

Editora Fucamp

Fatores determinantes para a qualidade do leite e derivados

Laryssa Freitas Ribeiro



Laryssa Freitas Ribeiro

Fatores determinantes para a qualidade do leite e derivados

1ª edição

Monte Carmelo, Minas Gerais, Brasil UniFucamp

2021

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
(Câmara Brasileira do Livro, SP, Brasil)**

Ribeiro, Laryssa Freitas

Fatores determinantes para a qualidade do leite e derivados [livro eletrônico] / Laryssa Freitas Ribeiro ; Editora Fucamp. -- 1. ed. -- Monte Carmelo, MG : Ed. da Autora, 2021.

PDF

ISBN 978-65-00-18889-9

1. Leite 2. Leite - Brasil - Comercialização 3. Leite - Higiene I. Título.

21-59189

CDD-613.2

Índices para catálogo sistemático:

1. Leite como alimento : Nutrição aplicada :
Promoção da saúde 613.2

Aline Grazielle Benitez - Bibliotecária - CRB-1/3129

© 2021, Laryssa Freitas Ribeiro

Todos os direitos reservados à autora. É permitida a reprodução parcial ou total desta obra, desde que citada a fonte e que não seja para venda ou qualquer fim comercial.

Elaboração, distribuição e informações:

EDITORA FUCAMP

Av. Brasil Oeste, s/n – Jardim Zenith 38500-000 – Monte Carmelo – MG

Tel.: (34) 3842-5272 fucamp@fucamp.edu.br

<https://www.unifucamp.edu.br/editora-fucamp/>

Reitor do UNIFUCAMP: Mestre Guilherme Marcos Ghelli

Coordenadora da Editora: Doutora Cristina Soares de Sousa

Comissão Editorial

Dr. Guilherme Saramago de Oliveira (Universidade Federal de Uberlândia)

Dr. Gustavo Araújo Batista (UNIUBE)

Dr. José Alberto Coraiola (Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Faculdade Integradas Camões)

Dra. Kelma Gomes Mendonça Ghelli (Centro Universitário Mário Palmério)

Dr. Leandro de Souza Leão (Universidade Federal de São João del-Rei)

Dr. Luiz Carlos Figueira de Melo (Universidade Federal de Uberlândia)

Dra. Núbia dos Santos Saad (Universidade Federal de Uberlândia)

Dra. Raquel Rosan Christino Gitahy (Universidade do Oeste Paulista – Universidade Estadual do Mato Grosso do Sul)

Dra. Roselaine das Chagas Fonseca (Centro Universitário Mário Palmério)

Dra. Tânia Nunes Davi (Centro Universitário Mário Palmério)

Representante do Setor da Biblioteca: Glivânia Balbino da Silva

Representante do técnico administrativo: Liamar Nunes Silveira Monteiro

Apresentação

Este livro nasceu do anseio de organizar ideias sobre diferentes fatores determinantes para a qualidade do leite e conseqüentemente de seus derivados. Para isso, boas práticas agropecuárias, boas práticas de fabricação, tecnologia na produção e inspeção de leite e derivados, associados com as normativas vigentes fazem com que chegue um alimento nutritivo e seguro na mesa do consumidor.

Nesse sentido, algumas perguntas ou indagações precisam ser respondidas tais como quais são os fatores que afetam a qualidade do leite? Como realizar uma a obtenção, conservação e transporte higiênicos do leite cru? Qual a composição do leite? E como é feito seu controle? Quais são as características microbiológicas do leite? Como é a tecnologia e inspeção do leite pasteurizado, do leite fermentado, de queijo Minas, da Muçarela, do queijo Prato e do Parmesão? Como é feita a higiene na indústria laticinista? E como implantar o sistema APPCC? Como são as análises eletrônicas de leite cru? O que é importante saber sobre resíduos de antimicrobianos em leite? Quais são as principais fraudes em leite e quais análises são feitas para identifica-las? Todas essas perguntas são respondidas nesse e-book, com um único objetivo: em busca de leite e derivados de qualidade!

A autora - Laryssa Freitas Ribeiro



Médica veterinária, formada pela Universidade Estadual Paulista (UNESP), campus de Jaboticabal. Realizou estágio na mesma universidade, no Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Reprodução Animal, no Laboratório de Análises de Alimentos de Origem Animal e Água, sob a supervisão do professor Dr. Luiz Augusto do Amaral, teve

duas iniciações científicas com bolsa da Fundação de Amparo e Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP). Durante seu estágio curricular foi para o Laboratório de Escherichia coli (EcL) da Universidade de Montreal, na cidade de Saint-Hyacinthe, Quebec, Canadá, sob a supervisão do prof. Dr. John Morris Fairbrother, no qual acompanhou e executou atividades, melhorando seu conhecimento teórico e prático. Em agosto de 2011 ingressou no curso de Mestrado em Medicina Veterinária da UNESP, campus Jaboticabal, também sob a supervisão do prof Dr. Luiz Augusto do Amaral, e também com bolsa FAPESP, estagiando mais uma vez no Laboratório de Escherichia coli (EcL) da Universidade de Montreal, na cidade de Saint-Hyacinthe, Quebec, Canadá para um mestrado sanduiche. Voltou ao Brasil, e terminou o mestrado em 18 meses. Em março de 2013 ingressou no curso de Doutorado em Medicina Veterinária da UNESP, campus Jaboticabal, também sob a supervisão do prof Dr. Luiz Augusto do Amaral, com bolsa Capes e auxílio Fapesp. Fez doutorado sanduíche, mais uma vez no Canadá, a convite do prof. Dr. John Morris Fairbrother, a qual permaneceu por 10 meses. Retornou ao Brasil em setembro de 2015, terminando o doutorado em 06 de dezembro de 2016. Em 2017 foi professora temporária da Universidade de São Paulo, na Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, campus Pirassununga, ministrando aulas para os cursos de Medicina Veterinária e Zootecnia. Atualmente é professora e coordenadora do curso de Medicina Veterinária do Centro Universitário Mário Palmério (UNIFUCAMP), em Monte Carmelo, Minas Gerais.

Agradecimentos

Compartilhar conhecimento é uma das formas mais genuínas do amor. Como já dizia o grande mestre Paulo Freire, “Eu nunca poderia pensar em educação sem amor. É por isso que me considero uma educadora: acima de tudo porque sinto amor.” Além disso, falar de leite proporciona grande satisfação. Vai além de saber o nome e os dados zootécnicos de cada uma das vacas, de acordar cedo e não saber o que é feriado.... Porque leite envolve coração, histórias, origens e sonhos.

Não posso deixar de agradecer àqueles que me apoiaram nesse novo projeto para que ele se concretizasse. Meus pais, que sempre me incentivam; meu avô Chiquinho (*in memoria*), que sempre foi apaixonado pela pecuária leiteira, e que me fez ver essa área com outros olhos; meu irmão que ama a vida rural e está sempre me amparando; e ao meu noivo, que também aprecia o campo, partilha comigo a vida, todos meus objetivos e sonhos!

Em especial, gostaria de agradecer a três professores que me inspiram na busca para a qualidade de leite: Dr. Antônio Nader Filho, que foi meu professor na graduação do curso de Medicina Veterinária da UNESP, Jaboticabal e com o qual tive o privilégio de estagiar, aprender muitas coisas sobre qualidade do leite; Dr. Luiz Augusto do Amaral, também professor na graduação, meu orientador e amigo que ganhei para a vida, o qual sempre acreditou em meus sonhos e me fez ver a melhoria da qualidade de leite com outros olhos, visando sempre a saúde pública; Dra. Mônica Maria Oliveira Pinho Cerqueira, professora da UFMG, a qual conheci na organização de um simpósio sobre a qualidade do leite, em 2016 e, desde então, me inspiro em seu trabalho contínuo, mesmo depois de aposentada. A qualidade do leite no País não seria a mesma sem seus ensinamentos!! A vocês três, em especial, meu muito obrigada!! Grandes professores dedicam sua vida a educar e ensinar com sabedoria, deixando marcas eternas na vida de seus alunos e eu sou uma delas! Porque heróis de verdade não usam capa, eles ensinam!

Meu eterno agradecimento à professora Dr^a Roselaine das Chagas, que se dispôs a ler com carinho e fazer as correções devidas. Obrigada pela parceria e pela amizade! Sem você, o livro não teria a mesma qualidade.

Também quero registrar meus agradecimentos ao Centro Universitário Mário Palmério (UNIFUCAMP), nas pessoas do professor Ms. Guilherme Marcos Ghelli, reitor, e da professora doutora Kelma Gomes Mendonça Ghelli, coordenadora de ensino, pós-graduação e extensão, pelo incentivo e disposição para a concretização da publicação desse sonho!

Prefácio

A qualidade do leite se inicia na fazenda e deve se estender a todos os elos de sua cadeia produtiva. Desta forma, este e-book aborda os aspectos relacionados à obtenção, armazenamento e conservação do leite nas propriedades que impactam no seu processamento e na qualidade de seus derivados. Descreve também ferramentas importantes como os programas de boas práticas agropecuárias, boas práticas de fabricação, além da tecnologia e inspeção de leite e derivados em consonância com os documentos normativos vigentes no país. Trata-se, portanto, de um e-book muito bem redigido, completo e que, por meio de uma linguagem clara, permite uma compreensão não apenas de parte da cadeia produtiva, mas de todos os elos que a compõe.

Ter uma visão de toda a cadeia produtiva é importante para a produção e processamento tecnológico de leite e derivados seguros e com qualidade. Ao tratar e responder questões de importância prática, o e-book permite, aos agentes desta cadeia produtiva (produtores, técnicos e industriais), compreender os fatores determinantes da qualidade do leite por meio de conhecimento científico de forma aplicada.

Toda transformação passa pela educação e pela ciência. Por isto, para produzir leite e derivados com qualidade, é preciso conhecer e entender os fatores relacionados que podem comprometê-la.

Um e-book que associa os princípios essenciais relacionados à qualidade de leite aos processamentos tecnológicos, destacando ainda o método de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC), sem dúvida alguma, será muito importante para a academia e também para todo o setor produtivo do país.

Boa leitura!

Mônica Maria Oliveira Pinho Cerqueira
Profa. Titular da Escola de Veterinária da UFMG

Sumário

Introdução.....	11
Composição, inspeção e controle da qualidade do leite cru	12
Fatores que afetam a qualidade do leite	32
Obtenção, conservação e transporte higiênico do leite.....	40
Características microbiológicas do leite	45
Inspeção e Tecnologia do Leite Pasteurizado.....	54
Inspeção e tecnologia de queijos.....	61
Inspeção e tecnologia de leites fermentados.....	73
Higiene na indústria laticinista.....	78
Implementação de APPCC em indústria de laticínios	85
Análises eletrônicas de leite cru.....	94
Resíduos de antimicrobianos em leite.....	99
Principais fraudes em leites.....	106
Bibliografia.....	111



Introdução

O Brasil produz anualmente cerca de 34 bilhões de litros de leite, sendo um dos principais produtores no mundo. Apesar disso, em setembro de 2020, segundo o Ministério do Desenvolvimento, Indústria e Comércio Exterior (MDIC) o País importou cerca de 180 milhões de litros de leite. Ou seja, o setor de produção desse alimento exerce enorme importância econômica e social.

Além do crescimento na produção e consumo do leite no País, destaca-se, também, um aumento da produtividade, ou seja, a produção de litros de leite por vaca vem crescendo. Com isso, segundo projeções do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) deve haver um crescimento na produção de 2,1 a 3,3% ao ano até 2028. E esse aumento na produtividade se deve a melhorias na gestão de fazendas, na sanidade animal, além da incorporação de tecnologias na produção leiteira.

Como consequência dessa maior produção de leite, cresce-se também a preocupação com a qualidade. Sabe-se que o leite é composto por aproximadamente 87% de água e 13% de diversos elementos sólidos como carboidrato, gordura, sais minerais, vitaminas e proteínas. Isso o faz um dos mais ricos alimentos de qualidade nutricional.

Ainda, o leite de boa qualidade microbiológica é importante para a saúde pública, para o processamento, rendimento e aceitabilidade dos derivados lácteos, os quais têm aumentado a produção e também a variedade ao longo dos anos.

A melhoria da qualidade do leite e dos seus derivados deve ser tratada em ações conjuntas entre produtor, empresas e governo, num processo em que todos saiam ganhando, inclusive os consumidores, os quais estão recebendo um produto cada vez melhor.

Conhecendo os atuais parâmetros nutricionais, físico-químicos e microbiológicos desse importante alimento, além de manejos adequados, boas práticas de fabricação e análises laboratoriais, baseados nas normativas em vigor, o objetivo deste e-book é levar informação às pessoas sobre fatores determinantes para a qualidade do leite e de derivados.



Composição, inspeção e controle da qualidade do leite cru

Em média, o leite possui 87% de água e 13% de elementos sólidos, também denominados extrato seco total (EST). Esse último representa a parte nutritiva do leite, tendo aproximadamente 4% de gordura, 3,5% de proteína, 4,9% de lactose e 0,8% minerais.

As proteínas do leite são divididas em proteínas insolúveis (caseínas) e solúveis (proteínas do soro). As caseínas são divididas em alfa s1, alfa s2, beta-caseína e kappa-caseína, enquanto que as proteínas do soro são divididas principalmente em β -lactoglobulina, α -lactoalbumina, albumina sérica e imunoglobulinas.

As caseínas são as principais proteínas do leite e formam um complexo esférico chamada micela. Esse rearranjo das proteínas confere resistência aos tratamentos térmicos industriais e dá estabilidade aos derivados lácteos.

A estrutura interna da micela de caseína é constituída predominantemente por alfa s1, alfa s2, beta-caseína (nessa última, existem 12 variantes, como A1 e A2) e de nanopartículas de fosfato de cálcio coloidal, enquanto que a kappa caseína está localizada preferencialmente na superfície da micela, assumindo importante papel na estabilidade micelar.

Na produção do queijo, por exemplo, o coalho (também chamado de renina, que é a mistura de quimosina e pepsina) faz a quebra da kappa caseína, ou seja, desestabiliza a micela inteira, formando a paracaseína (que é a caseína modificada). Posteriormente, ocorre aglomeração das micelas de paracaseína, mediadas pelo cálcio. Esse forma uma ponte entre diferentes micelas, a qual aprisiona água, lactose, gordura e etc, transformando o leite líquido em uma coalhada.

Dentre as proteínas solúveis (ou proteínas do soro), a β -lactoglobulina é a de maior concentração, estando em 12% total do leite e 50% do soro (essa não é encontrada no leite humano) e, assim como a α -lactoalbumina, é sintetizada na glândula mamária (juntas, essas duas últimas correspondem a 95% das proteínas do soro). Diferentemente, a albumina sérica e imunoglobulinas são originadas do sangue. Todas essas são proteínas de baixa digestibilidade no intestino humano, as



quais quando intactas nesse órgão, podem estimular uma resposta imune localizada ou sistêmica, conhecida como alergia à proteína do leite.

Vale ressaltar que o aumento do teor de proteína na dieta animal tem pouco efeito sobre o teor proteico do leite, entretanto, pode elevar níveis de nitrogênio não proteico, o que pode ser aferido pela quantidade de ureia.

Outro importante componente do leite é a gordura, sendo a fração que mais varia nesse importante alimento. De modo geral, a concentração de gordura diminui com o aumento no volume de leite produzido. É importante ressaltar que dietas muito ricas em gorduras ou deficientes em fibra fisicamente efetiva podem diminuir a produção de ácido graxo, diminuindo, assim, o percentual de gordura no leite.

Quimicamente, a gordura do leite está na forma de triglicerídeos, ou seja, três ácidos graxos unidos. Destes, 50% passam do sangue para a glândula (vêm da dieta ou da síntese de tecido adiposo do bovino) e os demais 50% são sintetizados pelas células epiteliais da glândula mamária, principalmente a partir do acetato, um produto da fermentação ruminal (o qual, inclusive, aumenta com a ingestão de maior quantidade de fibra fisicamente efetiva).

A gordura encontra-se dispersa em glóbulos esféricos cobertos por uma membrana lipoproteica, a qual impede que eles flutuem e os protege de possível ação enzimática (lipases). Muitas vezes, em baixas temperaturas (como a temperatura de refrigeração, 4°C), os glóbulos se aproximam e ocorre a formação da nata. A homogeneização prolonga a estabilidade da emulsão da gordura, reduzindo o tamanho do glóbulo, por isso a importância das pás homogeneizadoras no tanque de expansão.

A quebra de gordura pode ocorrer por ação de lipases (endógenas ou de origem microbiana), as quais quebram esse nutriente em ácidos graxos, conferindo sabor de ranço ao leite.

Outro componente do leite é o carboidrato, que está na forma de glicose, galactose, lactose, entre outros. A lactose, entretanto, é o principal deles, composto por dois monossacarídeos (glicose e galactose). É um açúcar com baixa solubilidade a 25°C, o que pode causar problemas durante determinados processos ao qual o leite é submetido, como, por exemplo, na produção do doce de leite, sorvetes e leite



condensado. Isso porque, em altas temperaturas, ocorre uma reação entre o carboidrato e as proteínas do leite, chamada de reação de Maillard, conferindo uma sensação arenosa em certos produtos lácteos, podendo levar ao escurecimento do produto. Antes de mais nada, devemos dizer que essa reação não é totalmente ruim. Sua complexidade está justamente no fato de que ela, até certo ponto é benéfica, principalmente para determinados produtos, como o doce de leite.

Ademais, a lactose tem valor nutritivo especial para crianças, pois favorece a retenção de cálcio, estimulando a ossificação. Vale lembrar que a intolerância à lactose é devido à deficiência da enzima lactase, causando diarreia, flatulência, dores de barriga e inchaço no abdômen.

Os minerais também são importantes componentes do leite, fruto da atividade secretória das glândulas mamárias. São nutrientes importantes nas funções metabólicas e um exemplo disso é que as concentrações de sódio, potássio e cloreto geram uma pressão osmótica na glândula mamária e determinam o volume de água no leite. Ademais, esses nutrientes são divididos em macro e microminerais.

Os macrominerais são aqueles cuja necessidade diária é maior que 100mg/dia e suas funções estão ligadas a estrutura e a formação dos ossos, regulação de fluidos corporais e secreções digestivas. Os principais macrominerais são o cálcio, fósforo, magnésio, cloro, sódio e potássio. Em contrapartida, microminerais são aqueles que possuem necessidade inferior a 100mg/dia, como por exemplo, o ferro, cobre e zinco, estando relacionados a reações bioquímicas e sistema imunológico. Vale salientar que não existem alterações significativas no conteúdo dos macrominerais com os tratamentos térmicos do leite; já para os elementos traços, pequenas diminuições podem ser encontradas.

As vitaminas também são nutrientes essenciais de que o organismo necessita e são encontradas no leite, como vitaminas A, B1, B2, C, D, entre outras. Esses nutrientes, entretanto, são sensíveis ao aquecimento, à presença de luz e oxigênio.

Além desses nutrientes, vale salientar a presença de algumas enzimas no leite, como lipase, protease, oxidoredutase e fosfatase alcalina (essas últimas duas são importantes proteínas usadas para análises do leite). As lipases naturais do leite



são termolábeis, e causam lipólise, gerando o sabor de ranço. Já as proteases hidrolisam as proteínas e causam amargor. As oxidoredutases incluem catalase e peroxidase. A catalase é inativada a 75° C por 60 segundos e a peroxidase em 80° C por 5 segundos (essa última, então, deve estar presente no leite pasteurizado e ausente no leite UHT). A fosfatase alcalina é inativa de 72 a 75°C por 15 a 20 segundos, devendo ser ausente no leite pasteurizado.

Como visto, o leite é um alimento rico em nutrientes e tem sido utilizado na alimentação humana como fonte de proteína, gordura, energia e outros constituintes essenciais desde os primórdios da civilização. Esse valor nutritivo se deve não somente por ser provedor de nutrientes essenciais, mas também à forma e distribuição equilibradas com que esses elementos composicionais estão dispostos no produto.

Assim, para monitorar isso, é importante que se haja uma constante inspeção deste alimento, fazendo, regularmente, análises do leite cru. A responsabilidade dessa inspeção é da indústria laticinista, a qual, mensalmente, deve coletar amostras nas propriedades rurais e enviar para laboratório credenciado do MAPA.

Essas análises são baseadas nos parâmetros físico-químicos, nutricionais, qualidade microbiológica e investigação de resíduos de uso veterinário, definidos na normativa 76, do MAPA, de novembro de 2018, contribuindo para que o leite que chega ao laticínio possa ser beneficiado sem maiores transtornos.

Além disso, os resultados obtidos da avaliação dos parâmetros são fundamentais para o direcionamento das ações nos rebanhos, para melhoria da qualidade da matéria prima, garantindo um melhor rendimento nas indústrias e uma oferta de produtos lácteos mais seguros e nutritivos para a população.

Para a inspeção e controle de qualidade, a seguir estão as principais análises, valores definidos pela normativa vigente e explicações para possíveis alterações.

- Análises relacionadas aos parâmetros físico-químicos:

- Teste do alizarol



Essa análise tem o objetivo de estimar indiretamente a acidez do leite que será analisado. A legislação determina que a concentração mínima alcoólica utilizada deve ser de 72% e, a normalidade do leite tem que ser estável ao alizarol para que o leite seja coletado, ou seja, deve ser feita antes mesmo da transferência do leite para o caminhão.

Essa é uma prova rápida, realizada com a mistura de 2 mL de leite e 2 mL de solução de alizarol em um tubo de ensaio. Deve-se agitar o tubo, observando a coloração formada e a possível presença de grumos. No leite normal, a coloração é vermelho-tijolo, sem a formação de precipitado; no leite ácido, a coloração é amarelada e ocorre a presença de precipitados; no leite instável, a coloração é vermelho-tijolo com presença de precipitados; e, no leite alcalino, a coloração é violeta, sem precipitados (Figura 1).

Figura 1. Tubos de ensaio com amostras de leite após o teste do alizarol. Amostras com pH 5,5 e 6,0: leite ácido; amostra com pH 6,6: leite normal; amostra com pH 7,0 e 7,5: leite alcalino



Fonte: Santos Silva *et al.*, 2013



Disponível em <http://www.abq.org.br/cbq/2013/trabalhos/7/2674-13946.html>

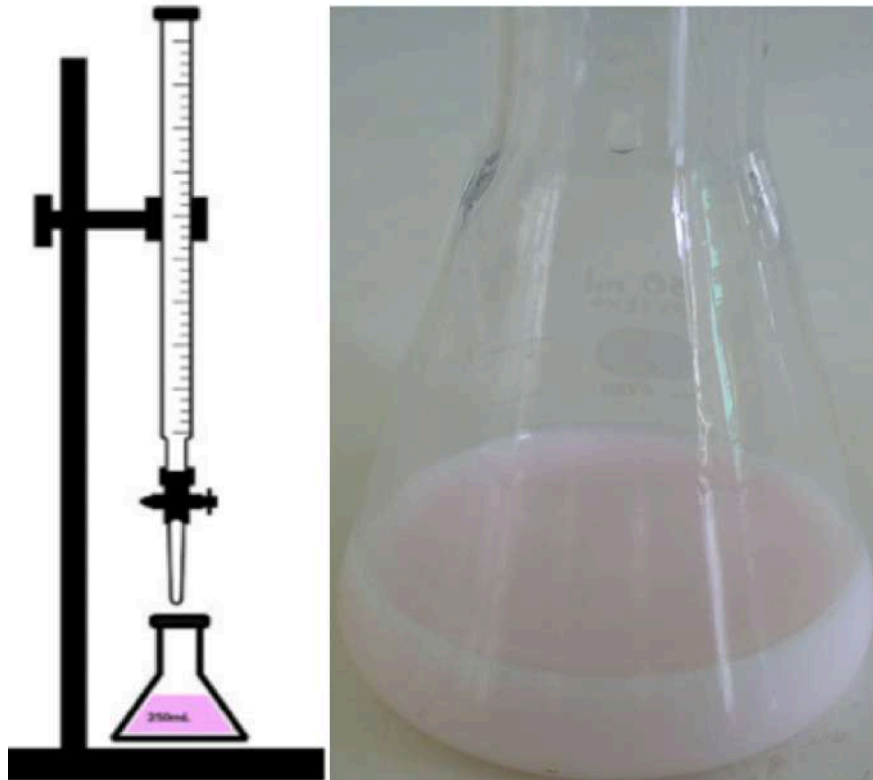
Vale ressaltar que a acidez pode estar relacionada a três causas: o acondicionamento incorreto do leite, pois microrganismos mesófilos (temperatura ótima de multiplicação em torno de 37°C) quebram a lactose e produzem ácido láctico; ou devido à ordenha de animais ainda produzindo colostro; ou devido à alimentação animal. Para diferenciar, é importante realizar o alizarol vaca a vaca, pois, caso o problema seja colostro ou alimentação, a análise continuará ácida.

