (ufc/mL * 1.000) ⁵	10	745	415	253 - 1.504	13	1.081	555	203 - 2.350

¹ Número de tanques avaliados; ² Mediana; ³1º Quartil - 3º Quartil; ⁴Contagem de Células Somáticas; ⁵ Contagem Padrão em Placas

Tabela 5. Distribuição dos resultados dos microrganismos aeróbios mesófilos, psicrotróficos, psicrotróficos proteolíticos, coliformes, *E. coli*, termodúricos mesófilos e psicrotróficos em amostras de leite de tanques de resfriamento coletivos, microrregiões de Ji-Paraná e Cacoal, Rondônia, 2017.

Microorganismos	Microrregião de Ji-Paraná					Microrregião de Cacoal				
	N ¹	Média	Mín. - Máx. ²	Q2 ³	Q1 - Q3 ⁴	N	Média	Mín. - Máx.	Q2	Q1 - Q3
Aeróbios mesófilos	10	5,4x10 ⁵	9,1x10 ⁴ - 1,4x10 ⁶	3,5x10 ⁵	1,9x10 ⁵ - 8,1x10 ⁵	13	2,0x10 ⁶	4,7x10 ⁴ - 1,6x10 ⁷	2,8x10 ⁵	9,6x10 ⁴ - 2,1x10 ⁶
Psicrotróficos	10	3,8x10 ⁶	1,0x10 ⁵ - 1,6x10 ⁷	1,5x10 ⁶	1,2x10 ⁵ - 7,5x10 ⁶	13	2,9x10 ⁶	4,0x10 ³ - 3,0x10 ⁷	4,6x10 ⁵	1,8x10 ⁴ - 1,3x10 ⁶
Psicrotróficos proteolíticos	10	8,8x10 ⁶	4,2x10 ⁴ - 3,8 x10 ⁶	6,2x10 ⁵	9,7x10 ⁴ - 1,0x10 ⁶	13	2,8x10 ⁶	0 - 3,0x10 ⁷	1,3x10 ⁶	0 - 1,2x10 ⁶
Coliformes	10	7,2x10 ⁴	1,4x10 ³ - 3,3x10 ⁵	2,2x10 ⁴	4,0x10 ³ - 1,3x10 ⁵	13	1,4x10 ⁵	4,5x10 ² - 8,8x10 ⁵	2,0x10 ⁴	7,7x10 ³ - 2,0x10 ⁵
<i>E. coli</i>	10	2,5x10 ²	0 - 1,2x10 ³	0	0 - 5,5x10 ²	13	7,7x10 ²	0 - 3,9x10 ³	5,0x10 ¹	0 - 1,3x10 ³
Termodúricos mesófilos	10	9,3x10 ³	2,5x10 ² - 5,0x10 ⁴	1,3x10 ³	5,0x10 ² - 1,0x10 ⁴	13	3,6x10 ⁴	9,5x10 ¹ - 2,7x10 ⁵	3,9x10 ³	1,3x10 ² - 2,4x10 ⁴
Termodúricos psicrotróficos	10	1,4x10 ⁴	0 - 1,0x10 ⁵	3,4x10 ³	4,8x10 ² - 1,1x10 ⁴	13	7,5x10 ³	0 - 7,2x10 ⁴	3,5x10 ²	0 - 6,2x10 ³

¹ Número de tanques avaliados; ² Mínimo - Máximo; ³Mediana; ⁴1º Quartil - 3º Quartil

tanque é realizada por intermediários/carreiros (Dias, et al., 2015, 2017). No presente trabalho, nos tanques coletivos em que a entrega do leite era realizada por carreiros, foram observadas altas contagens de todos os grupos de microrganismos avaliados, com mediana da contagem de microrganismos de $2,35 \times 10^6$ UFC/mL para mesófilos, $1,3 \times 10^6$ UFC/mL para psicotróficos, $1,1 \times 10^6$ UFC/mL para psicotróficos proteolíticos e $4,25 \times 10^5$ UFC/mL para coliformes totais. A distribuição dos resultados de mesófilos, psicotróficos e coliformes de acordo com o tipo de entrega do leite no tanque de resfriamento está demonstrado na Figura 1.