O leite alcalino, entretanto, pode ocorrer devido ao aumento da contagem de células somáticas (CCS) decorrente da mastite; ou devido a presença de resíduos de sanitizantes utilizados no sistema de ordenha; ou ainda, fraude por água. Para diferenciar, realiza-se o *California Mastitis Test* (CMT) vaca a vaca, identificando, nesse, a mastite, caso seja o problema.

- o Acidez titulável

É um teste realizado para indicar o pH do leite na indústria leiteira. E, segundo a normativa vigente, a acidez titulável pode variar entre 0,14 e 0,18 gramas de ácido láctico em cada 100 mL (g/100mL) ou 14 a 18 graus Dornic (°D). Nesta técnica, adiciona-se 10 mL de leite no *Erlenmeyer* e, em seguida, adiciona-se três a cinco gotas de fenolftaleína 1%, seguido de agitação. Posteriormente, titula-se a amostra com a solução Dornic (hidróxido de sódio a 1/9N), agitando-a, até obter coloração constante ligeiramente rosa (Figura 2). O resultado é baseado na quantidade de solução Dornic que será gasta, demonstrando, assim, o grau de acidez do leite. Cada 0,1 mL da solução de hidróxido de sódio gasto no teste corresponde a 1°D (Dornic) ou 0,1 g de ácido láctico/L.

Figura 2. Bureta com *Erlenmeyer* e coloração ligeiramente rosa após a titulação da solução de Dornic



Fonte: Arquivo pessoal

o Índice crioscópico

A temperatura de congelamento do leite (também conhecida como índice crioscópico) de todas as espécies mamíferas é mais baixa do que a da água, devido às substâncias solúveis presentes, principalmente a lactose e os sais minerais. Por isso, quando há adição fraudulenta de água ao leite, a crioscopia aumenta em direção ao ponto de congelamento da água (0°C). Para o leite bovino, o ponto de congelamento pode variar de, no máximo, $-0,512^{\circ}\text{C}$ e, no mínimo, $-0,536^{\circ}\text{C}$ (ou entre $-0,530$ e $-0,555^{\circ}$ Horvet (H)).

A técnica se baseia na adição de 2,5 mL da amostra de leite no tubo de crioscopia, o qual, em seguida, deve ser inserido no equipamento (esse contém solução álcool, água e glicerina, os quais dão a temperatura de congelamento). Após o sinal sonoro, a leitura do índice estará visível no *display* do aparelho (Figura 3).

Figura 3. Análise de crioscopia e equipamento de crioscopia.



Fonte: Arquivo pessoal

É importante considerar que a crioscopia do leite bovino pode apresentar variação, mesmo que ligeira, de acordo com fatores como raça, estágio de lactação, estação do ano e nutrição. Entretanto, quando se fala em fraude com água, a cada $0,1^{\circ}\text{H}$ a mais do que o normal, indica uma adição de aproximadamente 18,2% de água em relação ao volume do leite (Exemplo: leite analisado com $-0,43^{\circ}\text{H}$, tem $0,1^{\circ}\text{H}$ a mais que o indicado normal na legislação; Se, a quantidade de leite for de 1000L, indica uma adição de água de aproximadamente 182L).

- o Densidade relativa

A densidade relativa do leite é uma relação entre seu peso e volume e é normalmente mensurada a 15°C (caso o leite esteja em temperatura diferente, deve-se utilizar a tabela de correção do resultado). Nesta temperatura, a densidade do leite, segundo a legislação, deve ser entre 1,028 e 1,034.



A determinação da densidade é feita com a adição de 500 mL de leite a 15°C na proveta e a inserção do termolactodensímetro, o qual tem a função de mensurar a temperatura e a densidade do leite (Figura 4).

Figura 4. Termolactodensímetro e análise da densidade do leite - leite na proveta e termolactodensímetro inserido.



Fonte: Arquivo pessoal

Sabendo que a densidade da gordura do leite é aproximadamente 0,927 (ou seja, mais baixa que a do leite), sabe-se que a remoção da gordura (desnate), pode fazer com que haja um aumento nessa densidade. Ademais, quando é adicionada água ao leite, a densidade da matéria-prima tende a se aproximar à da água (que é de 1,0).

- Análises relacionadas à composição do leite



- Gordura

Como já comentado, a gordura presente no leite encontra-se na forma de pequenos glóbulos suspensos na água e, pode variar de acordo com vários fatores como raça, nutrição, estação do ano, período de lactação, entre outros. Entretanto, segundo a legislação vigente, o leite cru refrigerado deve apresentar teor mínimo de 3%.

Na medição da gordura, utiliza-se o método de Gerber. Nesse, em um butirômetro específico, adiciona-se 10 mL de solução de ácido sulfúrico, 11 mL de leite (lentamente para que não se misture com o ácido) e 1 mL de álcool isoamílico. Segurando o butirômetro com um pano, fecha-o com rolha apropriada, exercendo pressão com cuidado. Agita-se o tubo com cautela, ainda pressionando a rolha. Em seguida, deve-se levar o butirômetro com a mistura ao banho-maria, durante 3 a 5 minutos, na temperatura de 65 a 70 °C e, posteriormente, centrifugar com a rolha para baixo, na velocidade de 800 rpm a 1.200 rpm por 3 a 5 minutos. Após isso, para a realização da leitura, deve-se coincidir a parte inferior da camada de gordura com a leitura zero da escala que está no vidro (pode-se introduzir ou retirar a rolha, ponderadamente). Cada divisão da escala do butirômetro corresponde a 0,1% de gordura (Figura 5).

Figura 5. Análise de gordura. A- butirômetro de Gerber; B – adição de ácido sulfúrico e leite, sem misturar; C- leitura do valor de gordura, após a centrifugação



Fonte: Arquivo pessoal

- Sólidos totais

Também conhecido com extrato seco total, é a parcela sólida do leite, ou seja, a soma de gordura, proteína, lactose e sais minerais, sendo que seu teor mínimo deve ser de 11,4% e, sua medição baseia-se no uso do Disco de Ackermann (Figura 6). Nesse, existem dois discos, um menor, o qual expressa valores de densidade, e o disco maior, que expressa os valores de gordura. Assim, os valores de densidade e gordura devem coincidir no disco, para que se tenha o valor dos sólidos totais.

Figura 6. Disco de Ackermann – observa-se no disco menor os valores de densidade, no disco maior os valores de gordura e, no círculo mais externo, quando estes coincidem, obtém-se o valor de sólidos totais.



Fonte: arquivo pessoal

o Sólidos não gordurosos:

Os sólidos não gordurosos, também chamados de extrato seco desengordurado, representam a diferença entre o extrato seco total e a gordura presente no leite e, segundo a normativa, o teor mínimo deve ser de 8,4%.

É importante ressaltar que os teores de sólidos totais e desengordurados são de grande importância para o rendimento industrial de derivados do leite, como queijos, leites desidratados, iogurtes, entre outros.

- Análises relacionadas aos padrões higiênico-sanitários



- Contagem padrão em placas

A contagem padrão em placas é muito utilizada em laboratórios de controle de qualidade de leite, pois demonstra falha na obtenção higiênica do leite. Para o leite cru refrigerado de tanque individual ou de uso comunitário, segundo a legislação, a contagem deve ser de no máximo 300.000 UFC/mL.

OBS: Na instrução normativa nº 58, de novembro de 2019, o leite cru refrigerado deve apresentar limite máximo para Contagem Padrão em Placas de até 900.000 UFC/mL antes do seu processamento no estabelecimento industrial. E, na normativa nº 55, de setembro de 2020, a temperatura de conservação do leite cru refrigerado na unidade de beneficiamento de leite e derivados pode ser de até 7 °C, quando o leite estocado apresentar contagem microbiológica máxima de 300.000 UFC/mL anteriormente ao beneficiamento."

Devido à falha higiênica no processo de ordenha, microrganismos como *Pseudomonas* spp. podem contaminar o leite e causar sua deterioração, uma vez que esse gênero produz enzimas que são proteolíticas e lipolíticas, causando quebra na proteína e gordura do leite, respectivamente. Assim, com a presença desses, há uma diminuição no tempo de prateleira dos diferentes produtos lácteos e também, no rendimento de derivados, como queijos e iogurtes.

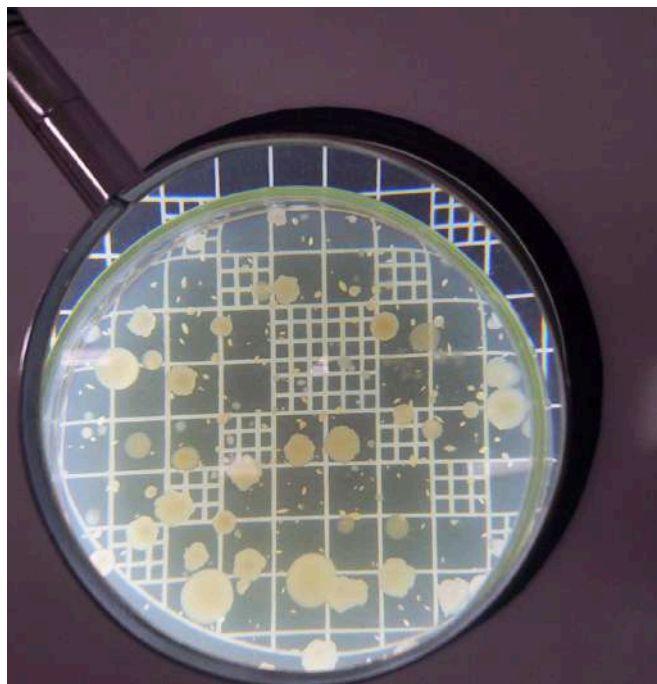
Para a análise, inicialmente, realiza-se as diluições das amostras de leite, de acordo com o grau de contaminação esperado da amostra. A primeira diluição (10^{-1}) deve ser feita adicionando-se 25mL de leite em 225mL de água peptonada a 0,1% esterilizada, seguido da homogeneização. Para a diluição 10^{-2} , retira-se 1mL dessa primeira diluição e adiciona-se em 9mL de água peptonada a 0,1% esterilizada. Demais diluições, são feitas da mesma forma.

Em seguida, transfere-se 1 mL de cada diluição para placas Petri. Posteriormente, adiciona-se 15 a 20 mL do ágar padrão para contagem (PCA), o qual deve estar em temperatura aproximada de 46°C (sugere-se que seja mantido em banho-maria). Deve-se homogeneizar o ágar com a diluição inoculada, fazendo movimentos em "8", com a placa na superfície da bancada. Logo depois, manter em repouso e esperar solidificar, para, então, encubá-las a 35 a 37°C por 48 horas. As



placas selecionadas para contagem devem ter de 30 a 300 UFC (Figura 7) e, deve-se expressar o resultado em unidade formadora de colônia por mililitro (UFG/mL) multiplicado pelo fator de diluição da amostra em que a leitura foi realizada.

Figura 7. Placa selecionada para contagem contendo de 30 a 300 UFC, semeadas, em profundidade com ágar padrão de contagem.



Fonte: Arquivo pessoal

- Detecção de resíduos de produtos veterinários:
 - Detecção de resíduos de antibióticos

Os antimicrobianos são utilizados em larga escala na pecuária leiteira, principalmente devido à grande ocorrência de mastite nos rebanhos. Com isso, os resíduos geram diminuição do rendimento na produção de derivados lácteos, além de problemas de saúde pública, como resistência a antimicrobianos, choques anafiláticos, dentre outros, os quais serão discutidos em outro capítulo.

Para essa análise existem testes rápidos, desenvolvidos por diferentes empresas (Figura 8), a fim de que se tenha um resultado instantâneo para uma tomada de decisão ágil. Cada um desses testes tem sua metodologia específica, sendo importante verificar a forma correta de análise.



Figura 8. Kits para pesquisa de resíduos de antibióticos no leite: A - Delvotest®, B - DipTest®, C - IDEXX Snap®, D - BR-Test®



Fonte: Arquivo Pessoal

Como já comentado, os kits apresentam a grande vantagem de serem rápidos, com os resultados obtidos em algumas horas e permitirem uma tomada de decisão ágil, caso o leite apresente resíduos. No entanto, alguns estudos recentes indicam que o uso desses kits para o leite de vacas individuais pode resultar em resultados falso-positivos, ou seja, o teste identifica resíduos em amostras de leite que, na verdade, não apresentam a presença deles.

- Outras análises importantes para a qualidade do leite
 - Teste de identificação de microrganismos causadores de mastite – Accumast®

A mastite possui múltiplas causas, como por exemplo, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus sp.*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae*,



Streptococcus uberis, *Arcanobacterium pyogenes*, *Peptoniphilus indolicus*, *Mycoplasma spp.*, *Klebsiella spp.*, *Corynebacterium bovis*, *Escherichia coli*, *Serratia mascescens*, *Staphylococcus coagulase negativos* (SCN) e *Enterobacter aerogenes*.

Sabe-se que a ocorrência dessa doença reflete diretamente e negativamente na qualidade do leite, com consequentes prejuízos econômicos aos produtores (pela queda da produtividade), além de problemas de saúde pública (tanto pelos microrganismos que podem ser eliminados juntos à matéria prima, como pelo uso de antimicrobianos, como já explicado). Assim, essa doença é considerada um entrave para a pecuária leiteira.

A cultura microbiológica para identificação do agente causador dessa importante enfermidade, torna-se essencial e possibilita a obtenção de resultados precisos e rápidos, facilitando o manejo, reduzindo os custos, melhorando a eficiência no combate e também na produtividade dos animais em menor progressão de tempo. Ademais, conhecendo o patógeno, tem-se uma noção de possíveis antimicrobianos a serem utilizados (se o tratamento será contra bactérias Gram positivas ou Gram negativas).

A AccuMast® é uma triplaca, ou seja, contém três seções distintas na mesma placa, sendo que cada seção possui um ágar específico por uma combinação de meio de cultura seletivo e tecnologia cromogênica, utilizada para a identificação de bactérias por espécie. Esta tecnologia foi criada na Universidade de Cornell nos EUA, comercializada pela *FERA Diagnostics and Biologicals* e veio ao Brasil pelas mãos da *Innovate Science*, uma empresa do grupo VidaVet. Cada seção, então, identifica um grupo de microrganismos: na seção 1, multiplica-se apenas bactérias gram-negativas (*E.coli*, *Klebsiella spp*, *Enterobacter spp*, *Serratia spp*) e *Pseudomonas spp.*; na seção 2, identifica-se *Streptococcus* (*S.agalactiae/dysgalactiae*, *S.uberis*, *Enterococcus spp*, *Lactococcus spp*); e, na seção 3, multiplica-se apenas *Staphylococcus* (*S. aureus*, *S. haemolyticus*, *S. coagulase negativa*).

Para a identificação do microrganismo, então, semeia-se uma alíquota do leite suspeito com mastite, com o auxílio de um suabe estéril, nas 3 sessões da placa. Após isso, essas devem ser incubadas na temperatura de 35 a 37°C por 24 a 48h. Em seguida, o resultado é obtido com o auxílio da régua de leitura (Figura 9).

Figura 9. Kit de placas Accumast, com placa semeada com leite e régua de leitura para identificação de possíveis microrganismos causadores de mastite.



Fonte: *Innovate Science*.

- Teste de sensibilidade à antimicrobianos

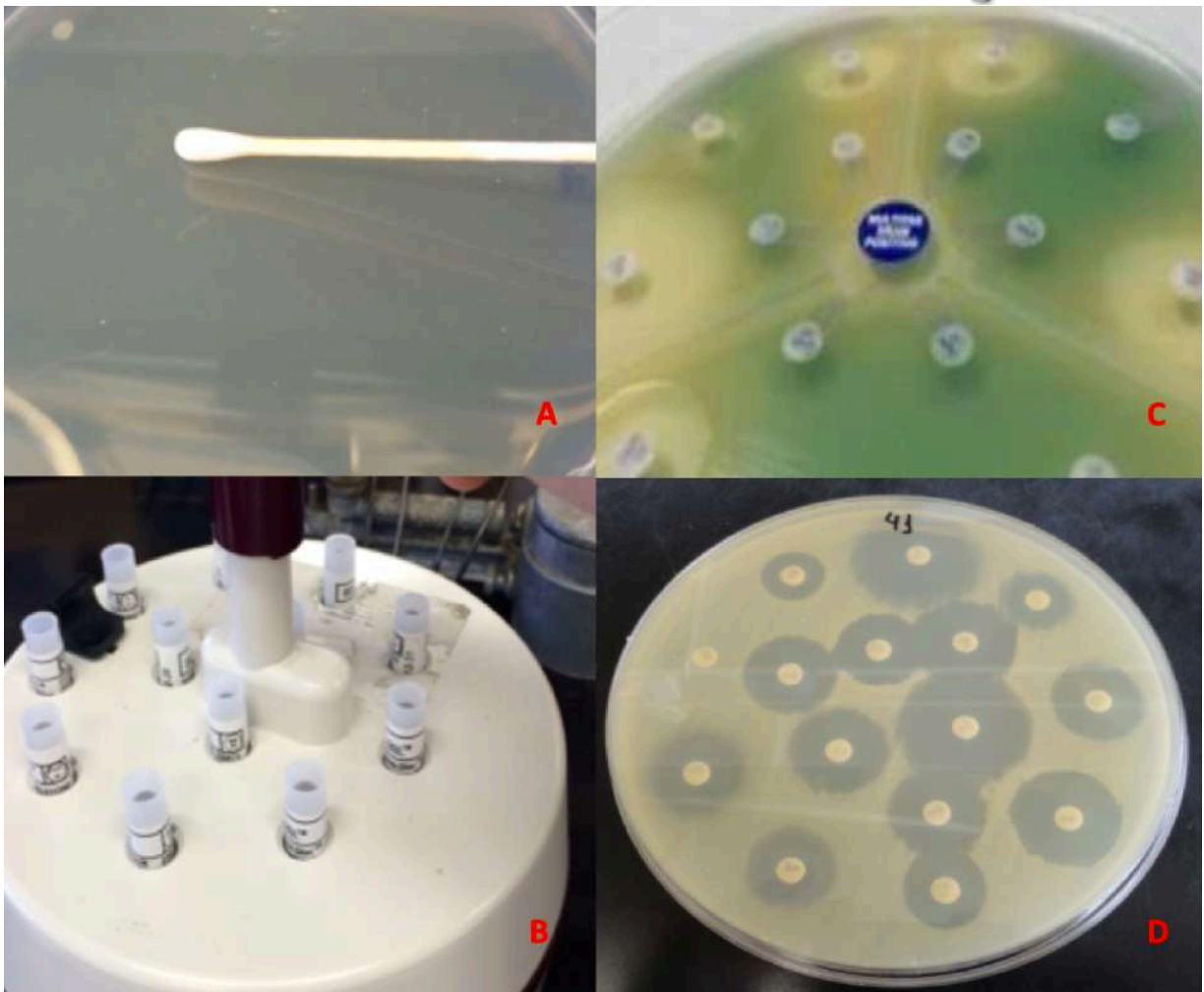
Esses testes são importantes de serem realizados para se identificar qual princípio ativo ideal para a inibição do microrganismo causador de mastite. Assim, evita-se o uso indiscriminado e incorreto de antibióticos dentro da bovinocultura leiteira.

Para a realização do teste de sensibilidade a antimicrobianos, 1 mL do leite deve ser inoculado em um tubo de ensaio contendo 5mL de caldo *Brain Heart Infusion Broth* (BHI) e incubadas por 35 a 37°C por 24 horas. Posteriormente, uma alíquota da cultura, com auxílio de um suabe estéril, é semeada em placas contendo ágar *Mueller-Hinton* e, após a secagem da superfície do meio, adiciona-se discos contendo os antimicrobianos. Em seguida, as placas são acondicionadas em estufa



a 37°C por 24h. E, após esse tempo, realiza-se a leitura do tamanho dos halos de inibição. Estas medidas, então, devem ser conferidas em tabelas, as quais indicam resistência ou sensibilidade a certo antimicrobiano (Figura 10).

Figura 10. Teste de susceptibilidade a antimicrobianos: A- inoculação da cultura (leite +BHI) em placa contendo ágar *Mueller-Hinton*; B – adição dos discos de antimicrobianos; C – discos de antimicrobianos na placa ágar; D – Placas prontas para a leitura, com presença ou não de halos de inibição ao redor dos discos de antimicrobianos.



Fonte: arquivo pessoal

Existem vários métodos disponíveis para a análise dos diferentes parâmetros estabelecidos em leite cru. As técnicas manuais são as mais comuns, mas a grande desvantagem é o tempo necessário para a obtenção de resultados (por isso não se discutiu técnicas manuais de análise de proteínas, lactose anidra e CCS nesse capítulo). Ademais, esses não são os resultados que o MAPA aceita como controle de qualidade de leite.

Assim, atualmente, existem análises eletrônicas, que são realizadas por equipamentos específicos e modernos, que utilizam de técnicas rápidas e eficientes, gerando resultados de alta confiança. Para isso, o MAPA criou a Rede Brasileira de Laboratórios de Controle da Qualidade do Leite (RBQL), a qual certificou alguns laboratórios para a realização de análises oficiais, com o uso de metodologias eletrônicas, estabelecidas de acordo com a IN 77 de novembro de 2018 e IN 59 de



novembro de 2019, do MAPA. Entretanto, estas análises serão discutidas em outro capítulo.



Fatores que afetam a qualidade do leite

A busca da qualidade do leite deve estar presente em todo o processo de fabricação do alimento, desde a fazenda até a mesa do consumidor, a fim de se obter um produto de qualidade, com bom rendimento industrial e seguro para a saúde pública.

Para isso e visualizando o grande potencial produtivo do país, na década de 90, começou-se a discutir o Plano Nacional de Melhoria da Qualidade do Leite (PNMGL), resultando, em 2002, da Instrução Normativa (IN) 51, que começa a estabelecer padrões mínimos para os diferentes tipos de leite (tipo A, tipo B, refrigerado), excluindo o até então existente, tipo C, determinando a obrigatoriedade da refrigeração do leite e estabelecendo padrões de células somáticas.

Em 2011, essa IN foi substituída pela IN 61, a qual extinguiu também o leite tipo B, requerendo, melhores padrões para a contagem bacteriana total (CBT) e contagem de células somáticas (CCS). Posteriormente, em 2019, entre em vigor a IN 76 e 77, as quais definem detalhadamente os programas de autocontrole (PAC), aposentando os resfriadores de imersão, diminuindo, ainda mais, os limites microbiológicos do leite cru refrigerado e, exigindo a contagem padrão em placas (CPP) e não mais CBT. Logo depois, a IN nº 58, novembro de 2019 faz algumas alterações na IN 76, estabelecendo que o leite cru refrigerado deve apresentar limite máximo para Contagem Padrão em Placas de até 900.000 UFC/mL antes do seu processamento no estabelecimento industrial e modificando parâmetro *Enterobacteriaceae* de leite pasteurizado e leite pasteurizado tipo A. E, na IN nº 59, novembro de 2019, também modifica e adiciona alguns pontos referentes à IN 77, e como por exemplo, antes da coleta de leite de novos produtores, a indústria deve verificar e registrar se os fornecedores atendem às boas práticas agropecuárias (BPA) e se o leite apresenta resultado dentro do padrão para CPP emitido por laboratório da RBQL. Por último, a IN nº 55, setembro de 2020, trouxe modificações como a conservação e expedição do leite no posto de refrigeração, na temperatura de até 5,0 °C.

São, então, essas últimas instruções normativas que estão em vigor atualmente e, como forma de estimular as boas práticas agropecuárias por parte dos



produtores, que existe o pagamento por qualidade do leite, chamado de “pagamento por bonificação”.

Essas são as normativas em que se deve basear para obter parâmetros mínimos de qualidade. Em virtude disso, é preciso considerar que existem alguns fatores que podem alterar a qualidade do leite, seja ela nutricional (ou seja, em relação aos componentes do leite) e/ou microbiológica e/ou físico-química. Esses podem agir de maneira direta sobre a síntese e secreção do leite ou ainda, agindo sobre o componente já secretado no interior da glândula.

Com relação à qualidade nutricional do leite, os teores de gordura e proteína podem variar marcadamente, enquanto a lactose e minerais, por exemplo, variam em menor proporção. Os fatores mais importantes que alteram a composição do leite são: genética, estação do ano, sanidade, estresse, idade do animal, estágio da lactação, manejo de ordenha, nutrição e algumas fraudes no leite.

Com relação à genética, a composição do leite pode variar de acordo com a raça. Os genótipos, ao se expressarem, produzem nas vacas diferentes capacidades de produção dos constituintes do leite, levando, assim, a diferentes composições médias, como, por exemplo, a raça Jersey, que produz maior percentagem de gordura e proteína, quando comparado com a raça Holandesa. Entretanto, é importante salientar que as diferenças de composição dentro de uma mesma raça são maiores que entre as diferentes raças. Ademais, existe uma correlação genética negativa entre volume e os teores de gordura e proteína, ou seja, animais de maior produção de leite possuem uma menor percentagem de gordura e proteína. Isso quer dizer que a seleção genética de animais para maior produção de leite também deve ser feita para a seleção do aumento dos teores de gordura e proteína, caso contrário, haverá uma queda nesses componentes.

Outro fator que altera a composição do leite é a estação do ano. No verão, o animal diminui o consumo de alimentos e aumenta o de água, levando a um maior volume de leite produzido, com menor percentagem de gordura (no inverno acontece o contrário).

Outro fator importante que pode alterar a composição do leite é a sanidade do animal, principalmente com relação à saúde da glândula mamária, ou seja, a presença ou não de mastite. Na ocorrência dessa infecção, a presença de



células de defesa pode causar danos às células epiteliais, às quais perdem sua função na produção de leite, diminuindo o volume produzido e, conseqüentemente, há um aumento na porcentagem de gordura. Também, com a ocorrência dessa infecção, aumenta-se a quantidade de proteínas no leite, pois há um influxo de albuminas e imunoglobulinas, alterando a relação caseína/proteína no soro, prejudicando a qualidade do produto. Além disso, também há um aumento de ácidos graxos, causado pelo extravasamento desta substância do sangue para o leite e também, devido à ação de lipases, as quais também produzem ácidos graxos livres, dando um sabor desagradável ao leite.

As situações de estresse, como, por exemplo, maus tratos e agressões, têm efeitos negativos para a produtividade do animal. O estresse gera liberação de adrenalina, a qual reduz os níveis de ocitocina e por conseqüência, diminuição no volume de leite excretado do alvéolo para os ductos e cisterna. Ademais, pode ser que fique leite residual, o qual pode facilitar a multiplicação de microrganismos e, assim, ocorrer mastite. Além disso, vale ressaltar que o estresse pode gerar um gasto a mais de energia, limitando funções fisiológicas como produção de leite, reprodução e resposta imune.

A idade do animal, ou seja, o número de lactações que o animal já passou, também influencia na composição. Isto porque, com o passar das lactações, há uma diminuição gradual de gordura e sólidos não gordurosos e, um aumento no volume de leite.

Outro fator que altera a composição do leite é o estágio de lactação em que o animal se encontra. No início, os teores de gordura, proteína e sólidos não gordurosos são elevados e vão reduzindo com o tempo até o pico de lactação. Posteriormente, vão se elevando gradualmente e, no fim da lactação, o aumento dos teores de gordura e proteína se deve à maior queda de produção nos animais prenhes.

O manejo da ordenha é outro fato importante que altera a composição do leite. O leite inicial da ordenha apresenta 1 a 2% de gordura e, à medida que o leite vai sendo extraído, seu teor vai aumentando. Isso se deve à agregação dos glóbulos de gordura, os quais dificultam a saída do leite dos alvéolos e conseqüentemente dos ductos coletores. Ademais, a produção da ordenha é maior na parte da manhã,



pois os animais têm mais tempo para produzir o leite. Entretanto, se as ordenhas obedecem a intervalos iguais (12 em 12 horas para duas ordenhas ao dia ou 8 em 8 horas, quando três ordenhas ao dia), a quantidade do leite é, aproximadamente, a mesma.

Ainda sobre o manejo de ordenha, vale ressaltar que a realização da ordenha incompleta pode gerar diminuição do teor de gordura no leite, o que será compensado na ordenha seguinte.

Com relação à nutrição do animal, vale lembrar que os precursores dos nutrientes do leite, são originados da alimentação e do metabolismo da vaca. Posteriormente, esses nutrientes vão até as células epiteliais, através de capilares sanguíneos. A nutrição, então, é o meio mais rápido de alteração da composição do leite, sendo a gordura o componente que mais altera. Essa pode ser alterada em até três pontos percentuais, enquanto a proteína pode alterar em até um quinto do que a gordura altera e, a lactose pode alterar menos ainda.

A percentagem de gordura tem uma relação positiva com a proporção acetato:propionato que ocorre na fermentação dos alimentos no rúmen, isso porque, 50% da gordura é sintetizada pelas células epiteliais da glândula mamária principalmente a partir do acetato (demais 50% vem da alimentação). A digestão de alimentos volumosos (que na sua maioria, são ricos em fibra fisicamente efetiva, ou seja, com partícula com mais de 18mm de tamanho, como o pasto, silo ou feno) produzem acetato em maior quantidade e, alimentos concentrados (como alguns grãos ou farelos) produzem propionato em maior proporção.

Quando há o consumo de uma dieta rica em volumosos (ou seja, com grande quantidade de fibra fisicamente efetiva) e menor quantidade de concentrado, aumenta-se a secreção da saliva, evitando a queda do pH ruminal, alterando o padrão de fermentação, aumentando a proporção acetato:propionato (haverá maior produção de acetato, precursor da gordura), conseqüentemente, a percentagem de gordura também aumentará.

Entretanto, o contrário também acontece. Dietas pobres em fibra fisicamente efetiva, com maior fornecimento de concentrado ou fibras com tamanho reduzido (forragens finamente picadas), diminui a salivação, diminui o pH ruminal,



diminui a proporção acetato:propionato, levando a uma diminuição na porcentagem de gordura do leite.

Vale ressaltar que a nutrição inadequada é um dos fatores que mais impede que o animal expresse seu potencial produtivo. A exigência de energia para produção de leite nesses animais é muito alta, e balancear a relação volumoso:concentrado é fundamental!

Ainda, dentre os fatores que alteram a composição do leite, está a adição de substâncias fraudulentas como água, substâncias inibidoras de multiplicação microbiana (peróxido de hidrogênio, formol, cloro e hipoclorito) e neutralizantes de acidez (bicarbonato de sódio, carbonato de cálcio e soda, que alteram a acidez do leite). A adição desses produtos altera a porcentagem dos nutrientes, uma vez que ocorre diluição dos seus componentes nutritivos, além de interferir, principalmente, na produção de derivados do leite. Ademais, quando adulterada, a matéria-prima virá a ter componentes diferentes daquela sem fraude, pois haverá a adição de agentes que não são próprios do leite.

Além desses fatores que alteram a qualidade nutricional do leite, existem fatores que alteram a qualidade microbiológica. Dentre eles estão a higiene, sanidade do rebanho e temperatura de armazenamento do leite.

A higiene na ordenha é um fator essencial para a qualidade microbiológica do leite. Boas práticas agropecuárias como o treinamento de mão de obra, higiene na área de permanência das vacas, limpeza da sala de ordenha, limpeza do teto para ordenhar, higiene do ordenhador, armazenagem correta do leite após a ordenha (temperatura e limpeza), limpeza correta dos utensílios, utilização de água de boa qualidade microbiológica, entre outras medidas, devem ser adotadas para se obter um leite de maior qualidade higiênica, ou seja, de melhor qualidade microbiológica, com baixa contagem padrão em placas (CPP), sendo que o máximo permitido pelas instruções normativas 76 e 77 do MAPA é de 300 mil UFC/mL.

Um leite com alta CPP pode conter diferentes microrganismos. Dentre eles, destaca-se a *Pseudomonas* spp., que produz enzimas lipolíticas e proteolíticas, ou seja, enzimas que quebram a gordura e proteína do leite, alterando a composição e a qualidade dele e, conseqüentemente, diminuindo o rendimento na produção de derivados.



Ademais, leite com alta CPP pode ser um risco à saúde pública. Isso porque, mesmo após a pasteurização, a presença de microrganismos patogênicos e formadores de esporos (como o *Bacillus cereus*) e/ou microrganismos produtores de enterotoxinas termorresistentes (como por exemplo o *Staphylococcus aureus*) podem causar toxi-infecções alimentares em seres humanos. Além destes, microrganismos patogênicos (não formadores de esporos, como *Escherichia coli* shigatoxigênica) presentes no leite cru, podem chegar nos derivados que não sofrem tratamento térmico, como o queijo Minas. Assim, estes alimentos tornam-se veículos para a disseminação de doenças.

Outro fator importante que altera a qualidade microbiológica do leite é a sanidade do rebanho. Isso porque, os microrganismos de algumas doenças infecciosas podem ser eliminados pelo leite, como é o caso dos agentes da leptospirose, brucelose, tuberculose e listeriose. Com isso, altera-se a qualidade microbiológica do leite, sendo, então, um problema de saúde pública, principalmente para o consumo de leite e derivados não pasteurizados.

Além disso, a mastite, importante doença infecciosa do rebanho leiteiro, o qual, como já explicado, pode alterar a composição nutricional do leite, também altera a qualidade microbiológica. Isso porque, na ocorrência dessa doença, há um aumento das células somáticas (essas são constituídas, em sua grande maioria, por leucócitos, principalmente neutrófilos, e células de descamação do epitélio secretor da glândula). O aumento dessas células interfere nas propriedades do leite importantes para a indústria de derivados lácteos, resultando em problemas como o aumento do tempo de coagulação do leite, diminuição da firmeza do coágulo, maior perda de componentes do leite para o soro, menor rendimento de fabricação, defeitos de textura e alteração das características organolépticas.

Outro fator essencial para a qualidade microbiológica do leite é a temperatura de armazenamento. O resfriamento do leite, imediatamente após a ordenha, é uma das medidas de maior impacto, uma vez que o resfriamento a 4°C, inibe a multiplicação de microrganismos mesófilos presentes, evitando que haja fermentação da lactose e conseqüente produção de ácido láctico e diminuição no pH. Entretanto, se, na obtenção de leite houver contaminação de microrganismos psicrotóxicos, os quais têm, na temperatura de refrigeração, sua temperatura ótima



de multiplicação, a qualidade microbiológica do leite pode piorar, pois além de se multiplicarem, esses, em sua maioria, são capazes de degradar a proteína e gordura do leite, pela ação de enzimas específicas (lipases e proteases).

É importante salientar que a temperatura de armazenamento do leite não melhora a qualidade da matéria-prima, ou seja, um produto com alta CPP, continuará assim, mesmo em baixa temperatura.

Outro aspecto não menos relevante é que, segundo a normativa vigente, o tempo gasto para a refrigeração do leite até 4°C deve ser de, no máximo, três horas após o término da ordenha.

Por último, a qualidade físico-química do leite também pode se alterar e, dentre as principais causas estão a mastite e as fraudes por água e substâncias reconstituintes de densidade.

Quando há uma infecção da glândula, na presença de microrganismos, ocorre migração de neutrófilos do sangue para o interior dos alvéolos, podendo, também, romper a parede destes. Este rompimento, juntamente com a alteração de permeabilidade da parede dos vasos sanguíneos, permite a passagem de constituintes do sangue para o leite, gerando um aumento no pH (o leite fica mais alcalino, com pH entre 7,6 e 7,8).

Além da mastite que altera o pH, a adição fraudulenta de água altera densidade e crioscopia, importantes parâmetros físico-químicos. Os mesmos parâmetros também são alterados por substâncias reconstituintes de densidade, como o amido, a sacarose, o cloreto de sódio e o soro do leite. Lembrando que, a adição dessas substâncias, em geral, não tem risco à saúde do consumidor, porém ocorre diluição dos seus componentes nutritivos.

Assim, esses são os diferentes fatores que alteram a qualidade nutricional, microbiológica e físico-química do leite, que é a matéria-prima de diversos produtos como leite pasteurizado, iogurtes, queijos, manteiga, entre outros, prejudicando toda a cadeia produtiva. Sabendo-se disso, quando há um cuidado maior para que a qualidade do produto não se altere, todos eles ganham: o produtor recebe mais pelo seu produto, a indústria se beneficia com o melhor rendimento da



matéria prima e o consumidor terá acesso a produtos de melhor qualidade e mais seguros.



Obtenção, conservação e transporte higiênico do leite

A formação do leite demanda um intenso trabalho metabólico, o qual em uma vaca leiteira é requerida a passagem de 450 litros de sangue pela glândula mamária para produzir 1 litro de leite.

A produção do leite se inicia nas células epiteliais dos alvéolos, com a ação da prolactina. Através dos capilares sanguíneos, os nutrientes chegam até essas células, onde são transformados em componentes do leite. Além disso, imunoglobulinas, vitaminas e sais são transportados diretamente do sangue para o leite.

Posteriormente, os componentes são excretados para a luz do alvéolo. Na ação da ocitocina, as células mioepiteliais, que ficam ao redor do alvéolo, são contraídas e ocorre a expulsão do leite do lúmen do alvéolo para os ductos (inicialmente ductos intralobulares, posteriormente interlobulares) e logo depois, para a cisterna do teto.

Pode-se afirmar que o leite é praticamente estéril até a sua secreção dentro do úbere. Entretanto, pode haver diferentes contaminações durante a ordenha. Devido a isso, tem se procurado melhorar o padrão de qualidade higiênica do leite recebido, a fim de se obter uma matéria-prima de qualidade, além de aumentar a capacidade de atender as expectativas do consumidor na formulação de produtos saudáveis, seguros e de ótima durabilidade. Portanto, é importante que boas práticas agropecuárias (BPA) sejam implantadas para a melhoria da qualidade higiênica, obedecendo-se a diversas recomendações técnicas, as quais serão discutidas a seguir.

Primeiramente, é de extrema importância saber a qualidade microbiológica da água utilizada na obtenção do leite. Recomenda-se que sejam feitas análises regularmente, além do uso de água clorada, pois além de essencial para a vida da vaca, é usada em toda cadeia produtiva, como a lavagem do teto da vaca, de utensílios, equipamentos de ordenha, instalações, tanque de expansão e também na higiene pessoal dos funcionários.

A primeira fase da obtenção do leite, composta pela ordenha, é fundamental para a qualidade dessa importante matéria-prima. As condições de



ordenham acabam definindo o tipo e a qualidade do leite produzido, o que terá repercussão, como já dito, em toda a cadeia produtiva, incluindo indústria, derivados e também saúde pública.

A obtenção de leite de qualidade implica a necessidade de um manejo que reduza a contaminação física, química e microbiológica, e envolve três fatores: o ordenhador, o ambiente e a rotina.

Na etapa de rotina de ordenha, devem-se conduzir os animais com calma, sem agressões e gritos até a sala de ordenha. Isso porque, caso ocorra o contrário, o estresse causado no manejo faz com que o organismo animal libere adrenalina, que tem ação antagônica à ocitocina.

Ademais, é importante que seja criada uma linha de ordenha, de acordo com a saúde do teto (mastite), para que não ocorra disseminação de microrganismos e consequente infecção de outros tetos. Assim, devem-se ordenhar primeiro as vacas sadias (negativas para o *California Mastitis Test*, CMT), posteriormente animais com traços de mastite subclínica, logo em seguida os fracamente positivos, os positivos e por últimos os animais fortemente positivos (lembrando que vaca com mastite clínica devem ser ordenhadas a mão e o leite não deve ser misturado no tanque, e sim descartado).

A higiene dos funcionários é fator importante na obtenção higiênica do leite. A lavagem das mãos pelo ordenhador pode reduzir em até 30% os microrganismos mesófilos na matéria-prima final. Além disso, o funcionário que ordenha deve evitar contato com a peia (sugere-se que tenha alguém para manuseá-la ou que, após manuseá-la, lave as mãos). Vale lembrar que a figura-chave do processo é o ordenhador. Sem a colaboração dele, os investimentos em equipamentos ou em animais de alta produção se tornam nulos. É importante também que ele use roupas limpas, de preferência um uniforme, com botas de plástico, cabelos presos e cobertos, unhas aparadas e limpas (hábitos higiênicos são essenciais).

Ainda, a sala de espera e a sala de ordenha devem ser limpas e higienizadas constantemente durante a ordenha. Os animais, ao chegarem para serem ordenhados, devem ter o mínimo de sujidade possível aderida ao úbere e



tetos. E, com relação ao ambiente de ordenha, ele deve ser arejado, confortável, com piso cimentado e com controle de pragas (ratos, moscas, entre outros).

Antes de começar a ordenha, deve-se realizar a higiene nos tetos, lavando-os (lavar somente os tetos e nunca o úbere). Após isso, devem-se desprezar os três primeiros jatos de leite (isso porque 30% do leite estão na cisterna, e só tem o esfíncter como barreira; assim, desprezando os jatos, diminui-se a contaminação). Nesse momento, aproveita-se para realizar o teste de caneca de fundo escuro para a verificação da mastite clínica no rebanho, e também o CMT para a verificação da mastite subclínica (esse deve ser realizado pelo menos a cada 15 dias). Posteriormente, realiza-se o *pre-dipping*, com produtos a base de cloro (hipoclorito de sódio na concentração de 2 a 10%), os quais devem permanecer em contato com o teto por no mínimo 30 segundos. Em seguida, realiza-se a secagem com papel toalha, utilizando uma unidade para cada teto). Em decorrência desse manejo citado, é importante ressaltar que a rotina de higiene na ordenha reduz aproximadamente 45% dos mesófilos.

Em seguida, realiza-se a ordenha completa do leite, e é essencial que essa ocorra sem interrupções. Se manual, é importante não usar baldes amassados e panos para filtrar o leite. Ademais, devem-se realizar movimentos uniformes, sem puxar o teto, evitando-se o estresse. Se a presença do bezerro for necessária para a descida do leite, posteriormente à ordenha, deve-se permitir que ele mame na vaca e faça o esvaziamento completo do úbere, para que não haja leite residual. No caso de ordenha mecânica, colocar as teteiras com cuidado e o mais rápido (a meia vida da ocitocina é curta, de no máximo 8 minutos). É crucial que a pressão do vácuo seja verificada constantemente por técnicos especializados. O vácuo excessivo pode gerar lesões nos tetos, podendo causar prolapso do esfíncter ou mesmo estrangulamento da cisterna do teto e, a falta dele também gera dor e estresse no animal. É importante lembrar que o estresse é antagonista à ocitocina, podendo causar, então, leite residual e, conseqüentemente uma possível mastite, pela facilidade de proliferação de microrganismos. Ademais, as teteiras devem ser mantidas em locais limpos e serem higienizadas de forma correta, segundo orientações dos técnicos.



A ordenha deve ser constantemente observada, na tentativa de evitar a queda ou o deslizamento das teteiras. Deve-se aferir, também, a pulsação do equipamento de ordenha. Ademais, as borrachas das mangueiras devem ser trocadas periodicamente, pois podem ressecar com o uso de produtos químicos, causar rachaduras, as quais podem alojar microrganismos, cuja retirada é difícil, acarretando na perda da qualidade do leite.

Imediatamente após a ordenha, deve ser realizada a desinfecção dos tetos, chamada *pós-dipping*, utilizando-se soluções desinfetantes, a fim de evitar a entrada de microrganismos, principalmente os ambientais. Os princípios mais usados são o iodo 0,05 a 1% (gliceriado ou não), clorexidina, ácido sulfônico, cloro, ácido láctico, fenóis e ácido cloroso.

Posteriormente, o animal é solto. Porém, como os esfíncteres ainda não estão completamente fechados e as vacas podem deitar após saírem da sala de ordenha, microrganismos ambientais como a *Escherichia coli* podem invadir o úbere, tornando inútil a realização do *pós-dipping*. Assim, recomenda-se o oferecimento de alimento aos animais, por um período mínimo de uma hora, até o total fechamento do esfíncter.

Logo após a ordenha, o leite deve ser coado e refrigerado em tanques de expansão a 4° C por até 48 horas (o leite deve atingir essa temperatura em até 3 horas). É importante salientar que a baixa temperatura não melhora a qualidade do leite. A refrigeração tem algumas vantagens como a diminuição do custo do transporte, horários de trabalhos mais cômodos, redução dos custos operacionais para as indústrias e maior vida de prateleira dos produtos. Isso acontece porque a temperatura de refrigeração diminui a multiplicação de microrganismos mesófilos, apesar de facilitar a multiplicação dos psicrotróficos, que quando presentes, degradam, em sua maioria, proteína e gordura.

Além do monitoramento da temperatura, é importante que seja feita a limpeza e sanitização rigorosa das superfícies do tanque (incluso a pá) e das conexões logo após a coleta do produto. Nessa, devem ser realizados os mesmos procedimentos aplicados ao equipamento de ordenha, lembrando do cuidado para esfregar o interior, para não provocar arranhaduras.



A granelização, ou seja, o transporte a granel do leite, tem como objetivo maior a redução dos custos de transporte e a obtenção de uma matéria-prima de qualidade. Essa coleta ocorre através de uma mangueira, que é acoplada no tanque de expansão e no veículo com tanque isotérmico (dividido internamente), o qual possui uma bomba de sucção, fazendo a transferência do leite. A limpeza desses veículos também é imprescindível, além, claro, das mangueiras que são acopladas para a coleta. Outro fator relevante é o treinamento dos funcionários responsáveis pelo transporte, com relação à higiene pessoal e também à transferência da matéria-prima, além do fato de serem os responsáveis por realizar a prova de alizarol e a coleta do leite para análise em laboratórios credenciados pelo MAPA. Esses aspectos são relevantes em relação à qualidade do leite, porém em nenhum momento pode-se descuidar daqueles relacionados à higiene em todos os segmentos da cadeia produtiva do leite.

Assim, resumidamente, o funcionário da indústria laticinista é responsável pela coleta, identificação das amostras, recebimento da matéria-prima, controle da temperatura e prova do alizarol. Vale lembrar que leites com anormalidades não são coletados e são, então, submetidos à nova análise no dia seguinte. Ademais, as amostras coletadas pelo motorista do veículo, que serão submetidas às análises laboratoriais, devem ser acondicionadas e transportadas em caixas térmicas adequadas, limpas e com gelo.

Com isso, um leite com qualidade não existirá se não forem tomados cuidados tanto na obtenção, quanto na conservação e transporte do produto. É importante que as boas práticas agropecuárias citadas sejam implantadas para orientar os produtores na obtenção e conservação do leite. E, como ainda não há uma legislação e visita *in foco* para propriedades rurais produtoras de leite, essas ações devem ser acompanhadas pela indústria. E, ainda que sejam medidas simples e muitas vezes são usadas como rotina, na grande maioria das propriedades leiteiras, deve-se lembrar de que tão importante quanto o seu conhecimento e o treinamento dos funcionários envolvidos, é o oferecimento de boas condições de trabalho para que essas medidas sejam executadas diariamente.



Características microbiológicas do leite

As características da produção leiteira no Brasil são os principais fatores que impedem um desenvolvimento mais acelerado dessa atividade, isso porque, a maior parte dos produtores pode ser classificada como pequenos ou médios, com produção diária de 50 a 100 L e de caráter familiar. Como consequência ocorre pouco investimento na atividade, resultando em problemas em toda a cadeia produtiva, como baixa tecnificação, falta de controle sanitário dos animais e condições higiênicas inadequadas durante a ordenha, conservação e transporte. O reflexo disso pode ser observado na baixa produtividade do rebanho nacional e na baixa qualidade do leite produzido.

O principal parâmetro utilizado para se verificar a qualidade do leite é o perfil microbiológico e conseqüentemente, poder monitorar cuidadosamente todo o processo de fabricação para ser mantido o controle adequado, a fim de prevenir a difusão de doenças transmitidas por alimentos (DTA's).

Diante de tal concepção é necessário lembrar que o leite, ao ser secretado da glândula mamária de animais saudáveis, é praticamente estéril, constituído apenas de microrganismos lácticos. Entretanto, por ser um alimento de excepcional valor nutritivo, torna-se um meio de cultura para muitos microrganismos. E contaminações podem ocorrer durante ou após a ordenha, associadas à mastite, no contato com excrementos dos animais, sujidades no úbere, tetos ou ambientes, equipamentos de ordenha mal higienizados, pelo ordenhador, dentre outras formas. Em virtude disso, a seguir serão discutidos três diferentes grupos de microrganismos que podem ser encontrados no leite: os lácticos (benéficos), os deteriorantes e os patogênicos.

O leite constitui uma boa matriz para o isolamento de microrganismos benéficos à saúde do homem e dos animais. As bactérias lácticas, ou também conhecidas como benéficas, desempenham um papel primordial no processo de fermentação do leite, sendo sua utilização um dos métodos mais antigos de preservação. Isto se deve à sua capacidade de produzir ácido láctico rapidamente, ocasionando o decréscimo do pH do leite e a remoção da fonte fermentescível,



promovendo um ambiente desfavorável ao desenvolvimento de microrganismos deteriorantes e/ou patogênicos.

Dentro desse grupo de microrganismos lácteos benéficos incluem-se as bactérias probióticas, as quais podem apresentar atividades como redução da intolerância à lactose, restauração da microbiota intestinal, alívios de distúrbios inflamatórios, redução de processos alergênicos, melhoria na absorção de nutrientes, dentre outros. É diante desse contexto que o crescimento pela demanda por alimentos saudáveis tem estimulado a inovação e o desenvolvimento de novos produtos na indústria, como o leite fermentado, iogurte, kefir, entre outros. Os principais microrganismos probióticos são os *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc* e algumas espécies de *Enterococcus* e *Streptococcus*, podendo ser encontrados/isolados no leite cru. Dentre os fungos, as leveduras *Pichia* também tem esse potencial.