A mediana da contagem de microrganismos mesófilos foi de $2,8 \times 10^5$ UFC/mL, variando de $4,7 \times 10^4$ a $1,6 \times 10^7$ UFC/mL. Arcuri et al. (2006) relataram que dentre os fatores que contribuem para redução das contagens de mesófilos no leite armazenado em tanques de resfriamento estão a adoção de procedimentos de limpeza e estocagem do leite a $4\text{ }^\circ\text{C}$.

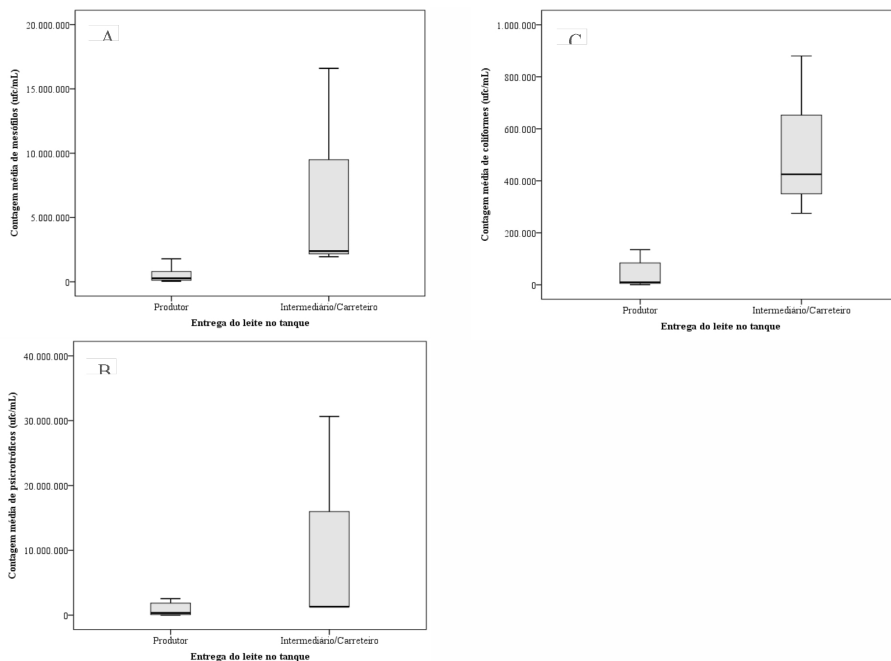


Figura 1. Distribuição dos resultados de microrganismos mesófilos (A), psicotróficos (B) e coliformes (C) em amostras de leite de tanques coletivos de acordo com o tipo de entrega do leite no tanque, microrregiões de Ji-Paraná e Cacoal, Rondônia, 2017.

Estudos realizados no Brasil demonstram elevada contagem de microrganismos aeróbios mesófilos em amostras de leite de tanques coletivos (Brito et al., 2003; Arcuri et al., 2006; Silva et al., 2011). De acordo com Bueno (2004), a utilização de tanques comunitários pode acumular falhas individuais, o que prejudica a qualidade do leite de conjunto. Além disso, existem tanques comunitários que ficam distantes de algumas propriedades e os produtores realizam a entrega do leite à carreteiros em um ponto comum, o que cria mais um passo no transporte e pode estar sujeito a atrasos, sendo um fator que contribui para a demora na entrega do leite no tanque, contribuindo para o aumento da multiplicação microbiana no leite, principalmente nos meses mais quentes do ano (Brito et al., 2003). Silva et al. (2011) relataram que a entrada constante de leite em temperatura ambiente no tanque, leva a redução da eficiência da refrigeração.

Foram observadas altas contagens de psicotróficos e psicotróficos proteolíticos nas amostras de leite de tanque avaliadas. Embora não tenham parâmetros definidos para a contagem de psicotróficos na legislação, Pinto et al. (2006) relataram que a fabricação de produtos a partir do leite cru com valores acima de $5,0 \times 10^6$ UFC/mL torna-se inadequado. A proteólise causada por enzimas de bactérias psicotróficas está associada a problemas como gelificação do leite UHT, aumento da taxa de sedimentação, redução do rendimento dos queijos, levando ao comprometimento da qualidade, redução da vida de prateleira e consequentes prejuízos financeiros para a indústria (Sørhøug; Stepaniak, 1997; Sousa et al., 2007).