Além do efeito probiótico, algumas bactérias lácticas produzem determinados compostos formados em pequenas quantidades a partir do catabolismo celular, dentre os quais podemos citar as bacteriocinas. As bacteriocinas são proteínas ou complexos de proteínas com atividade bactericida e/ou bacteriostática, produzidas por determinadas linhagens de bactérias lácticas que se caracterizam por apresentarem em espectro de ação restrito aos microrganismos Gram positivos. Existem dois tipos de bacteriocinas: um tipo clássico, que exhibe um espectro de atividade apenas contra as espécies homólogas e um segundo tipo, menos comum, que apresenta um amplo espectro de ação contra uma variedade de microrganismos Gram positivos. Como exemplo deste segundo tipo, pode-se citar a nisina, produzida por determinadas linhagens de *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* e a pediocina, produzida por *Pediococcus pentosaceus* (até o momento, somente a nisina foi suficientemente avaliada e purificada).

Esses microrganismos, então, por produzir compostos de ação bactericida e bacteriostática, podem ser usados até mesmo como conservantes naturais. Um exemplo disso é o uso de *L. lactis* subsp. *lactis*, produtores de nisina, em queijos fundidos, para inibição do desenvolvimento pós-germinativo de esporos de bactérias termófilas. Além disso, estudos vêm sendo desenvolvidos para o uso de



linhagens visando à inibição de microrganismos patogênicos, como a *Listeria monocytogenes*.

Como anteriormente exposto, as bacteriocinas são pequenas moléculas proteicas sendo, portanto, susceptíveis à degradação por enzimas proteolíticas. Essa característica é importante, pois sua eficiência depende dos níveis de contaminação do leite. Se a contaminação inicial for muito elevada, a atividade da nisina é restrita, não impedindo a deterioração do produto. Assim, é necessário ressaltar que, apesar do uso de bacteriocinas ser bastante válido para auxiliar no controle de microrganismos deteriorantes e/ou patogênicos, os métodos eficazes de limpeza e sanificação são imprescindíveis, em todas as etapas de obtenção da matéria-prima e de processamento, para evitar a contaminação do leite e dos produtos lácticos e, desta forma, obter um produto de alta qualidade.

Além do uso como probiótico e conservante, alguns microrganismos lácticos também são usados como culturas *starters*, com o objetivo de proporcionar uma fermentação controlada. Como exemplo tem-se o *Lactococcus*, usado na produção de manteiga e queijo; *Lactobacillus*, usado na produção de queijo Emmental, Provolone, Gorgonzola e Mozzarella.

Para falar a respeito dos outros dois grupos, deteriorantes e patogênicos, é importante lembrar que a contaminação do leite pode ocorrer por diferentes microrganismos, sendo necessário ter clareza de alguns conceitos:

- Microrganismos mesófilos são aqueles que se multiplicam em temperatura ambiente, por volta de 30 a 35 °C;
- Microrganismos psicrófilos são aqueles que se multiplicam em temperaturas inferiores a 7°C;
- Microrganismos termolábeis são aqueles que são inativados com a pasteurização;
- Microrganismos termodúricos são aqueles que resistem a temperaturas similares à da pasteurização, 72 a 74°C, porém não se multiplicam nessas temperaturas;
- Microrganismos formadores de esporos são aqueles que alteram sua forma vegetativa para sobreviver às condições extremas do meio;



- Microrganismos mesófilos têm a capacidade de se multiplicar em temperaturas de refrigeração, além de possuir estirpes com comportamento mesófilo e outras com comportamento psicotrófico;
- Infecção é quando o microrganismo gera um processo infeccioso, podendo ele produzir toxinas ou não;
- Intoxicação é quando ocorre a ingestão de toxinas pré-formadas, produzidas por um microrganismo;

Os microrganismos deteriorantes são aqueles que promovem alteração das características organolépticas do leite e de seus derivados. Eles podem ser mesófilos ou psicotróficos, podendo ser termolábeis, termodúricos ou formadores de esporos. Além disso, fungos e leveduras também são importantes microrganismos desse grupo.

Os microrganismos mesófilos deteriorantes, como por exemplo, os coliformes, quebram a lactose presente no leite em ácido láctico, que, em quantidades elevadas, altera a acidez do leite por reduzir o pH e promover a precipitação da caseína (coagulação). Ainda, alguns mesófilos produzem, além do ácido láctico, o ácido acético, ácido succínico, álcoois e gases, entre eles o dióxido de carbono. Esse último, por sua vez, tem atuação importante na produção de queijos, pois durante a maturação, fica retido na massa, dando lugar à formação de “pequenos buracos”, denominados olhaduras, além do sabor desagradável, acidificado. E, se o número de coliformes for excessivo, o gás gerado pode causar o chamado estufamento precoce do queijo.

Dentre as bactérias psicotróficas deteriorantes, a maioria delas são Gram-negativas, como a *Pseudomonas* (principal), *Achromobacter*, *Aeromonas*, *Serratia*, *Alcaligenes*, *Chromobacterium* e *Flavobacterium*. Entretanto, destacam-se, também, algumas Gram-positivas como *Bacillus*, *Clostridium*, *Corynebacterium*, *Streptococcus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Lactobacillus* e *Microbacterium*. Todas, como já comentado, se multiplicam em baixas temperaturas, ou seja, são capazes de se multiplicar enquanto o leite está sendo refrigerado. Além disso, grande parte delas produzem enzimas lipolíticas e proteolíticas, que são termo resistentes, as quais diminuem o rendimento na produção de produtos lácticos e comprometem a vida de prateleira do leite e seus derivados. Com relação às lipases, essas



hidrolisam triglicérides (constituintes da gordura) em ácidos graxos de cadeia curta, responsáveis pelo aparecimento de odores desagradáveis ao leite, levando à rancificação dele. Em contrapartida, as proteases quebram as proteínas, causando o sabor amargo, além de defeitos em produtos de vida de prateleira longa (principalmente a geleificação).

Vale ressaltar que a contagem de microrganismos psicrótrópicos no leite cru é influenciada pela população inicial, temperatura e tempo de armazenamento do leite nos tanques de refrigeração. E, quando a legislação estabeleceu que o leite cru deveria ser refrigerado na propriedade rural, as bactérias psicrótróficas adquiriram maior importância, pois a aplicação do frio acarretou problemas decorrentes da multiplicação desses microrganismos, principalmente devido à característica de produção de enzimas que são resistentes a tratamentos térmicos. Assim, mesmo que a pasteurização inative as bactérias, as enzimas que foram produzidas durante sua multiplicação continuam a agir, causando degradação de proteínas e gorduras do leite.

Com relação aos microrganismos termofílicos (*Enterococcus*, *Micrococcus*, *Microbacterium*, *Lactobacillus* e *Streptococcus*) e os formadores de esporos (*Clostridium* e *Bacillus*), seus efeitos deteriorantes estão ligados ao potencial de desenvolvimento, ou seja, na capacidade de multiplicação depois do tratamento térmico, o qual pode propiciar condições para sua atividade microbiana. No leite UAT (ultra alta temperatura), por exemplo, que apresenta vida de prateleira mais longa, a deterioração causada por esses microrganismos é um grave problema. Se esse alimento estiver contaminado com *Enterococcus*, esses são acidificantes e exercem uma ação proteolítica. Se contaminado com *Bacillus*, podem produzir proteases e lipases que degradarão o leite.

Ainda sobre os microrganismos termofílicos, o gênero *Clostridium* possui importância para os queijos duros ou semiduros. Isso porque esse agente resiste ao processo de pasteurização e, somado às condições de anaerobiose dentro dos queijos durante o processo de maturação, fazem com que os esporos germinem, se multipliquem e, como resultado do seu metabolismo, façam a chamada fermentação butírica. Nessa ocorre a quebra da lactose, com consequente formação de butirato e gases CO₂ e H₂. Esses gases são responsáveis pelo estufamento tardio dos queijos,



caracterizado pela formação de buracos grandes na massa podendo, em casos mais graves, ocorrer também rachaduras na casca.

Por último, ainda dentro dos microrganismos deteriorantes, existem os fungos filamentosos (mofos e bolores) e leveduras. Os gêneros *Candida*, *Pichia*, *Cryptococcus*, *Aspergillus* e *Penicillium* podem causar sabor e aroma desagradáveis, isso ocorre porque algumas estirpes produzem proteases e fosfolipases que afetam a qualidade do leite cru e derivados.

Além dos microrganismos lácteos benéficos e dos microrganismos deteriorantes, existem os microrganismos patogênicos. Eles também podem ser mesófilos ou psicrótróficos, podendo ser termolábeis, termodúricos ou formadores de esporos.

Um ponto a evidenciar é que os microrganismos patogênicos não produzem enzimas responsáveis pelas alterações nas características organolépticas, por isso, não causam comprometimento aparente da qualidade industrial e do tempo de prateleira dos produtos lácteos. Por esse motivo, a presença desses no leite pode, muitas vezes, ser subestimada ou passar despercebida, o que é um fator grave, se analisado do ponto de vista de saúde pública.

A ocorrência de surtos associados ao consumo de leite e derivados pasteurizados ocorre devido à falha do tratamento térmico, ou contaminação após o aquecimento ou mesmo devido à presença de microrganismos termodúricos ou capazes de se esporular. Ademais, vale ressaltar que alguns microrganismos, mesmos inativados na pasteurização, produzem, antes dessa, toxinas termo resistentes que causam intoxicações quando ingeridas junto com o alimento.

Outrossim, a ingestão de leite cru e derivados lácteos feitos a partir de leite não pasteurizado (como o Queijo Minas) contaminados é uma das principais causas de doenças de origem alimentar, com gravidade variável, de acordo com o microrganismo. *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Brucella*, *Pseudomonas*, *Bacillus cereus*, *Clostridium botulinum* e *C. perfringens*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus*, *Listeria monocytogenes*, *Mycobacterium bovis*, dentre outros, são microrganismos que são riscos em potencial para a saúde pública, alguns dos quais serão discutidos abaixo.



Dentro do grupo de microrganismos mesófilos patogênicos, destacam-se os coliformes (como os gêneros *Escherichia*, *Salmonella*, *Enterobacter* e *Klebsiella*) e *Staphylococcus* spp., importantes agentes associados a infecções e intoxicações relacionadas ao consumo de leite e derivados. Além disso, é um grupo usado como indicador das condições higiênicas na obtenção do leite.

Alguns surtos de *E. coli* diarreiogênicas foram descritos pelo consumo de leite ou derivados crus, como por exemplo a ocorrência de síndrome hemolítica urêmica causada por *E. coli* O157. Também é importante ressaltar a ocorrência de surtos decorridos a partir da contaminação de bactérias fecais não fermentadoras de lactose, como as do gênero *Salmonella*. Essas são termolábeis, ou seja, destruídas pela pasteurização, e seu isolamento em derivados lácteos indica contaminação pós-processamento térmico ou falhas no processamento térmico.

Além disso, dentro do grupo dos mesófilos patogênicos está o *Staphylococcus aureus*. Esse pode produzir enterotoxinas, reconhecidas como agentes de intoxicação alimentar, estando associados, principalmente, a alimentos que foram extensamente manipulados durante o seu preparo, como, por exemplo, o Queijo Minas ou parmesão ralado. É importante ressaltar que essa contaminação pode ocorrer antes ou após a pasteurização do produto. Se antes, essa bactéria é inativada no tratamento pelo calor, mas suas enterotoxinas não. Se a contaminação ocorrer depois da pasteurização, o produto poderá ter o microrganismo e as toxinas. Essas últimas, quando ingeridas causam sintomas como náuseas, vômitos, cólicas abdominais, diarreia, sudorese, dores de cabeça e, em alguns casos, quadros febris ou de hipotermia. É uma doença subnotificada, devido o caráter autolimitante, com sintomatologia branda e de curta duração.

Com relação aos microrganismos psicrotóxicos patogênicos, destacam-se a *Listeria monocytogenes* e o *Bacillus cereus*. A *Listeria* spp. está amplamente distribuída na natureza e acomete principalmente idosos, recém-nascidos, gestantes e pessoas imunocomprometidas. Os principais sintomas podem variar desde uma gripe à gastroenterite, meningite, encefalite e até mesmo septicemia (este microrganismo, na sua forma invasiva, atravessa a barreira intestinal, podendo alcançar diversos órgãos) e, em mulheres grávidas infectadas, no segundo ou terceiro mês de gestação, pode causar aborto, nascimento prematuro ou nascimento



do bebê natimorto. Além disso, algumas cepas são termodúricas, ou seja, são resistentes à temperatura de pasteurização, o que o torna um importante agente no que concerne à saúde pública.

O mesmo acontece com o *Bacillus cereus*, que, além de ser um microrganismo psicrotrófico, formador de esporos, causador de alterações das características organolépticas do leite e de seus derivados, também pode produzir toxinas que são capazes de causar duas síndromes distintas, a emética (toxina termoestável) e a diarreica (toxina termolábe). Além disso, algumas cepas têm sido descritas com ação neurológica e outras capazes de causar bacteremia persistente.

Além da contaminação microbiológica, alimentos de origem animal servem como veículo de disseminação de patógenos resistentes a antimicrobianos, causados, principalmente, pelo uso errôneo e abusivo desses medicamentos na cadeia leiteira, gerando um enorme problema de saúde pública. Além disso, resíduos de antibióticos presentes no leite podem inibir culturas *starters* com consequentes prejuízos tecnológicos e econômicos para a indústria de laticínios.

Sabendo-se das características microbiológicas do leite, é importante que esse seja ordenhado, armazenado, transportado e processado na máxima qualidade higiênica, com temperaturas adequadas de refrigeração tanto do leite, como de seus produtos, a fim de evitar a presença dos microrganismos deteriorantes e também dos patogênicos.

Atualmente, um dos métodos mais utilizados para caracterizar a qualidade microbiológica do leite é a contagem padrão em placas, técnica padrão ouro para o MAPA. Entretanto, além dela, existe a prova da redutase, a qual estima a quantidade de bactérias presentes no leite. Nessa, adiciona-se inicialmente 10 mL de leite em um tubo de ensaio e, posteriormente 1 mL de solução de azul de metileno, seguido da homogeneização. Subseqüentemente, o tubo de ensaio deverá ser colocado em banho-maria a 37°C. Para a leitura do resultado, verifica-se o tempo decorrido desde a mistura do leite com o corante até o descolorimento completo. O tempo de redução é inversamente proporcional à quantidade de bactérias presentes na amostra de leite no início da incubação, ou seja, quanto maior a população bacteriana na amostra, mais rapidamente ocorrerá a reação de redução da substância indicadora, tornando-a incolor. Se o tempo de coloração for



inferior a 20 minutos, a qualidade do leite é considerada péssima; se o tempo for de 20 minutos a 2 horas, qualidade ruim; se o tempo for de 2 a 4 horas, qualidade aceitável; se o tempo for maior que 4 horas, a qualidade é considerada boa.

Mesmo com os avanços nas técnicas de produção, processamento e distribuição de leite, a ocorrência de contaminações de natureza microbiana ainda é um problema na cadeia produtiva deste alimento, principalmente devido às baixas condições higiênicas e à temperatura de armazenamento, com impacto negativo tanto para produtores, como também para indústrias e consumidores.

Para isso, é importante que haja uma combinação de Boas Práticas Agropecuárias (BPA), Boas Práticas de Fabricação (BPF), Procedimentos Padrão de Higiene Operacional (PPHO) e Análise de Perigo e Pontos Críticos de Controle (APPCC), para que, enfim, se obtenha um produto final de qualidade.



Inspeção e Tecnologia do Leite Pasteurizado

Durante muito tempo, o leite era consumido sem tratamento tecnológico ou controle sanitário. Foi a partir do início do século XX que tecnologias aplicadas nos tratamentos térmicos, desenvolvimento de embalagens e sistemas de transportes permitiram comercializar o leite. Assim, o produto veio a ter maior segurança e maior tempo de prateleira. E, mesmo com o decreto-lei federal nº 923, de 10 de outubro de 1969, que proíbe a venda de leite cru para consumo direto da população, em todo o território nacional, o consumo de leite não tratado ainda existe.

Inicialmente, existiam os leites tipo A, B e C, os quais eram separados conforme contagem de microrganismos por mililitro (mL) de leite. Posteriormente, com a Instrução Normativa N° 51, de 2002, excluiu-se o tipo C e logo após, na normativa 62, de 2011, excluiu-se também o tipo B, buscando-se cada vez mais melhora na qualidade do leite cru e conseqüentemente do seu produto final, como, por exemplo o leite pasteurizado.

Atualmente, existem 3 tipos de leite que podem ser comercializados no Brasil, o leite pasteurizado, o leite pasteurizado tipo A e o leite ultrapasteurizado longa vida, os quais podem ser classificados quanto a percentagem de gordura, como integral (mínimo 3% gordura), semidesnatado (0,6 a 2,9% de gordura) e desnatado (máximo 0,5% de gordura).

Ainda, vale ressaltar a diferença do leite pasteurizado e do leite pasteurizado tipo A. Esse último deve ser produzido, beneficiado e envasado em "Granja Leiteira", tendo um prazo máximo de validade de 10 dias, quando mantidos refrigerados. Além disso, a granja leiteira não pode receber leite de outras propriedades. Ademais, a ordenha deve ser obrigatoriamente mecânica e realizada em uma sala própria para este fim, com canalização do leite em circuito fechado e resfriamento em tanques de expansão à no máximo 4°C. Além disso, ainda deve obedecer a parâmetros microbiológicos e de CCS (contagem de células somáticas) mais rigorosos do que os previstos para o leite cru refrigerado.

Para a produção de leite pasteurizado, segundo as normativas 76 e 77, o leite, após ser ordenhado, deve ser refrigerado a 4,0° C em tanques de expansão (essa temperatura deve ser atingida no tempo máximo de três horas após a



ordenha, independentemente de sua capacidade). Com exceção do leite da granja leiteira, que será beneficiado na própria propriedade, o leite pode ficar no tanque de refrigeração por até 48 horas após a ordenha. Posteriormente, deve ser coletado em circuito fechado, através de mangueira, por um veículo com tanque isotérmico, o qual também deve ser mantido na mesma temperatura, de 4°C.

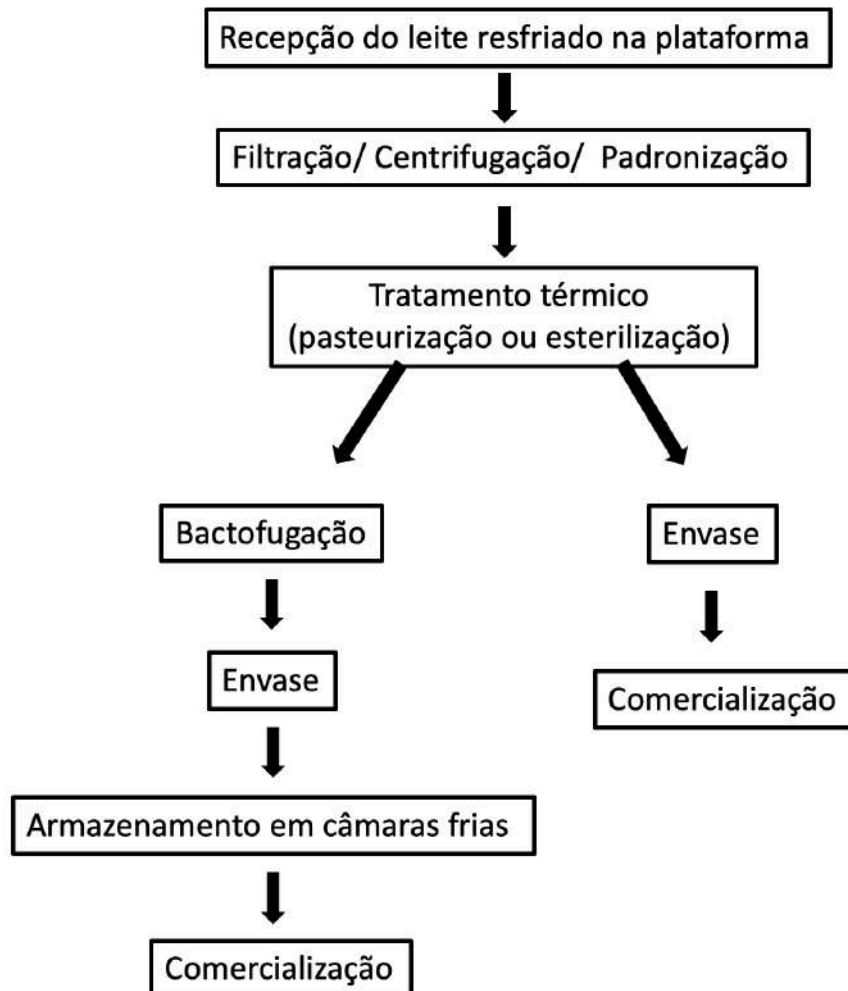
Vale lembrar que o leite cru refrigerado, quando proveniente de posto de refrigeração, deve ser identificado por meio de rotulagem, também transportado em carros-tanques isotérmicos com todos os compartimentos lacrados e acompanhados de boletim de análises do laboratório do estabelecimento expedidor. E, leites recebidos em latões devem atender aos mesmos critérios estabelecidos para o leite cru refrigerado, com exceção da temperatura.

O recebimento do leite no estabelecimento deve ser de no máximo 7,0° C, admitindo-se, excepcionalmente, o recebimento até 9,0°C. Antes do descarregamento, o estabelecimento industrial é responsável pelo controle de qualidade na seleção da matéria-prima destinada ao beneficiamento ou à industrialização, conforme especificações definidas no RIISPOA (BRASIL, 2017). Assim, é preciso certificar-se que o leite esteja dentro dos padrões de qualidade, e para isso são realizadas várias análises: teste de acidez com alizarol e solução Dornic, crioscopia, pesquisa de resíduos de antibióticos, pH, densidade, prova da redutase, percentagem de nutrientes (gordura, extrato seco total e extrato seco desengordurado) e pesquisa de adulterantes (cloretos, amido, formol, álcool, sacarose, peróxido, alcalinos).

Após a realização das análises do leite e certificação de boa qualidade, ele, então, é descarregado. Do caminhão, o leite segue para a bomba a qual possui dois filtros, um medidor da quantidade de litros e, um resfriador, que baixa a temperatura do leite para 2,5 a 4°C, podendo ser conduzindo para os silos de armazenagem. Antes do tratamento térmico, ocorre a filtração, centrifugação e padronização. E, após a pasteurização ocorre o envase, armazenamento e comercialização (Figura 11).



Figura 11. Fluxograma de produção de leite pasteurizado



Fonte: Arquivo pessoal.

A filtração é a primeira operação realizada, com a finalidade de retirar as impurezas (compostos sólidos insolúveis maiores), utilizando-se de material filtrante apropriado, constituído de aço inoxidável ou plástico. Posteriormente, o leite sofre uma centrifugação para retirada de partículas menores. Em seguida, o leite é aquecido entre 45 a 55°C em desnatadeiras, para que ocorra a padronização, que é a retirada de parte da gordura do leite e a manipulação de seu teor no próprio leite, por adição do creme extraído do leite desnatado, ajustando-o ao teor de gordura desejado.

Logo após essas etapas, podem ocorrer dois tipos de tratamentos térmicos: a pasteurização (lembrando que somente a rápida é permitida para



produção de leites pasteurizados fluidos) ou a esterilização comercial (também conhecida como ultrapasteurização). Sabe-se que não é possível reduzir o número de microrganismos a zero absoluto, sendo importante, então, a utilização de matéria-prima de qualidade. Assim, esses tratamentos térmicos eliminam bactérias patogênicas e retardam as deteriorantes, fazendo com seja mais seguro para a saúde do consumidor e tenha uma maior vida de prateleira.

Para a produção de leites pasteurizados, a pasteurização rápida ocorre em trocadores de calor tubulares ou de placas, todo em aço inoxidável. O leite é aquecido na temperatura de 72 a 75°C, durante 15 segundos, circulando entre as placas, em camadas muito finas, em circuito fechado, ao abrigo de ar e luz, sob fluxo e pressão constantes. Esse tratamento térmico tem a finalidade de obter um alimento livre de microrganismos patogênicos não esporulados, com eficiência de 99,5%, ou seja, não é capaz de eliminar todos os microrganismos presentes no leite. Portanto, após a pasteurização, ainda restam alguns com maior resistência térmica, que embora não sejam capazes de causar doenças, provocam deterioração do produto. Por esse motivo, o leite pasteurizado deve ser conservado sob refrigeração e tem um prazo de validade médio de 5 a 10 dias, dependendo da sua qualidade microbiológica. Dentre as bactérias que resistem à pasteurização estão as bactérias ácido lácticas, como, por exemplo, os *Lactobacillus spp.*, que embora possam causar alterações nas características do leite, são altamente benéficas ao nosso organismo.

Vale lembrar que logo após a pasteurização, em alguns laticínios, com o leite ainda quente, pode ocorrer a bactofugação, um complemento da pasteurização. Essa etapa consiste na utilização de uma força centrífuga, para eliminar bactérias que podem sobreviver à pasteurização, principalmente os microrganismos esporulados. Logo em seguida, o leite pasteurizado é então resfriado com água gelada a uma temperatura de 4°C ou ainda, dentro dos trocadores de calor tubulares. Após isso, segue para o envase imediato, para evitar recontaminação. Posteriormente, o leite deve ser mantido em câmaras frias e está pronto para ser comercializado.

Para a produção de leite longa vida, ocorre a esterilização comercial (ou ultrapasteurização) que é o tratamento térmico realizado pelo processo de ultra alta temperatura (UAT ou UHT, *ultra high temperature*). Nesse, o tratamento térmico



aplicado ao leite ocorre a uma temperatura entre 130 e 150 °C, por um período de dois a quatro segundos, também mediante processo de fluxo contínuo. Esse tratamento é suficiente para eliminar, além dos patógenos, todos os microrganismos viáveis no produto final, ou seja, todos aqueles que conseguiriam se multiplicar dentro da embalagem, causando alterações. Isso explica porque o leite UHT pode ser armazenado em temperatura ambiente. A embalagem do leite UHT também é diferenciada, protegendo o leite da exposição à luz e ao oxigênio, para evitar também outras possíveis alterações químicas.

Imediatamente após a ultrapasteurização, o leite é resfriado à temperatura inferior a 32°C.E, em seguida é envasado em condições assépticas, não necessitando de ser armazenado em câmaras frias. Esse tratamento, apesar de proporcionar uma vida de prateleira de até 180 dias (por isso é denominado leite longa vida), não destrói esporos, portanto o termo “esterilidade” não determina leite “estéril”. E, outro aspecto não menos relevante que deve ser ressaltado é com relação aos nutrientes do leite. Essa ultra temperatura altera a composição de proteínas, vitaminas e apenas alguns sais minerais, não ocorrendo mudanças significativas no valor nutritivo de gordura e lactose.

Como já dito, o tratamento pelo calor visa principalmente à eliminação dos microrganismos indesejáveis, que se encontram no alimento. A intensidade e o tempo de exposição ao calor, além de sua vigorosa ação sobre os microrganismos, poderão alterar, também, o valor nutritivo e modificar a natureza física e química do alimento, reduzindo as suas qualidades sensoriais e nutricionais. Portanto, é importante que haja uma inspeção deste alimento, tanto para saber da qualidade microbiológica, como também da físico-química.

Sendo assim, segundo a normativa 76, o leite pasteurizado e o leite pasteurizado tipo A devem atender aos seguintes parâmetros físico-químicos: valor mínimo de 3% de gordura para o leite integral, de 0,6% a 2,9% para o leite semidesnatado e no máximo 0,5% para o desnatado; acidez de 0,14 g a 0,18 g de ácido láctico/mL; densidade a 15°C deve ser de 1,028 a 1,034 para o integral, 1,028 a 1,036 para o semidesnatado e desnatado; índice crioscópico entre -0,530° H e -0,555°H, equivalentes a -0,512°C e a -0,536°C; mínimo de 8,4% de sólidos não gordurosos para o leite integral; proteína total mínima de 2,9%; negativo para prova



da fosfatase; positivo para a prova de peroxidase (vale lembrar que a fosfatase alcalina é desnaturada em temperaturas próximas à de pasteurização, 72 a 75 °C por 15 a 20 segundos, por isso deve estar ausente no leite pasteurizado; e a peroxidase é inativada em temperaturas superiores a 80 °C por 5 segundos, logo, deve estar presente no leite pasteurizado).

Com relação à qualidade microbiológica, tanto do leite pasteurizado como do pasteurizado tipo A, seguindo a IN 76 do MAPA, a cada 5 amostras de leite analisadas, apenas duas podem estar com contagem de 1 a 5 *Enterobacteriaceae*/mL. E, segundo a RDC 331 e a IN 60, ambas de 2019, da Anvisa, não podendo haver microrganismos da família *Enterobacteriaceae*/mL.

Ademais, o leite tipo A não deve apresentar resíduos de produtos de uso veterinário e contaminantes acima dos limites máximos previstos. Vale ressaltar que o leite cru, destinado a fabricação de leite tipo A, deve apresentar médias geométricas trimestrais de Contagem Padrão em Placas de no máximo 10.000 UFC/mL e de Contagem de Células Somáticas de no máximo 400.000 CS/mL (quatrocentas mil células por mililitro).

Com relação ao leite UAT, segundo a portaria nº 146 de 07 de março de 1996 do MAPA, deve atender aos seguintes parâmetros físico-químicos: valor mínimo de 3% de gordura para o leite integral, de 0,6% a 2,9% para o leite semidesnatado e no máximo 0,5% para o desnatado; acidez de 0,14 g a 0,18 g de ácido láctico/mL; ser estável ao etanol 68%; possuir no mínimo 8,2% de extrato seco desengordurado para o leite integral, mínimo de 8,3% para o semidesnatado e 8,5% para o desnatado.

Ademais, também de acordo com a mesma legislação, são admitidos o uso de aditivos e coadjuvantes de elaboração, como monofosfato, difosfato ou trifosfato de sódio, desde que não exceda 0,1 g/100 mL. A Anvisa permite a adição de citrato de sódio ou citrato trissódico no leite cru como estabilizante, para evitar a formação de precipitados proteicos. Além disso, segundo a portaria N.º 370 de 4 de setembro de 1997, do MAPA, o citrato de sódio também passou a ser liberado.

Ainda, segundo a IN 60 da Anvisa, com relação ao padrão microbiológica, o leite longa vida não deve apresentar sinais de alterações que indiquem a presença de microrganismos capazes de proliferar em condições normais de armazenamento



e distribuição. Quando houver alteração, o resultado deve ser interpretado como “Insatisfatório com Qualidade Inaceitável”.

Para a garantia da oferta de um leite seguro ao consumidor final, principalmente em relação à sua qualidade higiênica, sanitária e tecnológica, é de extrema importância a prévia análise da qualidade de matéria-prima e, ainda, a inspeção e fiscalização do alimento em todas as etapas de sua cadeia produtiva, sendo realizada por profissionais competentes à atividade.

Assim, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, por meio do Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal (DIPOA/MAPA) tem trabalhado para oferecer à população brasileira e ao mercado externo, produtos de qualidade. As atividades executadas pelo Serviço de Inspeção de Produtos de Origem Animal (SIPOA) têm por objetivo o controle higiênico-sanitário dos produtos de origem animal, visando proteção à saúde dos consumidores pela oferta de produtos que atendam aos requisitos de inocuidade e qualidade.



Inspeção e tecnologia de queijos (Minas, Muçarela, Prato e Parmesão)

O queijo é um dos alimentos processados mais antigos registrados na história da humanidade, que surgiu com o objetivo de conservar os nutrientes do leite. Acredita-se que tenha sido originado na região entre os rios Tigre e Eufrates, no Iraque, há aproximadamente 8.000 anos, época na qual os animais começaram a ser domesticados. Os queijos contribuíram significativamente para o desenvolvimento das civilizações. Historicamente, este alimento permitiu a sobrevivência de populações em períodos de fome e forneceu nutrientes vitais à saúde, tornando-se, então, desejável na dieta humana diária.

No Brasil, a produção de queijos foi introduzida pelos imigrantes portugueses, no período colonial. Atualmente, o Brasil possui um sofisticado parque industrial na área de laticínios e mais da metade da produção de leite do País é transformado em derivados lácteos, como os queijos. Vale ressaltar que a qualidade microbiológica e físico-química deste derivado está intimamente relacionada com uma matéria-prima de qualidade, o leite cru.

De forma geral, o queijo é um produto obtido do leite integral, padronizado ou desnatado, coagulado por enzimas ou por acidificação e aquecimento/desidratação. A acidificação ocorre pela fermentação da lactose pelas bactérias lácticas e, a coagulação promove a formação do gel da coalhada, que retém proteína, gordura, lactose, água e bactérias lácticas. Assim, obtém-se uma massa de caseína, gordura láctea e outros componentes, que podem ser acrescentados de fermentos, corantes, sal, entre outras substâncias. Possuem uma tecnologia de fabricação bastante diversificada, com etapas variadas, podendo dar origem a diferentes tipos de queijo. A etapa de aquecimento ou desidratação ocorre para que seja retirado o soro para se obter a umidade desejada. Ademais, pode haver o processo de maturação, o qual altera o sabor, aroma e textura do queijo.

A produção brasileira desse importante alimento vem crescendo continuamente nos últimos anos, ocupando a 6ª posição entre os maiores produtores de queijos do mundo, principalmente na produção de muçarela, prato, requeijão, Minas frescal e parmesão.



Segundo o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Queijos (RTIQQ) presente na Portaria 146/1996 do MAPA entende-se por queijo o produto fresco ou maturado que se obtém por separação parcial do soro do leite ou leite reconstituído (integral, parcial ou totalmente desnatado), ou de soros lácteos, coagulados pela ação física do coalho, de enzimas específicas, de bactéria específica, de ácidos orgânicos, isolados ou combinados, todos de qualidade apta para uso alimentar, com ou sem agregação de substâncias alimentícias e/ou especiarias e/ou condimentos, aditivos especificamente indicados, substâncias aromatizantes e matérias corantes.

Além disso, segundo essa mesma portaria, pode ser classificado de acordo com a matéria gorda e com a umidade, podendo ser maturado ou não, mas de uso obrigatório da utilização do leite pasteurizado e/ou reconstituído integral, semidesnatado ou desnatado (com exceção do Queijo Minas Artesanal) e/ou soro lácteo. Nesse sentido, acrescenta-se, ainda, que cada queijo deve obedecer aos requisitos físicos, químicos e sensoriais próprios de cada variedade.

- **Queijo Minas**

Além de ser um dos queijos mais consumidos pelos brasileiros, o Queijo Minas também é sempre um dos mais indicados para uma alimentação saudável. Ele é rico em cálcio, proteínas, vitaminas A e dos complexos B e D.

Ele é obtido por coagulação enzimática do leite com coalho e/ou outras enzimas coagulantes apropriadas, complementada ou não com ação de bactérias lácticas específicas. É considerado um queijo fresco de massa crua, não maturada ou cozida, e de elevada umidade. Deve ser obrigatoriamente elaborado com leite pasteurizado, com exceção do Queijo Minas Artesanal (QMA), o qual é, tradicionalmente, elaborado a partir de leite cru, podendo ser maturado por um período inferior a 60 (sessenta) dias, desde que a redução do período de maturação não comprometa a qualidade e a inocuidade do produto (IN n° 30 de 07 de agosto de 2013, do MAPA). Sua produção está regulamentada na Portaria n° 1969 de março de 2020 do Instituto Mineiro Agropecuário (IMA).

A produção do queijo Minas deve começar com a pasteurização do leite (que pode ser rápida ou lenta), com o intuito de reduzir a carga microbiana e



desnaturar enzimas responsáveis pelo aparecimento de sabor e aromas estranhos. E, vale ressaltar que a chamada pasteurização lenta, a qual o leite é submetido entre 62 a 65°C durante 30 minutos é viável apenas para pequenos volumes de leite, sendo usados apenas em queijarias artesanais.

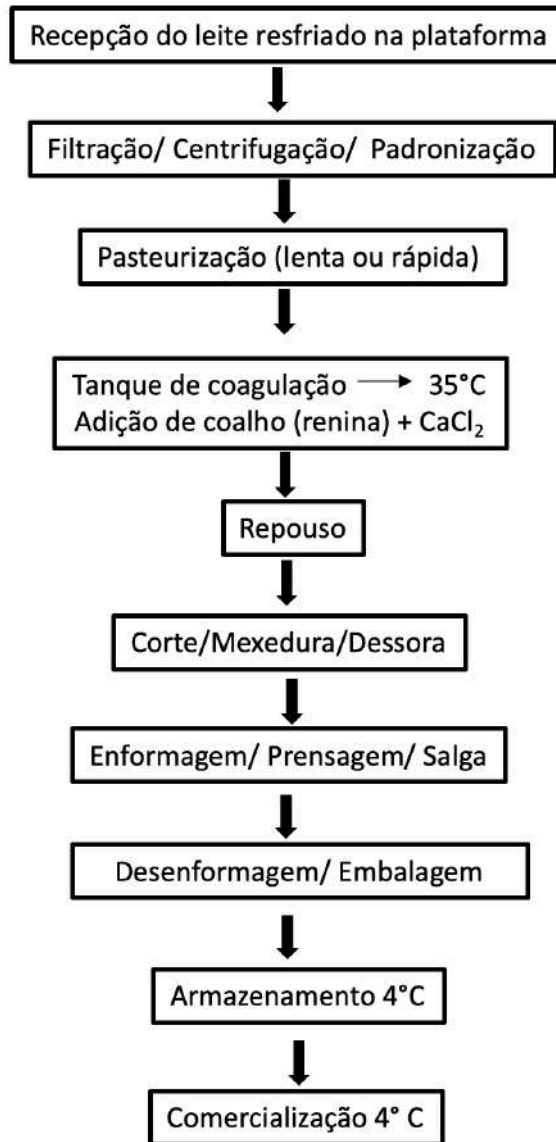
A pasteurização lenta, normalmente realizada em tanques de parede dupla, consiste no aquecimento indireto do leite entre 63°C e 65 °C por um tempo de 30 minutos, mantendo-se o leite sob agitação mecânica, lenta, em aparelhagem própria. Após isso, o leite deve ser imediatamente resfriado, pois a lentidão nessa fase pode favorecer a multiplicação de microrganismos deteriorantes e/ou patogênicos, isso porque essa pasteurização reduz a carga bacteriana em torno de 95%. Ademais, as alterações com relação à composição do leite são mínimas, sendo importante para o desenvolvimento da cultura láctea e uma coagulação eficiente.

Logo após a pasteurização, o leite deve ser resfriado a 35 °C, para que o coalho seja adicionado, na proporção de 1%, provendo, assim, a coagulação da caseína. Ademais, deve-se adicionar o cloreto de cálcio, para recuperar o cálcio que foi insolubilizado durante a pasteurização, melhorando a consistência do coágulo.

Após a coagulação, realiza-se o corte, utilizando-se a lira, e a mexedura do coágulo, a fim de gerar fragmentos menores para separar o soro. Depois do corte, a massa é colocada em formas e levemente prensada, para, então, ser realizada a salga. Após 24 horas de armazenamento em câmaras frias, a 4°C, o queijo será desenformado e embalado (embalagens plásticas transparentes) e armazenado a 4°C para a expedição. O fluxograma de produção do queijo minas pode ser visualizado abaixo (figura 12).



Figura 12. Fluxograma de produção de Queijo Minas



O queijo Minas pode ser dividido em Frescal, Padrão ou Meia cura, diferenciados pela umidade, percentual de gordura e pelo tempo de maturação.

O queijo Frescal é semi-gordo, possui muito alta umidade e sem maturação, devendo seguir os parâmetros físico-químicos previstos na Portaria MAPA n° 352, de 04 de setembro de 1997. O Padrão é considerado um queijo semi-gordo a gordo, de média umidade, maturado, de massa crua ou semi-cozida devendo seguir os parâmetros físico-químicos previstos na Instrução Normativa SDA n° 66, de julho de 2020. E, o queijo meia cura, é semi-gordo ou gordo, de média



umidade, maturado, de massa semi-cozida, devendo seguir os parâmetros físico-químicos previstos na Instrução Normativa SDA nº 74, de 21 julho de 2020.

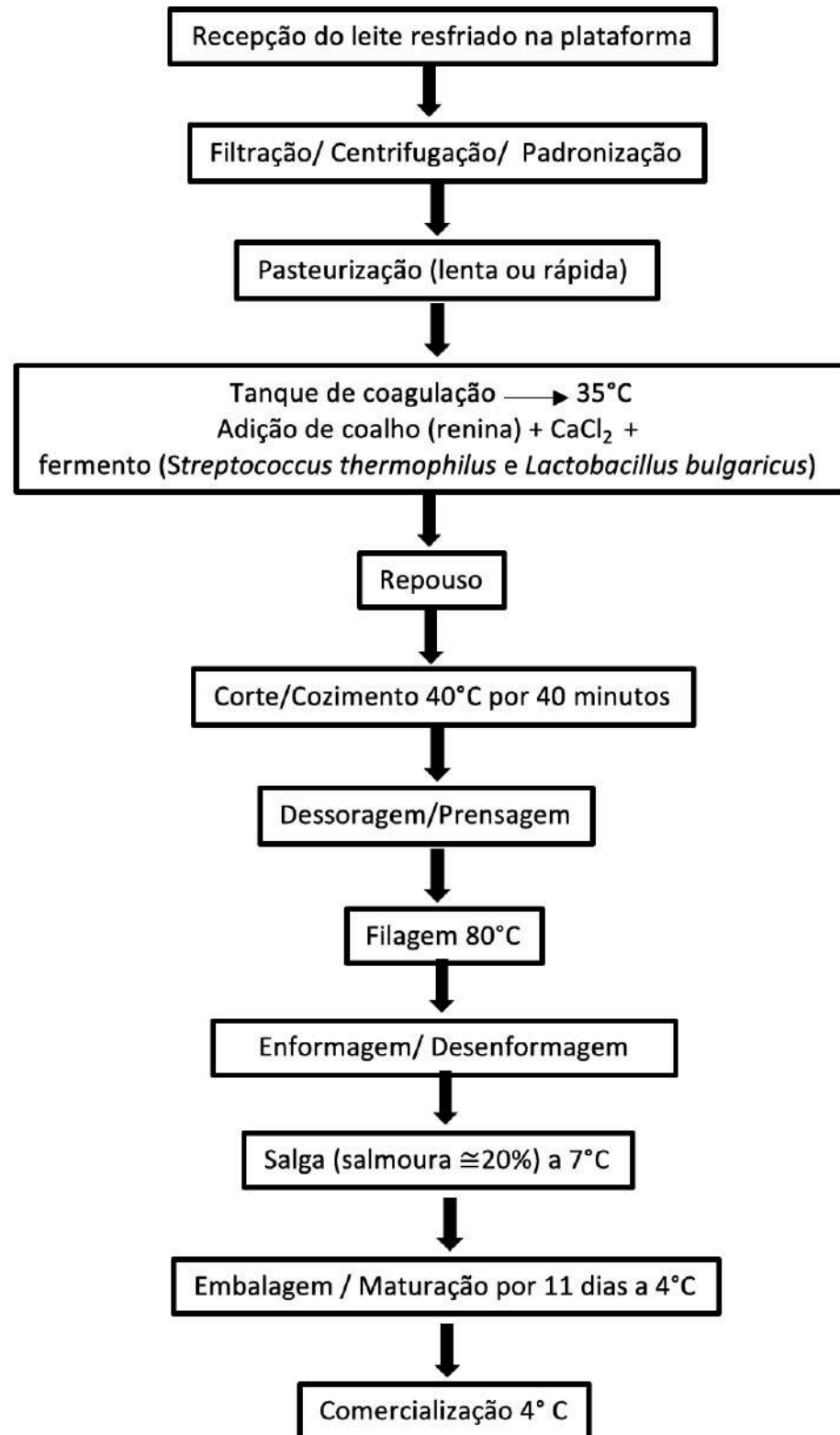
- **Muçarela**

O queijo de maior consumo no Brasil é a muçarela, por sua variada aplicação como ingrediente em diversos pratos, como massas, sanduíches, saladas, churrascos, pizzas, entre outros. Possui um sabor suave e levemente ácido, caracterizada pela filagem da massa, ou seja, esticamento e rejunção.

Para sua produção, o leite é pasteurizado e em seguida é enviado para um tanque maturador que, a 35°C, adiciona-se o coalho, o cloreto de cálcio e o fermento (*Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus bulgaricus*). Após homogeneizado, é deixado em repouso por 45 minutos. Posteriormente, realiza-se o corte da massa e efetua-se o cozimento a 40°C por 40 minutos. Depois disso, a massa é dessorada, prensada e submetida à filagem em 80°C por 2 a 3 minutos, dando o aspecto de textura alongada. Posteriormente, essa é enformada e, na sequência, desenformada, para que, então, seja salgada em salmoura de aproximadamente 20% a 7°C. Após isso, é embalada e mantida em câmaras para maturação durante 11 dias a 4°C até o momento da expedição (Figura 13).



Figura 13. Fluxograma de produção de Muçarela



A muçarela pode ser considerada um queijo de média, alta ou muito alta umidade, extragordo, gordo a semigordo, com umidade máxima de 60g/100 g e



matéria gorda ou extrato seco mínima de 35g/100g, segundo a Portaria MAPA nº 364, de setembro de 1997.

- **Prato**

O Queijo Prato é considerado leve, com sabor inconfundível, de textura suave e exclusiva, principalmente devido ao seu tempo de maturação (mínimo de 25 dias), sendo considerado ideal para lanches e mesa de frios.

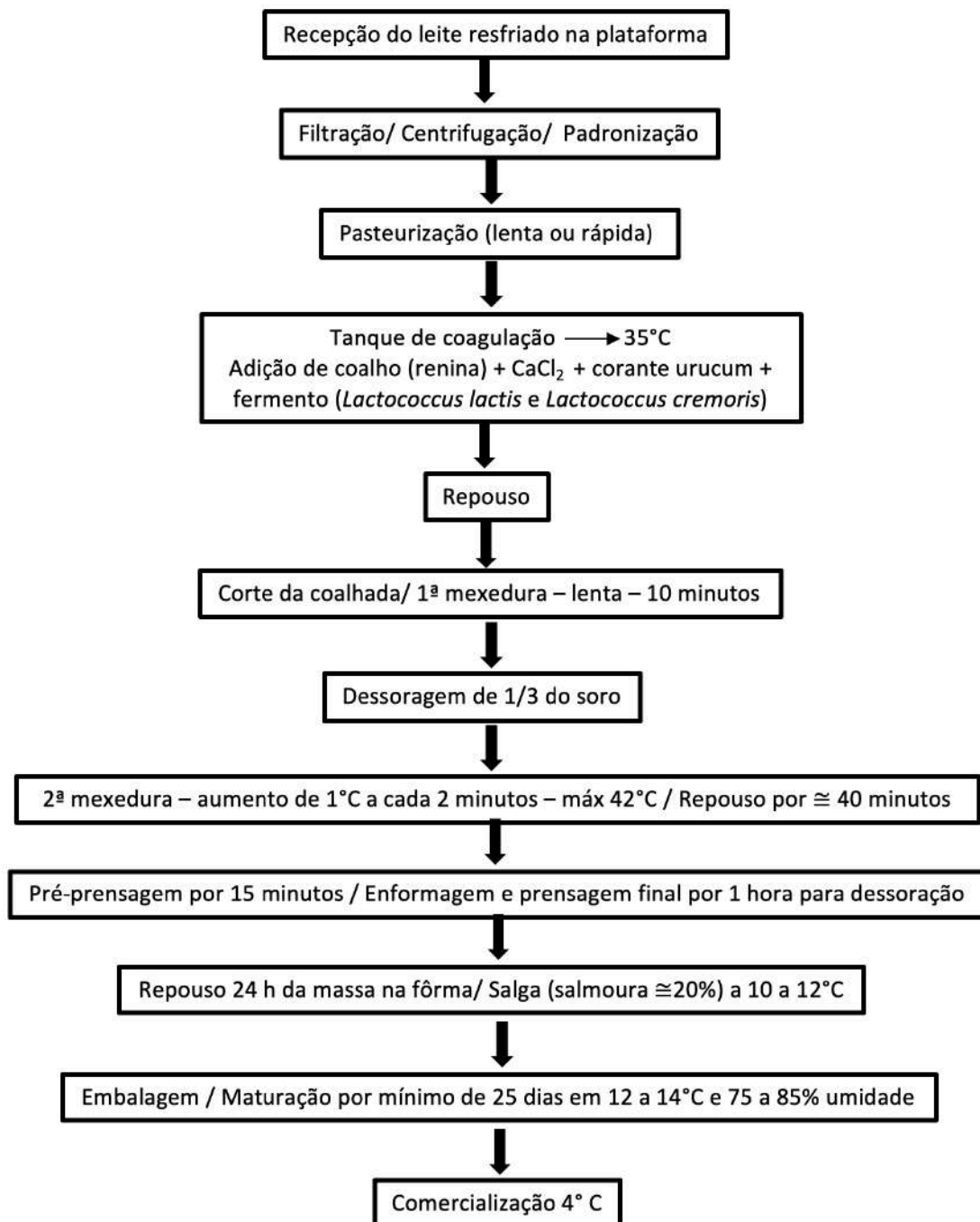
Para sua produção, o leite é pasteurizado e, em seguida, é enviado para um tanque maturador que, à 35°C, adiciona-se o coalho, o cloreto de cálcio, o fermento (*Lactococcus lactis* e *Lactococcus cremoris*) e o corante de urucum, deixando em repouso de 30 a 40 minutos.