A presença de coliformes são indicativos de contaminação ambiental ou até mesmo de resíduos fecais, sendo sua presença no leite indicativa de falta de higiene durante a ordenha, no armazenamento ou transporte do leite (Silveira; Bertagnolli, 2014). A mediana da contagem de coliformes nas amostras de leite avaliadas foi de $2,2 \times 10^4$ UFC/mL e $2,0 \times 10^4$ UFC/mL para as microrregiões de Ji-Paraná e Cacoal respectivamente, indicando falhas na obtenção higiênica do leite e na lavagem de utensílios e tanques de resfriamento. Pantoja et al. (2011) estudando os fatores associados às contagens de coliformes em leite cru observou que falhas nos procedimentos de higienização de equipamentos de ordenha e queda das teteiras durante a ordenha foram associados ao aumento de coliformes, demonstrando a importância da manipulação e higienização adequada de equipamentos de

ordenha. A presença de *E. coli* foi demonstrada nas amostras de leite de tanque avaliadas, indicando condições higiênicas inadequadas de obtenção do leite e forte indicativo de contaminação fecal.

Os microrganismos termodúricos, se caracterizam por resistirem à pasteurização (Franco; Landgraf, 2003). No leite, esses microrganismos também podem ser psicotróficos proteolíticos e/ou lipolíticos, deteriorando o leite pasteurizado (Ribeiro Júnior et al., 2013). Os principais gêneros esporulados no leite são os *Bacillus* e os *Paenibacillus*, pois possuem características psicotróficas e/ou termodúricas capazes de se multiplicar em temperaturas de refrigeração e resistirem à pasteurização atravessando toda cadeia do leite (Beloti, 2015). A mediana da contagem de microrganismos termodúricos mesófilos nas amostras avaliadas foi de $1,5 \times 10^3$ UFC/mL variando de $9,5 \times 10^1$ UFC/mL e $2,7 \times 10^5$ UFC/mL e termodúricos psicotróficos foi $1,3 \times 10^3$ UFC/mL variando de 0 a $1,0 \times 10^5$ UFC/mL. Devido a ampla distribuição de microrganismos termodúricos no ambiente, estratégias para reduzir/ eliminar a contaminação microbiológica são fundamentais melhorar a qualidade e seguridade da matéria-prima.

Conclusões

A caracterização dos tanques de resfriamento coletivos avaliados demonstrou falhas na execução dos procedimentos de limpeza e manutenção dos equipamentos, na logística de resfriamento do leite e na execução do alizarol na recepção do leite no tanque, contribuindo para a baixa qualidade microbiológica da matéria-prima.

A avaliação dos indicadores de qualidade do leite em amostras de leite dos tanques coletivos indicou adequação aos limites de CCS, e um grande desafio quanto ao atendimento aos limites definidos para CPP.

O estudo demonstrou altas contagens de bactérias deteriorantes no leite cru resfriado armazenado em tanques coletivos, indicando a ocorrência de efeitos deletérios ao leite e derivados lácteos produzidos, e de prejuízos econômicos para a indústria regional. A definição de estratégias específicas, priorizando a adoção de boas práticas de ordenha e adequação da logística, estrutura

e processos para o resfriamento do leite, é fundamental para a redução da contagem de bactérias e melhoria da qualidade e seguridade da matéria-prima e derivados lácteos.

Agradecimentos

Aos técnicos e gestores das indústrias lácteas e aos produtores rurais pela contribuição na coleta de amostras de leite e dados epidemiológicos. À Embrapa, Seagro RO e Fapero pelo suporte financeiro.