Em seguida, corta-se a coalhada em cubos pequenos e inicia-se a primeira mexedura, de forma lenta, durante 10 minutos. Posteriormente, retira-se um terço (1/3) do soro e imediatamente, inicia-se a segunda mexedura, com um aquecimento lento, de modo que a temperatura se eleve 1°C a cada 2 minutos até atingir a temperatura final de 42°C. Mantém-se em repouso por cerca de 40 minutos e após isso, remove-se a massa para uma das extremidades do tanque realizando uma pré-prensagem por 15 minutos, com chapas metálicas, sem a eliminação completa do soro. Em seguida, enforma-se a massa e remove o restante do soro, fazendo outra prensagem por mais 1 hora. Decorrido esse tempo, retira-se a pressão e os queijos permanecem nas fôrmas até o dia seguinte.

Posteriormente, a salga dos queijos deve ser feita em uma solução de salmoura a 20%, na temperatura de 10 a 12°C, por tempo variável de acordo com o peso médio apresentado pelos queijos. E, após isso, esses são secados e mantidos em 12 a 14°C, com 75 a 85% de umidade para maturação. O fluxograma de produção de queijo Prato pode ser visualizado abaixo (Figura 14).



Figura 14. Fluxograma de produção de Queijo Prato



Vale ressaltar que, obrigatoriamente, o queijo Prato deve ser maturado por pelo menos 25 dias. E, segundo a Portaria MAPA n° 358, de setembro de 1997 é considerado gordo, de média umidade, seguindo os padrões físico-químicos estabelecidos para estes tipos de queijos.



- **Parmesão**

Derivado de origem italiana, o queijo parmesão é um dos queijos mais populares do Brasil. É classificado como um queijo de baixa umidade, semi-gordo, de massa pré-cozida e prensada, conforme descrito na Portaria nº 353, de setembro de 1997, do MAPA. Possui consistência dura e textura compacta, granulosa, com crosta firme, lisa e pode ser fabricado com leite pasteurizado e/ou reconstituído padronizado ou leite cru.

No Brasil, o queijo tipo parmesão é vendido mais comumente na forma ralada. Nessa apresentação, este acaba por ser um alimento bastante consumido pela população brasileira por ser um produto pronto para o consumo e de fácil obtenção.

O processo de produção se inicia com a pasteurização do leite (que pode ser rápida ou lenta). Em seguida, o leite deve ser resfriado a 35 °C, no tanque maturador, e adiciona-se o coalho, na proporção de 1%, cloreto de cálcio e o fermento (*Lactobacillus helveticus* ou *Streptococcus thermophilus* e *L. bulgaricus*).

Após a coagulação, ainda no tanque maturador, realiza-se o corte em pedaços bem pequenos, para que haja uma maior dessoragem. Agita-se lentamente por aproximadamente 20 minutos e inicia-se o aquecimento indireto. A primeira etapa é mais lenta e consiste em um aumento de 1°C a cada 2 a 3 min até 43 ou 44°C. Em seguida, em uma segunda etapa do aquecimento, mais rápida, ocorre o aumento de 1 °C por minuto até a temperatura de 50 °C a 53 °C, continuando a mexedura, que deve acontecer de 60 a 90 minutos, após o corte.

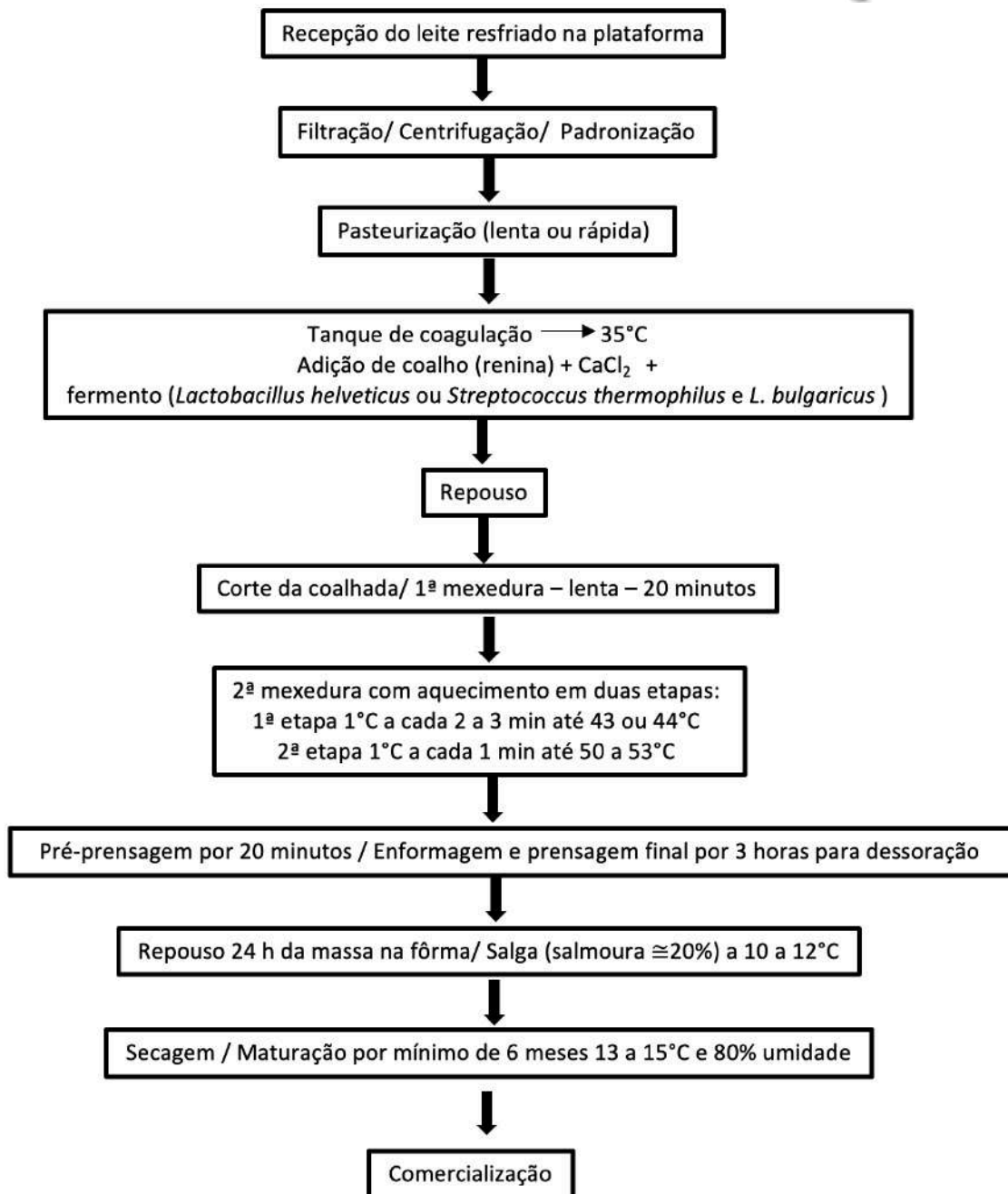
Logo depois, realiza-se a pré-prensagem da massa, por cerca de 20 minutos, para início da remoção do soro. Posteriormente, realiza-se a enformagem em fômas, as quais são prensadas por cerca de três horas. Depois disso, ficarão nas formas por 24 horas e, finalizado esse tempo, realiza-se a de salga na salmoura a 20%, com temperatura entre 10 a 12 °C. Após isso, os queijos devem ser secados por 24 a 48 horas em câmara fria, sendo em seguida levados à câmara de maturação, na temperatura de 13 a 15°C, com umidade relativa do ar em torno de 80%, onde deverão ser maturados por no mínimo 6 meses, para o desenvolvimento de suas características ideais.



A maturação deve ser feita com a viragem dos queijos a cada 3 dias nas primeiras semanas e a cada 7 dias durante o resto da cura; uso de álcool absoluto durante os primeiros 60 dias a cada 10 dias para prevenção de mofos; uso de óleo de dendê ou linhaça durante o restante do período de maturação, a cada dois meses para a formação da casca. Após a maturação, os queijos podem ser vendidos inteiros, fatiados ou ralados e embalados a vácuo.

O fluxograma de produção de queijo parmesão pode ser visualizado na figura 15, abaixo.

Figura 5. Fluxograma de produção de Queijo Parmesão



Como já citado, existem muitos tipos de queijos, preparados de maneiras diferentes, com sabores, aromas e texturas diferentes, como, por exemplo, o Brie, Camembert, coalho, Cottage, *Cream cheese*, Edam, Emmental, Gorgonzola, Gouda, Montanhês, Provolone, entre outros. Para todos, existem uma portaria do MAPA, regularizando sua produção, características físico-químicas e microbiológicas.

Com relação à qualidade microbiológica dos queijos, vale ressaltar que, sabendo-se da qualidade nutricional desses, são meios ideais para a multiplicação de diferentes microrganismos, patogênicos e deteriorantes, que podem ocasionar



diversos danos à qualidade do produto e à saúde do consumidor. Assim, seguindo a IN 60 do MAPA, de dezembro de 2019, a cada 5 amostras de queijo analisadas, nenhuma pode ter enterotoxinas estafilocócicas ou *Salmonella* spp. Ademais, de cada 5 amostras, apenas 2 podem ter contagens de 10^2 a 10^3 estafilococos coagulase positiva/g de queijo. Ainda, em queijos ralados, a cada 5 amostras, apenas 2 podem ter contagem de 10^2 a 10^3 de *Escherichia coli*/g e de 5×10^2 a 5×10^3 bolores e leveduras/g. Para queijos com umidade abaixo de 46%, a cada 5 amostras analisadas, 2 podem ter contagem de 10 a 10^2 *Escherichia coli*/g e, para queijos com umidade igual ou acima de 46%, apenas 1 amostra pode ter contagens de 10^2 a 10^3 *Escherichia coli*/g de queijo.

Os queijos desempenham papel importante na qualidade de vida da população, particularmente no que se refere à disponibilidade, acessibilidade, e qualidade nutricional, por isso, mesmo sendo um dos alimentos mais antigos, a produção brasileira e mundial vem crescendo continuamente nos últimos anos. Sendo assim, é essencial ressaltarmos o papel do médico veterinário, com rigorosas normas de segurança alimentar, com um acompanhamento desse produto do início de sua cadeia produtiva até o produto final, que estará na mesa do consumidor.



Inspeção e tecnologia de leites fermentados

A fermentação é um dos mais antigos métodos praticados por seres humanos para a transformação do leite em produtos com maior vida de prateleira. Não se sabe a origem exata do início da manufatura de leites fermentados, mas acredita-se que tenha sido há mais de 10.000 anos.

Entende-se por leites fermentados os produtos resultantes da fermentação do leite pasteurizado ou esterilizado, por fermentos lácteos próprios, os quais são obtidos por coagulação e sofrem diminuição do pH. Ademais, podem ou não ter a adição de outros produtos lácteos, até um máximo de 30% m/m.

Assim como os queijos, os leites fermentados são “*read to eat*”, gerando praticidade e conveniência. Dentre esses, destacam-se os iogurtes, leites fermentados ou cultivados, kefir, coalhada, entre outros. São alimentos ricos em proteínas e, como já dito, com altos valores terapêuticos e nutricionais. Um exemplo disso é que a fermentação láctica promove aumento de cerca de 50% nos teores de vitamina B6 e B12, aumento de vitamina C e ácido fólico no produto.

Também, com a fermentação da lactose, há uma redução do pH à medida que se aumenta a produção de ácido láctico. A formação de um ambiente ácido, juntamente com a produção substâncias antimicrobianas pelas bactérias lácticas (bacteriocinas), contribuem para a preservação e proteção do alimento frente a microrganismos contaminantes

Segundo a Instrução Normativa do MAPA nº46, de outubro de 2007, que regulamenta a identidade e qualidade de leites fermentados, os leites fermentados podem ser divididos em:

- Iogurte - cuja fermentação se realiza com cultivos protosimbióticos de *Streptococcus salivarius subsp. thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii subsp. Bulgaricus*, aos quais se podem acompanhar, de forma complementar, outras bactérias ácido-lácticas;
- Leite Fermentado ou Cultivado - cuja fermentação se realiza com um ou vários dos seguintes cultivos: *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Bifidobacterium sp*, *Streptococcus salivarius subsp thermophilus* e/ou outras bactérias ácido-lácticas;



- Leite Acidófilo – a fermentação se realiza exclusivamente com cultivos de *Lactobacillus acidophilus*;
- Kefir – a fermentação se realiza com cultivos ácido-lácticos elaborados com grãos de Kefir (constituídos por leveduras fermentadoras ou não de lactose), *Lactobacillus kefir*, espécies dos gêneros *Leuconostoc*, *Lactococcus* e *Acetobacter* com produção de ácido láctico, etanol e dióxido de carbono.;
- Kumys - cuja fermentação se realiza com cultivos de *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* e *Kluyveromyces marxianus*;
- Coalhada - cuja fermentação se realiza por cultivos individuais ou mistos de bactérias mesofílicas produtoras de ácido láctico.

Também, sobre a mesma normativa, esses produtos podem ser classificados de acordo com a matéria gorda (com creme, integrais, parcialmente desnatados, desnatados). Ademais, são ingredientes opcionais: leite concentrado, creme, manteiga, gordura anidra de leite ou *butter oil*, leite em pó, caseínatos alimentícios, proteínas lácteas, outros sólidos de origem láctea, soros lácteos, concentrados de soros lácteos, açúcares, amidos, substâncias aromatizantes e saborizadas.

Com relação à qualidade microbiológica desses produtos, de acordo com a Instrução Normativa nº 60 do MAPA, de dezembro de 2019, a cada 5 amostras analisadas do lote, deve-se ter ausência de *Salmonella* spp. em 25mL; para *Escherichia coli*, pode haver apenas duas amostras contaminadas com contagens entre 3 a 10 UFC/mL, e, para bolores e leveduras, pode-se haver apenas duas amostras com contagens entre 10^2 a 10^3 UFC/mL.

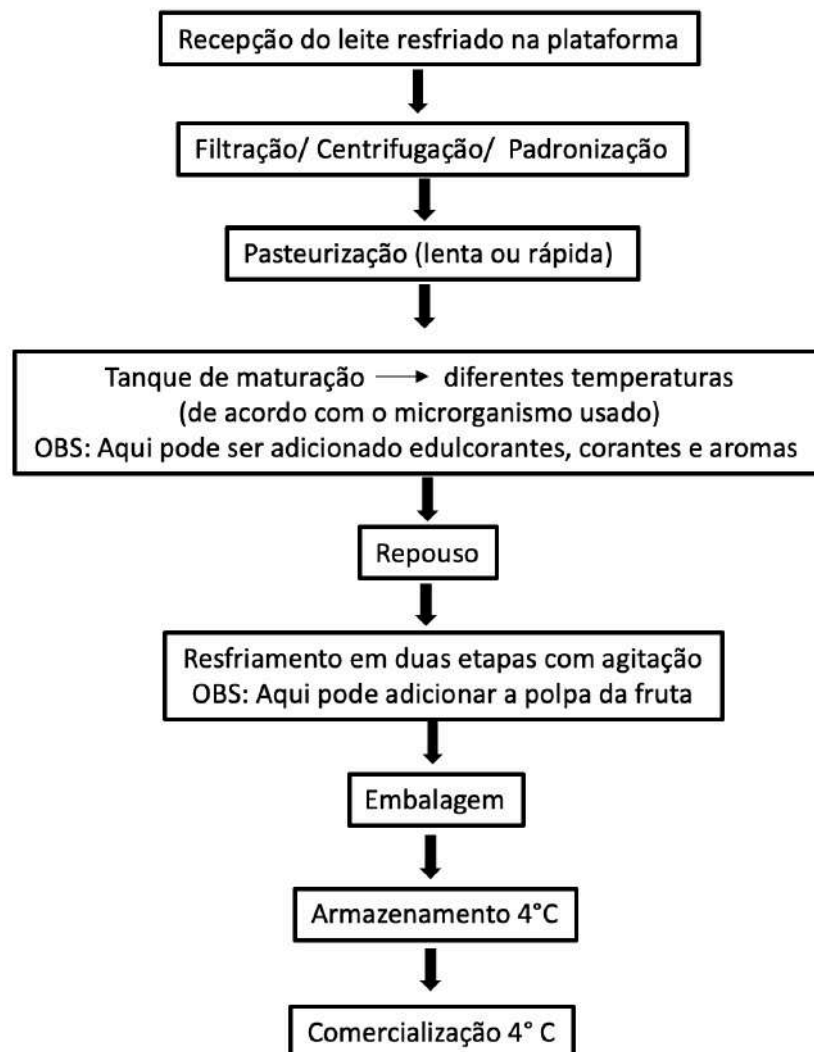
O processo de produção dos leites fermentados é basicamente igual, mudando os microrganismos e as temperaturas para multiplicação dos microrganismos. Então, inicialmente o leite é pasteurizado e, em seguida, é enviado para um tanque maturador, com a inoculação de microrganismos específicos (na proporção de 1:1 preferencialmente) em temperatura específica, de acordo com o microrganismo (normalmente entre 40 a 45°C), para que ocorra a fermentação. Em seguida, recomenda-se uma homogeneização e, posteriormente, mantém-se em repouso (o tempo pode variar de 8 a 18 horas). Nessa etapa, também podem ser



adicionados edulcorantes (para melhorar o sabor), corantes e aromas (vale lembrar que esses podem ser adicionados antes ou após a fermentação).

Após isso, o produto deve ser resfriado, para que se interrompa a multiplicação da cultura láctea, sempre homogeneizando. Essa temperatura de resfriamento também varia de acordo com o produto. Iogurtes, por exemplo, a temperatura vai para 24°C e, posteriormente, para 4°C, sendo que nesse intervalo adiciona-se, normalmente, a polpa de fruta (na proporção de 0,5 a 5%). Logo depois, então, o produto é envasado, refrigerado a 4°C e está pronto para comercialização (Figura 16).

Figura 16. Fluxograma de produção de Leites Fermentados





Vale ressaltar que como a adição de ingredientes opcionais ocorre após a pasteurização do leite, é importante que a qualidade microbiológica de cada um seja monitorada. Além disso, uma boa qualidade microbiológica do leite cru que será usado para a produção de leites fermentados é de extrema importância. Isso porque, durante a ordenha, dependendo da higiene, pode haver contaminação dessa matéria-prima, com algumas bactérias psicrófilas (temperatura ótima de multiplicação encontra-se entre 0 a 15°C), como as *Pseudomonas* spp., que são lipolíticas e proteolíticas, deteriorando o leite fermentado com a quebra da gordura e proteína. Ademais, pode-se haver contaminação por microrganismos formadores de esporos, como, por exemplo o *Bacillus cereus*, os quais podem resistir à pasteurização, se multiplicar em condições adequadas, além, de degradar o produto, podem produzir toxinas, representando um risco à saúde pública.

Atualmente, a população busca, além de produtos de ótima qualidade microbiológica, alimentos que sejam saudáveis. Assim, com essa crescente preocupação nas últimas décadas, impulsionou-se e motivou-se o desenvolvimento de alimentos com propriedades funcionais, que possuem em sua formulação compostos com potencial para promover a saúde, melhorando, assim, a qualidade e a expectativa de vida dos consumidores. Como exemplo disso, existem os leites fermentados probióticos.

A palavra “probiótico” deriva do grego e significa “para a vida”. E, segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), são microrganismos vivos que quando administrados em quantidades adequadas conferem benefícios à saúde do hospedeiro. Os principais e mais estudados microrganismos probióticos são as bactérias dos gêneros *Lactobacillus* spp. e *Bifidobacterium* spp. Possuem efeito benéfico à saúde, incluindo redução nas infecções gastrointestinais, atividade antimicrobiana, melhoria no metabolismo da lactose, redução do colesterol sérico, estimulação do sistema imune, melhoria na síndrome do intestino irritável, redução da obesidade e da dermatite atópica, propriedades antimutagênicas, anticarcinogênicas e antidiarreicas. Entretanto, vale salientar que os efeitos variam de acordo com a cepa, ou seja, nenhuma cepa é capaz de prover todos os benefícios relatados.



Um ponto que cabe a ser destacado é que iogurte e bebida láctea são diferentes. Enquanto o soro de leite é um ingrediente opcional no iogurte, na bebida láctea ele é obrigatório. Ademais, no iogurte não é permitido realizar tratamento térmico após a fermentação e pode-se adicionar até 30% de ingredientes opcionais. Diferentemente, na bebida láctea é permitido o tratamento térmico após a fermentação (pasteurização, UHT, esterilização) e é permitido adicionar até 49% de outros ingredientes.

Assim, mesmo sendo um alimento antigo, o potencial do mercado de leites fermentados é animador para a indústria brasileira, tanto pela qualidade nutricional e sensorial, quanto pelos benefícios que podem ser adicionados. Mas, como todo e qualquer alimento de origem animal, deve ser inspecionado, buscando, sempre, a qualidade e a garantia de um produto seguro à saúde pública.



Higiene na indústria laticinista

É muito difícil garantir a qualidade e a segurança de produtos de origem animal avaliando apenas o produto final, pois essas análises acontecem por amostragem e muitas vezes, problemas não são detectados. E, quando se constata, não informa como, onde e quando aconteceu.

Nesse contexto, é importante salientar que a segurança e a qualidade do produto final de leites de consumo e derivados começam antes da ordenha, ou seja, com nutrição adequada e a sanidade do animal. Ademais, o manejo na ordenha, principalmente com relação à higiene, é essencial para que se tenha uma matéria-prima de qualidade. Isso porque, a carga microbiana do leite de consumo e derivados é uma variável dependente da carga microbiana inicial e da taxa de multiplicação. Vale ressaltar que essa carga microbiana inicial pode ser definida como a concentração de microrganismos existentes no leite armazenado no tanque, imediatamente após o término da ordenha. Sendo assim, essa contaminação inicial pode vir pela própria glândula mamária (dependendo da saúde do úbere, quanto à mastite) ou pela falta de higiene na ordenha ou pela má qualidade da água utilizada no manejo. Essa contaminação, então, pode ocorrer por microrganismos deteriorantes, que causam diminuição da qualidade do produto, ou ainda, por microrganismos patogênicos, que colocam em risco a segurança do alimento.

Vale ressaltar que segurança diz respeito a fatores relacionados à saúde dos consumidores, ao risco em potencial e à saúde pública. Diferentemente, quando se fala em qualidade, ela está relacionada à integridade nutricional, a fim de preservar as características sensoriais, rendimento industrial e o tempo de prateleira.

Ainda, os procedimentos preventivos para a contaminação do leite devem ocorrer em todas as etapas. E isso não difere para o processamento, que ocorre na indústria laticinista. Portanto, assim como existem as boas práticas de manejo na ordenha, também é importante que haja boas práticas de fabricação (BPF) para prevenir problemas e garantir o atendimento dos padrões de qualidade.

Tanto para segurança, quanto para qualidade existem padrões de qualidade definidos pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, sendo específica de cada alimento, como, por exemplo a Portaria n° 354, de setembro de



1997, que regulamento o padrão técnico de identidade e qualidade de leite. Todos os regulamentos, comuns ao leite e seus derivados, encontram-se no site do MAPA, na aba de regulamentos técnicos de identidade e qualidade de produtos de origem animal, na parte de leite e derivados. Além disso, quando o produto já está no comércio, há padrões que visam a segurança, determinados pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa). Entretanto, como já comentado, para atender a esses padrões, deve-se haver atenção desde a ordenha, além, claro, do armazenamento, transporte, processamento, expedição e comércio.

Assim, as boas práticas de fabricação (BPF) abrangem o conjunto de atividades que devem ser adotadas pelas indústrias processadoras de alimentos, a fim de garantir o atendimento dos padrões de qualidade vigentes. No Brasil, existe o regulamento técnico sobre as condições higiênico-sanitárias e de boas práticas de fabricação para estabelecimentos elaboradores/industrializadores de alimentos, prescrito na Portaria 368, de setembro de 1997 do MAPA. Essa se aplica a qualquer estabelecimento que realize elaboração/industrialização, fracionamento, armazenamento e/ou transporte de alimentos destinados ao comércio nacional e internacional. Nesse contexto, integram ações de edificações, instalações, equipamentos, treinamento e higiene pessoal, manutenção e sanitização, transporte, distribuição e informação ao consumidor. Entretanto, este capítulo será focado nas práticas relacionadas à higiene na indústria laticinista.

Com relação às instalações, os estabelecimentos deverão estar situados, preferivelmente, em zonas isentas de odores indesejáveis, fumaça, poeira e outros contaminantes, e que não estejam expostas à inundações. A construção da indústria deve ser realizada de material que não transmita nenhuma substância indesejável ao alimento, construídas com material não absorvente (pelo menos até uma certa altura), que reduza a formação de mofo, de fácil limpeza e ter espaço suficiente para todas as operações a serem realizadas. Além disso, deverá impedir a entrada ou abrigo de insetos, roedores e/ou pragas e de contaminantes ambientais (poeira, vapor, entre outros), com um programa eficaz e contínuo (caso haja invasão, a erradicação deve ser realizada, com produtos que não causem risco à saúde).

Deve-se, também, separar (por dependência ou divisória), as operações susceptíveis de contaminação cruzada. A ventilação deve ser suficiente, protegida



da entrada de contaminantes e nunca deve fluir de uma zona suja para uma zona limpa. Ademais, lavabos e banheiros devem ser completamente isolados da área de manipulação de alimentos (sem acesso direto) e limpos constantemente.