Referências

- ARCURI, E. F.; BRITO, M. A. V. P.; BRITO, J. R. F.; PINTO, S. M.; ANGELO, F. F.; SOUZA, G. N. Qualidade microbiológica do leite refrigerado nas fazendas. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 58, n. 3, p. 440-446, 2006.
- BELOTI, V. **Leite**: obtenção, inspeção e qualidade. Londrina: Planta, 2015. 488 p.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n.º 51 de 18 de setembro de 2002. Regulamento Técnico de Produção, Identidade e Qualidade do Leite Tipo A, Tipo B, Tipo C e Cru Refrigerado. **Diário Oficial da União**: seção 1, Brasília, DF, 20 set. 2002.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n.º 77, de 26 de novembro de 2018. Dispõe sobre os critérios e procedimentos para a produção, acondicionamento, conservação, transporte, seleção e recepção do leite cru em estabelecimentos registrados no serviço de inspeção oficial. **Diário Oficial da União**: seção 1, Brasília, DF, p. 10, 30 nov. 2018a.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n.º 76, de 26 de novembro de 2018. Dispõe sobre regulamentos técnicos que fixam a identidade e as características de qualidade que devem apresentar o leite cru refrigerado, o leite pasteurizado e o leite pasteurizado tipo A. **Diário Oficial da União**: seção 1, Brasília, DF, p. 9, 30 nov. 2018b.
- BRITO, M. A. V. P.; PORTUGAL, J. A. B.; DINIZ, F. H.; FONSECA, P. C.; ANGELO, F. F.; PORTO, M. A. C. Qualidade do leite armazenado em tanques de refrigeração comunitários. *In*: MARTINS, C. E.; FONSECA, P. C.; BERNARDO, W. F. **Alternativas tecnológicas, processuais e de políticas públicas para a produção de leite em bases sustentáveis**. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 2003. p. 21-34.
- BUENO, V. F. F.; MESQUITA, A. J.; OLIVEIRA, J. P.; NICOLAU, E. S.; OLIVEIRA, A. N.; NEVES, R. B.; MANSUR, J. R. Influência da temperatura de armazenamento e do sistema de utilização do tanque de expansão sobre a qualidade microbiológica do leite cru. **Revista Higiene Alimentar**, v. 18, n. 124, p. 62-67, 2004.

CARVALHO, G. L. O. **Uso da análise espacial para avaliação de indicadores de qualidade do leite na microrregião de Ji-Paraná, Rondônia**. 2012. 121 f. Dissertação (Mestrado Profissional em Ciência e Tecnologia do Leite e Derivados) – Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora.

DIAS, J. D.; ANTES, F. G.; QUEIROZ, R. B.; MENDES, M. M. **Qualidade do leite armazenado em tanques de resfriamento de Rondônia**. Porto Velho: Embrapa Rondônia, 2014. (Embrapa Rondônia. Comunicado técnico, 393).

DIAS, J. A.; ANTES, F. G.; QUEIROZ, R. B. Fatores de risco associados à ocorrência de resíduos de antibióticos em leite total de rebanhos leiteiros da microrregião de Ji-Paraná do estado de Rondônia. *In*: CONGRESSO INTERNACIONAL DO LEITE, 13.; WORKSHOP DE POLÍTICAS PÚBLICAS, 13.; SIMPÓSIO DE SUSTENTABILIDADE DA ATIVIDADE LEITEIRA, 14., 2015, Porto Alegre. **Anais...** Brasília, DF: Embrapa, 2015a. (Embrapa Gado de Leite. Documentos, 184).

DIAS, J. A.; ANTES, F. G.; QUEIROZ, R. B.; SOUZA, G. N.; GREGO, C. R. Distribuição espacial e fatores de risco associados à contagem total bacteriana em amostras de leite total de rebanhos do estado de Rondônia. *In*: CONGRESSO BRASILEIRO DE QUALIDADE DO LEITE, 6. 2015, Curitiba. **Anais...** Curitiba: CBQL, 2015b. p. 123-124.

DIAS, J. A.; SOUZA, M. G.; GREGO, C.; MENDES, A. **Impacto da iniciativa de pagamento por qualidade do leite sobre indicadores higiênico-sanitários de tanques de resfriamento de leite**. Porto Velho: Embrapa Rondônia, 2016. (Boletim de pesquisa e desenvolvimento, 78).

DIAS, J.; GREGO, C.; SILVA, F.; OLIVEIRA, A.; SOUZA, M. G. Análise espacial da contagem bacteriana total como ferramenta para identificação de áreas prioritárias de atuação de indústrias lácteas. *In*: CONGRESSO BRASILEIRO DE QUALIDADE DO LEITE, 7., 2017, Curitiba. **Anais...** Curitiba: CBQL, 2017.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. 2. ed. São Paulo: Atheneu, 2003. 182 p.

FRANK, J. F.; CHRISTEN, G. L.; BULLERMAN, L. B. Tests for groups of microorganisms. *In*: MARSHALL, R. T. (Ed.). **Standard methods for the examination of dairy products**. 16.ed. Washington: American Public Health Association, 1992. p. 271-286.

FRANK, J. F.; YOUSEF, A. E. Tests for groups of microorganisms. *In*: MICHAEL, H.; FRANK, J. F. **Standard methods for the examination of dairy products**. 17. ed. Washington, D.C: American Public Health Association, 2004.