Preconiza-se, também, que os insumos sejam depositados sobre estrados de madeira ou similares. Além disso, não se recomenda a utilização de materiais que dificultem a limpeza (exemplo, madeira), tanto para a instalação, quanto para os equipamentos e utensílios, os quais também não podem ter imperfeições para não comprometer a higiene dos alimentos. É imprescindível a utilização somente de água potável (quando houver a necessidade de uso de água não potável, para combate ao incêndio, por exemplo, as tubulações deverão ser separadas por cores). Ademais, deve-se haver um sistema eficiente de evacuação de efluentes e águas residuais.

Para a limpeza e desinfecção, todos os produtos utilizados devem ter uso autorizado pelos órgãos competentes e serem armazenados em locais adequados. Assim, toda a área de manipulação de alimentos, os equipamentos e utensílios devem ser limpos com frequência e desinfetados, sempre que as circunstâncias assim o exigam, cuidando para evitar a contaminação dos alimentos. Ademais, imediatamente após o término da jornada de trabalho (ou quando necessário) o chão, os condutos de escoamento de água, as estruturas de apoio e as paredes das áreas de manipulação de alimentos deverão ser limpos.

Cada estabelecimento deverá assegurar sua limpeza e desinfecção, não utilizando procedimentos de higiene com substâncias odorantes e/ou desodorizantes nas áreas de manipulação dos alimentos, com objetivo de evitar a contaminação e dissimulação dos odores. Além disso, é proibida a entrada de animais em qualquer etapa da industrialização.

No que diz respeito à higiene pessoal, a empresa deve instruir os funcionários, a fim de evitar contaminação dos alimentos. Além disso, deve haver utilização de uniforme, com calçado adequado e cabelos cobertos. Ademais, qualquer pessoa com suspeita de doença que possa ser transmissível por alimentos ou com ferimento deve recorrer à direção da empresa. Essa também deve realizar exames periódicos, principalmente nos funcionários em contato com o alimento.



No tocante à higiene na elaboração, deve haver um controle rígido com relação à qualidade da matéria-prima. Essa não pode conter ingrediente que contenha parasitas, microrganismos ou substâncias tóxicas, decompostas ou estranhas que não possam ser reduzidas a níveis aceitáveis, pelos procedimentos normais de classificação e/ou preparação ou elaboração. Assim, o controle inicial é realizado pelos técnicos de captação de leite nas propriedades rurais, os quais podem observar inúmeros fatores como higiene, armazenamento correto, presença de pragas e/ou outros animais no ambiente, entre outros, além, claro, da prova do alizarol.

Nas indústrias, o leite deverá ser inspecionado, colhendo-se amostras do tanque do caminhão, as quais devem ser analisadas conforme legislação, como, por exemplo, índice crioscópico, ausência de resíduos de antibióticos, identificação de substâncias fraudulentas, entre outras. Se estiver dentro dos conformes, então, poderão seguir para a linha de fabricação/elaboração.

O leite e/ou ingredientes armazenados nas dependências do estabelecimento deverão ser mantidos em condições que evitem a sua deterioração, protegidos contra a contaminação, havendo adequada rotatividade dos estoques de ingredientes.

Todas as operações do processo de produção, incluída a embalagem, deverão ser realizadas por pessoal capacitado e em condições que excluam toda a possibilidade de contaminação, deterioração ou proliferação de microrganismos patogênicos e causadores de putrefação.

Ademais, a embalagem deve conferir proteção apropriada contra a contaminação e não pode transmitir ao produto substâncias indesejáveis, sendo, sempre, inspecionadas antes do uso. Se necessário, devem ser limpas e/ou desinfetadas antes do envase.

As matérias-primas e os produtos acabados deverão ser armazenados e transportados em condições que impeçam a contaminação e/ou a proliferação de microrganismos e protejam contra a alteração do produto e danos aos recipientes ou embalagens. Para se certificar disso, a empresa deverá realizar uma inspeção periódica, fazendo análises microbiológicas e sensoriais, de tempo em tempo, em cada lote produzido. Além disso, os veículos de transporte devem estar com



temperatura e umidade adequadas, e a carga e descarga devem ser realizadas em lugares apropriados, com cuidado para evitar contaminação do ar e gases de combustão.

Vale ressaltar também a importância das análises do produto acabado pela indústria, mantendo, sempre, em condições adequadas, amostras de cada lote, testando sua vida útil e como contraprovas, caso haja problemas no comércio.

Outrossim, o responsável técnico deve utilizar métodos analíticos apropriados para a avaliação dos riscos de contaminação dos produtos nas diversas etapas de produção, através de um plano de autocontrole. Neste, deve ser planejada a investigação de cada item. Um exemplo disso é a investigação de *Salmonella* spp, planejando-se onde colher amostra, técnica para colheita e análise, registro do resultado, conduta, caso haja amostra positiva e quem as realizará.

Além disso, conforme Resolução DIPOA (Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal), do MAPA de maio de 2003, os procedimentos padrão de higiene operacional (PPHO) devem ser implantados nas indústrias laticinistas, a fim de reduzir e eliminar riscos associados com a contaminação, direta ou cruzada, do leite e seus produtos.

Recentemente, parte do programa de Boas Práticas de Fabricação, considerado pré-requisito para implantação do sistema APPCC (BRASIL, 1997), foi transformado em Procedimentos Padrões de Higiene Operacional (PPHO). Os PPHO são alguns itens da BPF que, por sua importância para o controle de perigos, foram acrescentados de procedimentos de monitorização, ação corretiva, registros e verificação, para realmente possibilitar um controle efetivo. Fazem parte do PPHO, segurança da água, condições de higiene das superfícies de contato com o alimento, prevenção contra a contaminação cruzada, higiene dos empregados, proteção contra contaminantes e adulterantes, saúde dos empregados, controle integrado de pragas e registros (monitora as ocorrências de anormalidades e ações corretivas).

Todas as condições de higiene operacional devem ser monitoradas através de análises laboratoriais e seus dados registrados, devendo-se adotar ações corretivas sempre que se observarem desvios, sendo que os eles deverão ser registrados.



Nesse sentido, os PPHO visam reduzir ou eliminar riscos associados com a contaminação de leite e de produtos lácteos. São procedimentos descritos, desenvolvidos, implantados e monitorizados, visando estabelecer a forma rotineira pela qual o estabelecimento industrial evitará contaminação direta ou cruzada e a adulteração do produto, preservando a sua qualidade e integridade, por meio da higiene antes, durante e depois das operações industriais.

Deverão constar, nos planos do programa, todos os procedimentos de limpeza e sanitização, compreendendo: conservação e manutenção sanitária de instalações, equipamentos e utensílios; frequência; especificação e controle das substâncias detergentes e sanitizantes utilizadas e de sua forma de uso; forma de monitorização e suas respectivas frequências; aplicações de ações corretivas para eventuais desvios, garantindo, inclusive os eventuais destinos para os produtos não conformes; elaboração e manutenção do plano de implementação do PPHO, dos formulários e registros, dos documentos de monitorização e das ações corretivas adotadas. Todos os documentos deverão ser datados e assinados.

Os PPHO e as BPF são considerados parte dos pré-requisitos do sistema APPCC, devendo fazer parte do sistema de gestão de segurança de alimentos, podendo ser implantadas previamente ou em conjunto com este, dependendo da necessidade e realidade de cada organização (ABNT, 2002). A legislação determina a obrigatoriedade da implantação gradativa em todas as indústrias de leite e derivados sob o Serviço de Inspeção Federal - SIF, do programa de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC). Além disso, a adesão aos PPHO e às BPF constitui medida efetiva de controle da contaminação e da multiplicação microbiana em alimentos.

Ainda, a indústria deve obedecer ao decreto nº 10.468/2020 do MAPA, que regulamenta a inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal (RIISPOA). Nesse decreto estão os requisitos sanitários para a industrialização, bem como as condições estruturais mínimas das dependências industriais. Ademais, apresenta todos os padrões de qualidade e identidade dos alimentos de origem animal, já comentados anteriormente, incluindo os procedimentos de inspeção e análises laboratoriais para cada tipo de matéria-prima. As embalagens, rótulos e os carimbos de inspeção também estão normatizados. Por fim, o RIISPOA aborda as



responsabilidades, medidas cautelares, infrações e penalidades, temas importantes que orientam os procedimentos e mecanismos de fiscalização.

Assim, a higiene na indústria laticinista é fundamental para o controle sanitário dos alimentos e para a segurança e a qualidade deles, evitando assim perdas econômicas (devido à deterioração e contaminação dos produtos por microrganismos), recall, recolhimentos, crises e problemas relacionados à saúde pública.



Implementação de APPCC em indústria de laticínios

Diante das mudanças mercadológicas ocorridas nos últimos tempos, foram sentidas transformações no comportamento dos consumidores, que se tornaram cada vez mais exigentes com a qualidade dos produtos que adquiriam. Isso se deve ao fato de uma maior diversidade de produtos estarem disponíveis, decorrentes da abertura dos mercados e também pela globalização de produtos.

Como já comentado, com a publicação da Portaria 368 do MAPA, de 1997, estabeleceram-se os princípios das BPF e dos PPHO, buscando assegurar não só a segurança como também a qualidade dos alimentos elaborados/industrializados, de forma que não ofereçam riscos à saúde do consumidor.

Através da portaria nº 46, do MAPA, de fevereiro de 1998, instituiu-se o Sistema de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle – APPCC (termo este oriundo do inglês HACCP - *Hazard Analysis and Critical Control Points*), recomendando a implantação gradativa deste sistema nas indústrias de produtos de origem animal, as quais passam a ser inspecionadas pelo Serviço de Inspeção Federal (SIF).

Observa-se, assim, um aumento na preocupação com relação à segurança alimentar por parte das entidades governamentais brasileiras, no que diz respeito ao risco de saúde pública e prejuízos econômicos, lembrando que as indústrias laticinistas vêm ganhando cada vez mais espaço no mercado e conseqüentemente no Produto Interno Bruto (PIB) brasileiro. Além disso, o Sistema APPCC incrementa a habilidade da indústria em ser internacionalmente competitiva em razão da certificação, ou seja, ser reconhecida por governos e entidades estrangeiras. Isso porque, ela passa a atender aos compromissos internacionais assumidos no âmbito da Organização Mundial de Comércio e conseqüentes disposições do Codex Alimentarius, assim como do MERCOSUL.

Os benefícios do Sistema APPCC são: conferir um caráter preventivo às operações do processo de industrialização; orientar para uma atenção seletiva nos pontos críticos de controle; sistematizar e documentar os pontos críticos; garantir a produção de alimentos seguros; oferecer oportunidade de incrementar a



produtividade e a competitividade. Esse sistema implica na elaboração de um programa de educação e treinamento nos princípios de APPCC, envolvendo todo o pessoal responsável, direta e indiretamente, pelo desenvolvimento, implantação e verificação (Auditoria Interna do Programa).

Assim, o plano APPCC é desenvolvido por meio de uma sequência lógica de sete etapas:

1. formação da equipe para desenvolvimento do plano;
2. identificação da empresa (incluindo estrutura hierárquica);
3. avaliação dos pré-requisitos para o sistema (em que a equipe de trabalho responsável pela elaboração do plano deverá realizar estudos, visando analisar a situação do estabelecimento e traçar a estratégia para alcançar os objetivos finais);
4. programa de capacitação técnica (nesse a empresa deverá garantir condições para que todas as pessoas sejam capacitadas, continuamente, facilitando a sua participação em treinamentos para a sua correta aplicação);
5. sequência lógica de aplicação dos princípios do APPCC;
6. encaminhamento da documentação para avaliação pelo DIPOA;
7. aprovação, implantação e validação do Plano APPCC por médicos veterinários pertencentes ao DIPOA.

Com relação à 3ª etapa, na avaliação dos pré-requisitos para o sistema APPCC, como já comentado, a equipe elaborará um plano, analisando a situação da indústria e traçando estratégias para alcançar os objetivos finais. Para isso, alguns aspectos devem ser analisados:

- Lay-out do estabelecimento – fazer um diagnóstico da estrutura física existente, sua adequabilidade aos processos dos produtos elaborados, identificando possíveis ocorrências de contaminações cruzadas. Com isso, devem-se analisar algumas infraestruturas como a usada para descarga das matérias-primas (evitando grandes tempos de espera); fase de preparação de matérias-primas (verificar temperatura, tempo de espera nas fases tecnológicas de produção e/ou nos equipamentos); localização dos setores de estocagem de embalagens, ingredientes e aditivos (atentar para alterações sofridas em decorrência de estocagem inadequada); verificar o risco de contaminação cruzada em matérias-primas e



ingredientes, além da temperatura e tempo de espera, no setor de elaboração; no setor de envase, deve-se atentar o tempo e temperatura, além do tratamento das embalagens antes do uso; estocagem do produto final, verificando temperatura e possibilidade de contaminação cruzada; e a expedição, que deve ser o mais rápido possível, para que o produto não sofra nenhum tipo de alteração;

- Manutenção das instalações, considerando a eficiência dos procedimentos de limpeza e sanificação;
- Equipamentos devem ser de fácil montagem e desmontagem para limpeza e inspeção visual, sem possibilidade de transferência de odores aos alimentos;
- Qualidade da água de abastecimento e capacidade de estocagem;
- Saúde dos operários, hábitos pessoais e higiênicos dos funcionários;
- Controle de insetos e roedores;
- Frequência e produtos usados na limpeza e sanitização;
- Aferição periódica dos instrumentos de controle de temperatura, peso, entre outros;
- Conhecimento da microbiota na matéria-prima e diferentes ingredientes;
- Formas para o recolhimento correto do produto final no mercado, caso haja alguma inconformidade;
- Política e procedimentos para resolução das reclamações dos consumidores e/ou importadores sobre seus produtos.

Já na 5ª etapa, na sequência lógica de aplicação dos princípios do APPCC, são necessários 12 passos para a implantação da APPCC. Os passos de 6 a 12 referem-se aos sete princípios básicos do plano.

- 1º Passo - Reunir a Equipe APPCC, formada nos moldes apresentados na 1ª etapa, após capacitação técnica, para definir todos os demais passos para a implantação do plano.
- 2º Passo - Descrever o produto;
- 3º Passo - Identificar o uso pretendido e consumidor do produto;
- 4º Passo - Construir o diagrama operacional, o qual deverá conter todas as etapas de produção do produto, de forma sequencial, clara e simples;



- 5° Passo - Verificar, na prática, a adequação do diagrama operacional;
- 6° Passo - Listar e identificar os perigos, analisar os riscos e considerar as medidas preventivas de controle (Princípio 1); Nesse passo, deve-se realizar a listagem e identificação dos perigos tanto para a saúde pública (microrganismos patogênicos, matérias estranhas), quanto à perda da qualidade do produto (deterioração, rancificação, entre outros) e integridade econômica (adição de água, soro, entre outros) que podem ocorrer em toda cadeia produtiva (desde a obtenção da matéria-prima até o produto final), além das medidas preventivas de controle;
 - 7° Passo - Identificar os PCCs (com auxílio de formulários) e aplicar a árvore decisória (Princípio 2);
 - 8° Passo - Estabelecer os limites críticos para cada PCC (Princípio 3). Esses limites, que são baseados em regulamentos, legislações e/ou dados de pesquisa oficialmente reconhecidos, separam o produto de aceitável e inaceitável com relação a alguns fatores como pH, umidade, atividade de água, acidez titulável, cloro residual livre, viscosidade, textura, aroma, entre outros;
 - 9° Passo - Estabelecer o sistema de monitorização para cada PCC (Princípio 4), a fim de detectar o desvio da etapa em tempo suficiente para que as medidas corretivas possam ser adotadas. Essas monitorizações podem ser feitas por meio de observações, análises laboratoriais ou utilização de instrumentos de medida;
 - 10° Passo - Estabelecer as ações corretivas (Princípio 5), quando se constatar um desvio nos limites críticos estabelecidos;
 - 11° Passo - Estabelecer os procedimentos de verificação (Princípio 6), visando determinar se os princípios do Sistema APPCC estão sendo cumpridos no plano e/ou se o plano necessita de modificação e reavaliação, bem como comprovar o funcionamento do Sistema APPCC e o atendimento da legislação vigente nos aspectos de formulação, padrões físico-químicos e microbiológicos. Essa verificação pode ser realizada por pessoas da própria empresa ou por auditores externos;
 - 12° Passo - Providenciar a documentação e estabelecer os procedimentos de registro (Princípio 7) de todos os dados e informações obtidos durante os procedimentos de vigilância, de verificação, resultados laboratoriais, etc. Estes registros devem estar em formulários e, se possível, resumidos em forma de



gráficos ou tabelas. Deve-se registrar, também, os desvios, as ações corretivas e as causas dos desvios.

Um exemplo da implementação do sistema APPCC está visualizado nos quadros 1 e 2, descritos no artigo “Implantação do sistema APPCC na produção de queijo tipo muçarela” (Zaniolo J. A., enciclopédia biosfera, Centro Científico Conhecer - Goiânia, v.11 n.22; p.1441, 2015). Nele, a autora determinou os perigos e pontos críticos de controle no Quadro 1, mostrando que foram encontrados quatro PCCs, sendo esses nas etapas de recepção do leite, pasteurização, adição dos ingredientes e salmoura. Dos pontos estabelecidos, três se identificam como perigo biológico e apenas um como perigo químico. Ademais, todos os PCCs foram acompanhados diariamente pelos responsáveis da monitorização do sistema APPCC na empresa, fazendo uso do mapa descritivo, apresentado no Quadro 2, que possui as informações necessárias para correções de eventuais desvios dos limites críticos no processo, e a forma adequada de monitoramento e verificação de cada etapa que possui um PCC.



QUADRO 1: Determinação de perigos e pontos críticos de controle do queijo tipo muçarela.

Etapas do Processo	Identificação do perigo	Medidas de Controle	PCC
Recepção do leite	Antibiótico (Q)	Realização de testes para verificação da presença de antibiótico	Sim
	Micro-organismo patogênico (B)	Pasteurização	Não
Resfriamento/Estocagem	Multiplicação de micro-organismos patogênicos (B)	Pasteurização	Não
	Toxinas (Q)	Controle de temperatura	Não
Pasteurização	Sobrevivência de micro-organismos patogênicos (B)	Controle de tempo e temperatura	Sim
Adição dos ingredientes	Contaminação de micro-organismos patogênicos (B)	Programa prévio de controle de matéria-prima	Sim
Coagulação	Não se identifica	*NA	NA
Aquecimento com agitação, Dessoragem, filagem	Não se identifica	NA	NA
Salmoura	Contaminação de micro-organismos patogênicos (B)	Análise da salmoura	Sim
Maturação e embalagem	Não se identifica	NA	NA

*NA: não se aplica.



QUADRO 2: Mapa descritivo dos pontos críticos de controle do processamento de queijo tipo muçarela.

PCC	Perigo	Ponto de Controle	Limite Crítico	Monitoramento	Ação Corretiva	Verificação
Recepção do leite	Resíduo de antibiótico	Teste de detecção de resíduos	Ausência	Teste de detecção de antibiótico em todos os caminhões	Descarte adequado do leite e comunicação aos fornecedores	Verificação da técnica e da validade dos kits
Pasteurização	Sobrevivência de micro-organismos patogênicos	Binômio: tempo e temperatura	72 a 75°C por 15 a 10 segundos	Inspeção do marcador de temperatura e tempo de retenção do leite	Ajuste de tempo e temperatura	Aferição de equipamentos e instrumentos; pesquisa de peroxidase e fosfatase
Adição de ingredientes	Presença de micro-organismos patogênicos	Programa de controle de matéria-prima	Ausência	Fichas técnicas apresentando aspectos microbiológicos	Trocar o lote e/ou fabricante	Supervisão; auditoria; fichas de controle
Salmoura	Presença de micro-organismos patogênicos	Controle de acidez e pH; controle microbiológico	pH entre 5,0 e 5,4; acidez Dornic entre 15 e 30°D; mínimo 18°Bé	Análise de pH, acidez e teor de sal; controle de qualidade da água	Refazer a etapa; correção da acidez	Auditoria; aferição de equipamentos; aferição de curva de equilíbrio; programa de coleta de amostras para análise

É importante salientar que cada indústria deve aplicar o sistema APPCC de acordo com sua produção. E, para isso, algumas etapas são importantes para aplicar o método e essas serão descritas abaixo.

1. Estabelecer o coordenador do sistema APPCC, um responsável para gerenciar o processo do início ao fim, de preferência um profissional excelente em comunicação e liderança.

2. Realizar uma análise de riscos – estabelecer uma lista de possíveis problemas que possam afetar a saúde do consumidor ou a qualidade do produto, ou seja, os fatores que podem influenciar diretamente o produto, trazendo perigos. Exemplos: transporte da matéria-prima, resfriamento adequado, grau de manipulação e contato de produtos, adequação da preparação e equipamento de manutenção à disposição, armazenamento, método de preparação.

3. Determinar qual a probabilidade daquele risco acontecer e seu impacto, ou seja, determinar os Pontos Críticos de Controle (PCC). Para ajudar, utilizar algumas perguntas como: Nesta etapa, o produto pode ser contaminado e/ou pode haver uma potencialização da contaminação? Se sim, quais ações corretivas você poderia



tomar para prevenir esse risco? Esse risco pode ser prevenido, eliminado ou reduzido pelas medidas tomadas no final do processo de preparação? Como monitorar esse PCC, há uma forma de medi-lo? Se aquela etapa será parte do seu PCC, é importante estabelecer limites críticos (esse limite deve ser monitorado por medida ou observação, com base científica ou regulamentar, como, por exemplo, temperatura, tempo, pH, atividade da água ou cloro). Em seguida, estabelecer os procedimentos de monitoramento para que, quando necessário (quando um valor extrapole o limite crítico), sejam feitas ações corretivas, as quais devem ser bem definidas (como, por exemplo, a ação a ser realizada e quem as executará).

4. Registros de dados, do cumprimento das normas estabelecidas, como, por exemplo, tempo / temperatura, listas de verificação, formulários, fluxogramas, os registros de treinamento dos funcionários, etc.

São inúmeras as vantagens da implantação do sistema APPCC. Quando bem implementada, a gestão de segurança de alimentos evita uma série de problemas, como contaminação, redução de surtos, além da oferta ao cliente de produtos com alto valor agregado. Além disso, há o atendimento dos aspectos legais (evitando-se multas e problemas com os órgãos fiscalizadores); produção de alimentos seguros (melhoria do controle e monitoramento da produção dos alimentos); redução de perdas (de matérias-primas, embalagens e produtos, o que possibilita a redução de custos); possibilidade de conquistar certificações (como exemplo a ISO 22000); aumento da competitividade da empresa (possibilidade de crescimento e abertura para comércio internacional); atendimento das demandas dos clientes (gera confiança e garante a satisfação do consumidor); assegura que os produtos apresentem padrões uniformes de identidade e qualidade.

Como visto, a implementação do programa APPCC nas indústrias de alimentos é muito importante, já que o sistema atua de forma preventiva (estabelecendo medidas antes que o problema ocorra) e de forma corretiva (possibilitando executar a ação no ato do problema).

Percebe-se, então, que a elaboração do APPCC para indústrias laticinistas se faz necessária, uma vez que, durante o processo de produção de leite derivados lácteos, o produto fica susceptível a diferentes contaminações biológicas, químicas ou físicas, em qualquer estágio de sua produção, principalmente em



produtos com grande manipulação (na produção de queijos, por exemplo) e aqueles que fazem uso de ingredientes adicionais (como ocorre nos iogurtes). Assim, com a implementação do sistema, há uma maior prevenção e imediata implementação de ações corretivas necessárias para a garantia de alimentos seguros (do inglês *Food safety*), no âmbito da saúde coletiva e de qualidade dos produtos.



Análises eletrônicas de leite cru

A demanda nacional por grandes volumes de leite de boa qualidade tem tornado a produção de leite uma atividade bastante competitiva. Assim, torna-se necessário conhecer e quantificar certos parâmetros, os quais, mesmo não tendo caráter preventivo, visam diagnosticar os pontos que devem ser corrigidos, de modo a gerar ganhos efetivos nessa importante atividade econômica, além, claro, da produção de alimentos seguros.

As análises dos teores dos componentes do leite são importantes para dar suporte à identificação de problemas nutricionais e físico-químicos, revelando informações sobre sua eficiência e saúde do animal e do úbere, além da detecção de possíveis fraudes. A contagem de células somáticas (CCS), por exemplo, é um excelente parâmetro do estado sanitário do úbere, além de indicar possíveis reduções na produção de leite e alterações na sua composição físico-química (isso se deve porque na resposta inflamatória causada durante a mastite, observa-se aumento de proteína e gordura e redução da lactose e sólidos totais) com consequente comprometimento do rendimento industrial. Avalia-se, também, a qualidade microbiológica, através da contagem padrão em placas (CPP). Nessa, a população microbiana do leite é contada ou estimada e usada como parâmetro para se avaliar principalmente os cuidados higiênicos relacionados às etapas de obtenção, transporte e armazenamento do leite cru. Ademais, resíduos de produtos de uso veterinário podem provocar danos à saúde humana, perdas na produção industrial e problemas tecnológicos nos produtos lácteos derivados, sendo um ponto importante, então, a ser analisado.