IBGE. **Censo Agropecuário 2006**. Disponível em: <https://sidra.ibge.gov.br/pesquisa/censo-agropecuario/censo-agropecuario-2006/segunda-apuracao>. Acesso em: 28 abr. 2018.

IDARON. Agência de Defesa Sanitária Agrosilvopastoril do Estado de Rondônia. **Relatório 34^a Etapa de campanha de vacinação Febre Aftosa**. 2013. Disponível em: <http://www.idaron.ro.gov.br/Portal/Handler.ashx?OP=6&ID=50>. Acesso em: 20 jul. 2018.

IDARON. Agência de Defesa Sanitária Agrosilvopastoril do estado de Rondônia. **Relatório 43^a Etapa de campanha de vacinação Febre Aftosa**. 2017. Disponível em: <http://www.idaron.ro.gov.br/Portal/Handler.ashx?OP=6&ID=141>. Acesso em: 28 abr. 2018.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. **Milk - Enumeration of somatic cells- Part 2: Guidance on the operation of fluoro-opto-electronic counters (ISO 13366-2|IDF 148-2:2006)**. 2006. Disponível em: <https://www.iso.org/standard/40260.html>. Acesso em: 28 abr. 2018.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. **Milk – Bacterial count – Protocol for the evaluation of alternative methods (ISO 16297 | IDF 161:2013)**. 2013. Disponível em: <https://www.iso.org/standard/56110.html>. Acesso em: 28 abr. 2018.

MORTON, R. D. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 4. ed. Washington, D.C.: American Public Health Association, 2001. p. 63-67.

PANTOJA, J. C. F.; REINEMANN, D. J.; RUEGG, P. L. Factors associated with coliform count in unpasteurized bulk milk. **Journal of Dairy Science**, v. 94, n. 6, p. 2680-2691, 2011.

PINTO, C. L.; MARTINS, M. L.; VANETTI, M. C. D. Microbial quality of raw refrigerated milk and isolation of psychrotrophic proteolytic bacteria. **Food Science and Technology**, v. 26, n. 3, p. 645-651, 2006.

RIBEIRO JÚNIOR, J. C.; BELOTI, V.; SILVA, L. C. C.; TAMANINI, R. Avaliação da qualidade microbiológica e físico-química do leite cru refrigerado produzido na região de Ivaiporã, Paraná. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 68, n. 392, p. 5-11, 2013.

SANTANA, E. D.; BELOTI, V.; BARROS, M. D. A. F.; MORAES, L. B.; GUSMÃO, V. V.; PEREIRA, M. S. Contaminação do leite em diferentes pontos do processo de produção: I. Microrganismos aeróbios mesófilos e psicrotóxicos. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 22, n. 2, p. 145-154, 2001.

SEBRAE (Rondônia). **Diagnóstico do agronegócio do leite e seus derivados no Estado de Rondônia**. Porto Velho, 2015.

SILVA, L. C. C.; BELOTI, V.; D'OVIDIO, R. T. L.; MATTOS, M. R.; ARRUDA, A. M. C. T.; PIRES, E. M. F. Rastreamento de fontes de contaminação microbiológica do leite cru durante a ordenha em propriedades leiteiras do Agreste Pernambucano. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 32, n. 1, p. 267-276, 2011.

SILVEIRA, M. L. R.; BERTAGNOLLI, S. M. M. Avaliação da qualidade do leite cru comercializado informalmente em feiras livres no município de Santa Maria-RS. **Vigilância Sanitária em Debate: Sociedade, Ciência & Tecnologia**, v. 2, n. 2, p. 75-80, 2014.

SØRHOUG, T.; STEPANIAK, L. Psychrotrophs and their enzymes in milk and dairy products: quality aspects. **Trends in Food Science and Technology**, v. 8, p. 35-41, 1997.

SOUZA, A. G.; NORONHA, C. J.; FIGUEIREDO, F. S.; CRUZ, A. F. Influência da qualidade do leite sobre os custos de uma indústria de laticínios em Goiás. In: CONGRESSO DA SOBER, 14., Londrina, 2007. **Anais...** Londrina: SOBER, 2007. Disponível em: <http://www.sober.org.br/palestra/6/192.pdf>. Acesso em: 20 jul. 2018.



MINISTÉRIO DA
AGRICULTURA, PECUÁRIA
E ABASTECIMENTO



PÁTRIA AMADA
BRASIL
GOVERNO FEDERAL