Sabendo da importância de quantificar certos parâmetros, a normativa 77, do MAPA, de novembro de 2018, estabelece, para o leite cru refrigerado, que algumas análises devem ser feitas com frequência mínima de uma amostra mensal, em laboratórios credenciados na Rede Brasileira de Laboratórios de Controle da Qualidade do Leite (RBQL). São elas avaliação dos parâmetros teor de gordura; teor de proteína total; teor de lactose anidra; teor de sólidos não gordurosos; teor de sólidos totais; contagem de células somáticas; contagem padrão em placas; resíduos de produtos de uso veterinário. Ademais, o Ministério da Agricultura,



Pecuária e Abastecimento pode, também, colher amostras de leite cru, desde a propriedade rural até o estabelecimento processador, para realização de análises fiscais pontuais.

A normativa 76 de novembro de 2018, também do MAPA, estabelece que o leite cru refrigerado deve conter os seguintes parâmetros sensoriais: no mínimo 3,0% de gordura, 2,9% de proteína, 4,3% de lactose anidra, e 8,4 % de sólidos não gordurosos e 11,4% de sólidos totais. Em relação à contagem padrão em placas (CPP), o leite cru refrigerado de tanque individual ou de uso comunitário deve ser de no máximo 300.000 UFC/mL e de contagem de células somáticas (CCS) de no máximo 500.000 CS/mL. E, deve apresentar limite máximo para CPP de até 900.000 UFC/mL antes do seu processamento no estabelecimento beneficiador. Ademais, não deve apresentar resíduos de produtos de uso veterinário e contaminantes acima dos limites máximos previstos em normas complementares. Esses limites máximos encontram-se na instrução normativa nº 5, de abril de 2019, do MAPA.

Existem vários métodos disponíveis para a análise dos diferentes parâmetros estabelecidos em leite cru. As técnicas manuais, como já comentado em outro capítulo, são as mais comuns, mas a grande desvantagem é o tempo necessário para a obtenção de resultados, além das falhas na execução de técnicas. Visando a redução desses problemas, foram desenvolvidos equipamentos versáteis, associados com modernos sistemas computadorizados, os quais realizam análises eletrônicas. Essas análises facilitam a interpretação de dados e, atualmente, são utilizadas pela Rede Brasileira de Qualidade de Leite (RBQL), como, por exemplo, a espectrometria de absorção no infravermelho e a citometria de fluxo.

Assim, os teores de sólidos totais, de sólidos não gordurosos, de lactose anidra e proteína são baseados no método espectrometria de absorção do infravermelho (ISO 9622), enquanto que a CCS é realizada pelo método citométrico em fluxo (ISO 13366-2) e, a CPP, pelo método citométrico em fluxo com conversão para a contagem padrão em placas (ancorada ao método de referência ISO 4833-1).

A espectrometria de absorção do infravermelho é prática e possibilita analisar um grande número de amostras em curto tempo. O princípio da análise se baseia na capacidade de absorção de radiação, em diferentes comprimentos de ondas, dos componentes do leite: 5,73 μ m para a gordura, 6,46 μ m para a proteína e



9,53 μ m para a lactose. A quantidade de sólidos totais pode ser determinada pelo somatório dos componentes gordura, proteína e lactose, acrescidos de uma constante de minerais ou pela absorção de radiação em um comprimento de onda de 4,3 μ m das moléculas de água. Nesse, a amostra de leite é aquecida a 40° C, agitada, aspirada para o interior do equipamento, onde recebe a irradiação pelo feixe de luz infravermelha. A diferença de energia absorvida entre a amostra a ser analisada e a amostra de referência é captada por um detector de infravermelho e é quantificada, sendo transformada em teores dos componentes, de acordo com a curva de calibração.

Já a citometria de fluxo consiste na medição de características celulares, quando essas se encontram suspensas em meio fluido. Além da facilidade e rapidez, esta técnica, combinada com diferentes corantes fluorescentes e substratos fluorogênicos, os quais possibilitam a quantificação e a diferenciação de microrganismos viáveis, injuriados e inviáveis.

Para a CCS, no aparelho, ocorre o aquecimento da amostra a 40°C. Posteriormente, uma alíquota dessa é aspirada para dentro do equipamento onde é misturada ao corante fluorescente brometo de etídio, com a finalidade de corar o DNA das células. A seguir, 50 μ L da amostra são conduzidos por um fluido carreador para o citômetro de fluxo, onde recebem a incidência de raio *laser*. Em função da incidência do raio *laser* nas células somáticas coradas com o brometo de etídio ocorre emissão de luz que, após passar por uma série de filtros ópticos e lentes focalizadas em comprimentos de onda apropriados, é captada como pulso elétrico. Esse pulso é ampliado, filtrado e convertido em contagem de células somáticas.

Para a CPP, no equipamento, uma alíquota da amostra é aspirada para uma das cavidades de um carrossel circular em rotação, onde é aquecida a 50° C. Durante a rotação do carrossel, a alíquota da amostra entra em contato com uma solução de incubação constituída por reagentes hidrolisantes tamponados, enzimas proteolíticas e marcador fluorescente para lisar as células somáticas, solubilizar os glóbulos de gordura e as proteínas, tornar a parede bacteriana permeável e corar o DNA. O marcador fluorescente, à base de brometo de etídio, se liga rápida e seletivamente na cadeia dupla do ácido nucléico bacteriano. Durante a incubação, a mistura é sonicada por meio de duas sondas ultra-sônicas, visando à quebra de



partículas interferentes, o rompimento de aglomerados bacterianos, melhorando a detecção de bactérias individuais e a redução da fluorescência de fundo. A seguir, parte da mistura é transferida para o citômetro de fluxo, onde as bactérias são alinhadas em um tubo capilar e expostas a um raio *laser*, com emissão de fluorescência do DNA corado com brometo de etídio. A fluorescência emitida é coletada por receptores ópticos, filtrada e captada por um foto-multiplicador. Os pulsos são, então, transformados em contagem individual de bactérias e posteriormente, baseada em uma curva de calibração previamente elaborada, os resultados são transformados em UFC/mL.

Ainda, utiliza-se a técnica de cromatografia líquida aliada a técnicas de detecção de alta sensibilidade e especificidade, como a espectrometria de massas, para a pesquisa, verificação e fiscalização de resíduos de produtos veterinários em leite. E, a pesquisa de cada resíduo possui uma metodologia específica.

Vale ressaltar que existem alguns fatores que interferem na avaliação da qualidade do leite por métodos eletrônicos, como a temperatura e o tempo de conservação das amostras. Existem diferentes estudos relatando o binômio tempo e temperatura não afetando resultados da contagem bacteriana, como, por exemplo, a manutenção da amostra entre 0 e 4°C por até 7 dias ou 7°C por 7, ambas adicionadas de conservante. Além disso, o uso errôneo de conservantes, como o bronopol ou azidiol, os quais são utilizados quando a distância entre as coletas e os laboratórios para análises são grandes, pode interferir nos resultados, principalmente em relação à CCS e CPP.

Diante desse contexto, um outro aspecto refere-se aos resultados de média geográfica fora do padrão estabelecido por três meses consecutivos. Quando isso acontecer, o laticínio deve interromper a coleta do leite na propriedade. E, para o restabelecimento da coleta, deve ser identificada a causa do desvio, adotadas as ações corretivas e, posteriormente, deverá ser apresentado um resultado de análise de CPP dentro do padrão, emitido por laboratório da RBQL.

Dado o exposto, muito mais do que exigência, as análises do leite visam compatibilizar a qualidade do leite produzidos no Brasil com os padrões estabelecidos mundialmente. Para isso, é importante o treinamento e capacitação de mão-de-obra, desde a coleta até o produto final, além da assistência técnica do



médico veterinário, para ajudar o produtor e/ou a indústria na tomada de decisões identificação dos pontos que podem ser melhorados dentro da realidade de cada rebanho ou empresa. E, para estimular o produtor e a indústria, existe, atualmente, o sistema de pagamento diferenciado, pois sem uma perspectiva de aumento de lucratividade, o avanço da qualidade é muito limitado. Com isso, essa busca constante na melhoria da qualidade do leite beneficia o animal, o produtor, a indústria, o meio ambiente e o consumidor. E, a sobrevivência de todos os participantes da cadeia produtiva do leite depende de produção com a melhor qualidade possível.



Resíduos de antimicrobianos em leite

A introdução de agentes antimicrobianos no uso terapêutico foi revolucionária no combate às doenças causadas por bactérias, no meio do século passado. E, na alimentação animal, nos anos de 1950, contribuiu para o aumento considerável da produção animal, aliado ao melhoramento genético.

Atualmente, o Brasil é o terceiro maior usuário de antibióticos na produção animal, atrás de China e Estados Unidos. Até 2030, acredita-se que haverá um aumento do uso em cerca de 50%, chegando próximo de 9 milhões de toneladas/ano. Na Comunidade Europeia, apenas o uso terapêutico de antibióticos é liberado, mesmo assim, com enormes restrições. E, é proibido o uso com a finalidade de promoção de crescimento. No Brasil, a portaria N° 171, do MAPA, de dezembro de 2018, informou sobre a intensão de proibição de uso de antimicrobianos com a finalidade de aditivos melhoradores de desempenho de alimentos em animais de produção. E, somente na Instrução Normativa SDA nº 1 de janeiro de 2020 ocorreu a proibição.

Naturais ou sintéticos, os antibióticos atuam no metabolismo bacteriano de maneiras distintas, interferindo na síntese de proteínas, ácidos nucleicos ou ainda na estrutura da membrana ou parede celular. Entretanto, com o uso abusivo e/ou inadequado dessas drogas, algumas bactérias podem sofrer alterações genéticas que as deixam resistentes ao produto. Devido a isso, atualmente, o uso de antibióticos na produção animal é considerado, pela Organização Mundial de Saúde (OMS) e pela Organização Mundial de Saúde Animal (OIE) um risco em potencial, tanto para a saúde animal, quanto para a saúde humana.

Nessa perspectiva, dentro da medicina veterinária é importante ressaltar alguns pontos para se evitar o uso abusivo e inadequado de antimicrobianos. Essas drogas devem ser usadas como recomendação apenas do médico veterinário, para tratamento de infecções bacterianas (mastite, metrite, pneumonia, leptospirose, entre outras). É bom lembrar que antibióticos são espécie-específico, ou seja, devem ser utilizados somente aquele indicado para bovinos (nunca usar antimicrobianos de outras espécies em bovinos, como o de uso de equinos). Deve-se, também, respeitar a bula, ou seja, obedecer à dose, frequência de aplicação, via



de aplicação, duração do tratamento e período de carência da droga. Além disso, uso de outros medicamentos associados aos antimicrobianos deve ser feito apenas com indicação do médico veterinário, pois algumas associações podem ter ação de sinergismo (um potencializa o outro e isso pode inclusive, alterar o período de excreção no leite) ou de antagonismo (um inibe a ação do outro, levando a insucesso no tratamento).

O uso abusivo e inadequado de antimicrobianos é assunto sério! A resistência a essas drogas faz com que o paciente (animal ou humano) não responda ao tratamento contra as bactérias. E, enquanto houver um produto alternativo na prateleira, o problema ainda é contornável, mas o problema é que há poucas opções de novas drogas, quando olhamos o horizonte. E, mesmo havendo alternativas, a resistência já causa mortes em animais e pessoas. Na saúde humana, por exemplo, em torno de 700.000 pessoas morrem por ano por complicações causadas pela resistência aos antimicrobianos.

Considerando tais colocações, vale ressaltar que nas antigas normativas 51 (de setembro de 20002) e 62 (de dezembro de 2011) havia uma definição sobre leite: “produto oriundo da ordenha completa e ininterrupta, em condições de higiene, de vacas sadias, bem alimentadas e descansadas”. Entretanto, mesmo as antigas normativas frisando a respeito da ordenha de vacas sadias, não é o que acontece na realidade. Existem inúmeras enfermidades causadas por bactérias e, mesmo com a ocorrência destas, muitos animais continuam a ser ordenhados.

Como já comentado, essas infecções bacterianas exigem tratamento com antimicrobianos. No gado leiteiro, a infecção da glândula mamária, mastite, é considerada o principal problema em rebanhos leiteiros, gerando grandes prejuízos aos produtores de leite, devido à queda na produção, diminuição na qualidade do leite, descarte de animais e gastos com tratamentos, além de afetar o bem-estar do animal.

Muitas vezes, com o uso indevido desses medicamentos somado com a não obediência do período de carência pode gerar resíduos no leite. E, independente da via de aplicação (se sistêmico, por infusão, oral, intramamário ou tópico) há veiculação de resíduo em maior ou menor intensidade, por maior ou menor tempo, dependendo, também, da duração do tratamento, dose, etc.. Pela via



sanguínea, por exemplo, a droga chega a todos os tecidos e ainda, por terem baixo peso molecular, possuem facilidade na passagem pela barreira sanguínea da glândula mamária. A antibioticoterapia intramamária expõe ainda mais o leite à contaminação por resíduos, e até mesmo com o uso dos promotores de crescimento, podem contaminá-lo.

Cabe salientar também que mesmo passando o período de carência do medicamento, ainda existe antimicrobiano sendo eliminado no leite (em baixas concentrações) e, essa quantidade pode ser significativa, quando há muitos animais retornando do tratamento, ou seja, isso pode ser acusado no teste de resíduos de antimicrobianos.

Dentro desse contexto, segundo a normativa 76 de novembro de 2018, do MAPA, o leite não deve apresentar resíduos de produtos de uso veterinário e contaminantes acima dos limites máximos previstos na instrução normativa nº 5, de abril de 2019, do MAPA. A preocupação com a contaminação química do leite é justificável, como já comentado, devido ao risco à saúde humana. Os principais antimicrobianos utilizados na bovinocultura leiteira são os aminoglicosídeos (como gentamicina, neomicina e estreptomicina), β -lactâmicos (penicilinas (amoxicilina, ampicilina, penicilina G, oxaciclina) e cefalosporinas (ceftiofur, cefapirina, cefalexina)), cloranfenicol, tetraciclina e sulfonamidas. E, muitos desses, também são usados na medicina humana.

Isso ocorre porque a exposição a pequenas doses de antibióticos por longos períodos pode causar a seleção de cepas resistentes, resultando na ineficiência destes antibióticos em tratamentos posteriores. Além disso, indivíduos hipersensíveis a essas drogas, principalmente à penicilina, quando ingerem alimentos contaminados com resíduos, mesmo em baixas quantidades, podem desenvolver fortes reações imunológicas, até mesmo choques anafiláticos. Ainda no que concerne a problemas de saúde pública, destaca-se o desequilíbrio flora intestinal e ao efeito teratogênico, ou seja, podem causar alteração no desenvolvimento fetal, como já relatado com o uso de metronidazol, rifampicina, trimetropim, estreptomicina e tetraciclina por gestantes.

Além do problema com a saúde pública, também vale ressaltar a diminuição do rendimento na produção dos derivados. Isso porque, os resíduos de



antibióticos presentes no leite destinado a essa produção não permitem que as culturas façam a fermentação adequada, inibindo os microrganismos benéficos na produção de queijos, manteigas e iogurtes. Ainda, aliado a esse fato, os resíduos de antimicrobianos, quando submetidos a tratamentos térmicos, são resistentes, ou seja, difíceis de serem inativados.

Em decorrência dessa realidade, atualmente existem testes rápidos, utilizados na análise da presença dos resíduos de antibióticos no leite, como Delvotest® ou IDEXX Snap®. Esses podem ser utilizados por produtores, pois além de rápido, é de fácil obtenção, e manuseio. É, também, amplamente utilizado nos laticínios, como método de presença ou ausência de antibióticos em plataformas de recepção. Na indústria, seu uso é de extrema importância, para a liberação rápida do descarregamento do leite, visando uma logística melhor para os transportadores de leite.

Apesar da existência destes testes rápidos, a técnica oficial dos laboratórios credenciados pertencentes à Rede Nacional de Laboratórios Agropecuários do Sistema Unificado de Atenção à Sanidade Agropecuária é a técnica de cromatografia líquida aliada a técnicas de detecção de alta sensibilidade e especificidade, como a espectrometria de massas, para a pesquisa, verificação e fiscalização de resíduos de produtos veterinários em leite.

Dentro desse contexto, a ideia de consumo consciente ganha força e muitas vezes pauta a compra de produtos obtidos com responsabilidade social e ambiental, mesmo que com preços mais elevados. A relação saúde *versus* alimentação saudável tem conquistado destaque cada vez maior entre os consumidores. Assim, os produtos orgânicos vêm ganhando cada vez mais espaço no mercado. Em países como Alemanha, Inglaterra, Austrália, Estados Unidos, França e Dinamarca, as principais motivações estão relacionadas à saúde, seguidos da questão ambiental e do sabor dos alimentos. No Brasil, a principal razão é o benefício à saúde.

Todavia, a ocorrência de resíduos de antibióticos pode ser evitada com duas principais ações: o uso racional e responsável de antibióticos e também, com a implantação do programa de boas práticas na utilização de antibióticos na fazenda. Dentro desse programa, destacam-se algumas ações:



- Capacitação da equipe sobre a utilização de antimicrobianos – orientá-los a usar somente com prescrição do médico veterinário e seguindo a bula (dose, frequência de aplicação, via de aplicação, período de carência e duração do tratamento). Caso haja necessidade da utilização de dois medicamentos simultaneamente, verificar, com o veterinário, sobre possível sinergismo ou antagonismo das drogas.

- Manejo sanitário adequado (lembrar que resíduos de antibióticos não vem somente de tratamento da mastite, mas também de outras doenças bacterianas). Ademais, a prevenção é sempre melhor e com custo menor do que o tratamento.

- Marcar as vacas (secas ou em lactação) em tratamento e/ou ainda em período de carência, para que todos os retireiros saibam e para que elas não sejam ordenhadas e tenham seu leite enviado para o tanque.

- Registrar os animais em tratamento

- Vacas em lactação: identificação do animal, motivo do tratamento, medicamento, tetao tratado, quando iniciou tratamento, quando terminou tratamento e quando o leite será liberado para o tanque.

- Vacas secas: identificação do animal, medicamento usado na secagem, dia da secagem, dia e hora do parto, dia da liberação do leite para o tanque (essas informações impedem que, caso a vaca tenha uma antecipação de parto, o leite tenha resíduos de antimicrobianos).

- Fazer linha de ordenha: ordenhar primeiramente as vacas primíparas, posteriormente vacas sadias, depois as vacas com mastite subclínica e, por último, as vacas em tratamento (dessas últimas, o leite de TODOS os tetos deve ser descartado e não somente do quarto mamário afetado).

- Organizar a farmácia da fazenda – medicamentos em lugares limpos e arejados, organizados, antimicrobianos usados em vacas em lactação separados daqueles usados em vacas secas. É importante fazer verificação do estoque, de tempo em tempo (principalmente com relação à validade dos produtos). Ademais, itens de ordenha (borrachas, teteiras), herbicidas, pesticidas devem ser armazenados em lugar separado da farmácia.

- Bem-estar animal – o ajuste de manejo da propriedade garante a saúde do animal.



- Compra de animais com boa sanidade - livres de doenças (brucelose, tuberculose, leptospirose, entre outras), histórico de boa CCS, não comprar animais em período de carência pelo uso de antimicrobianos, não ser portadora de patógenos importantes para mastite como *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae* e *Mycoplasma bovis*.

- Biossegurança – não deixar qualquer pessoa entrar na granja, uso de vestimentas corretas, entre outras normas e procedimentos destinados a evitar a entrada de agentes infecciosos (vírus, bactérias, fungos e parasitas) no rebanho, bem como controlar sua disseminação entre os diferentes setores ou grupos de animais.

- Prevenção da mastite:

- Realização da linha de ordenha;
- Lavagem dos tetos;
- Realização de pré-*dipping*;
- Teste de caneca de fundo escuro, para detecção de mastite clínica;
- *California Mastitis test* (CMT) para detecção de mastite subclínica;
- Higiene no local de ordenha;
- Pós-*dipping*;
- Lavagem correta da ordenhadeira, teteiras e utensílios;
- Fornecer alimento aos animais após a ordenha, evitando que eles deitem e haja infecção por contaminação ambiental;
- Evitar excesso ou falta de vácuo na ordenhadeira;
- Evitar sobreordenha (para não ocorrer prolapso do esfíncter)
- Evitar pessoas estranhas, estresses e lentidão na ordenha (para evitar leite residual);
- Utilização da água de boa qualidade;
- Prevenção em novilhas;
- Tratamento em vacas secas;
- Gestão de mastite clínica e subclínica (fazer CCS individual para ter mais poder de decisão);
- Higiene pessoal;



- Fazer cultura microbiológica em vacas suspeitas de mastite e/ou antibiograma – hoje existem placas para realização de cultura dentro das propriedades, como as *AccuMast*[®], que fazem a identificação do agente causador da mastite, facilitando, assim, a escolha do antimicrobiano a ser usado.
- Mostrar para o produtor e para o retireiro a importância de leite sem resíduos de antimicrobianos.

Assim, o uso racional e responsável de antimicrobianos ajudará os produtores a tratar a infecção com o produto e dose apropriados, sem ocorrência de resíduos no leite, não afetando a produção de derivados lácteos e, claro, minimizando os riscos à saúde pública.



Principais fraudes em leites

A qualidade dos alimentos, como já discutida, é uma exigência atual em todo o mundo, principalmente com relação a possíveis problemas em saúde pública. Sendo assim, na busca constante de qualidade, a detecção de produtos fraudados é necessária.

Nas indústrias de laticínios, os principais prejuízos com as fraudes são a redução do rendimento de alguns produtos lácteos, a diminuição do valor nutricional, a alteração da qualidade dos produtos beneficiados e o risco aos consumidores, em virtude da presença de substâncias que podem causar mal à saúde, como, por exemplo a presença de resíduos de agentes antimicrobianos, reconstituintes de densidade e neutralizante de acidez.

Inicialmente, as adulterações do leite almejavam o aumento do volume, por meio da adição de água, além do desnate, para produção de creme de leite. Posteriormente, foram surgindo novos tipos de adulterações, como adição de soro de queijo, de substâncias conservantes (como o peróxido de hidrogênio), neutralizantes (como hidróxido de sódio, bicarbonato de sódio) e reconstituintes da densidade e crioscopia (como o uso do sal, açúcar, amido).

No Brasil, há relatos de grandes operações em busca da fraude de leite. No início de 2013, por exemplo, o Ministério Público desencadeou a “Operação Leite Compensado” com o objetivo de coibir a fraude em leite cru que era realizada por um grupo de transportadores do interior do Rio Grande do Sul, os quais adicionavam água e ureia. E, em 2015, os envolvidos nas fraudes foram punidos.

Dentro da normativa nº 76, do MAPA, de novembro de 2018, é proibido o uso de agentes químicos no leite refrigerado, com função de neutralizar a acidez, conservar o leite e/ou de reconstituir a densidade ou índice crioscópico do leite. Abaixo, serão discutidas as principais formas de fraudes e suas respectivas provas para detecção.

A adição fraudulenta de água no leite ocorre com o intuito de aumentar o volume do leite, alterando, assim, densidade e crioscopia (ou seja, temperatura de congelamento) do leite, importantes parâmetros físico-químicos. E, como forma de corrigir a adição de água, pode ocorrer, também o acréscimo de reconstituintes ao



leite, os quais têm o objetivo de recompor a aparência e algumas características físico-químicas, mascarando, assim, a fraude por adição de água ao produto.

Já as substâncias conservadoras, quando adicionadas de forma fraudulenta, impedem e/ou retardam alterações físico-químicas em alimentos devido a ação de microrganismos ou enzimas. Um exemplo disso é a adição de formol e peróxido de hidrogênio, que são substâncias inibidores de multiplicação de microrganismos presentes no leite.

Sabe-se que a má qualidade higiênica na ordenha faz com que haja uma carga microbiana intensa nesse produto. Assim, o leite terá uma alta contagem padrão, prejudicando o produtor, quando o laticínio efetua o pagamento por qualidade. Se, essa carga microbiana for composta de grandes quantidades de microrganismos psicrótróficos, estes poderão se multiplicar ainda mais, pois a temperatura ideal para isso é a mesma da temperatura de refrigeração do tanque. E, como já discutido, os microrganismos desse grupo, como, por exemplo, as bactérias do gênero *Pseudomonas* spp., produzem enzima lipolíticas e proteolíticas, as quais causam deterioração do leite.

Caso haja uma contaminação por microrganismos mesófilos, estes podem alterar a acidez do leite, diminuindo o pH na quebra da lactose, fazendo com que o leite seja recusado antes mesmo de entrar no caminhão de transporte, com o teste do alizarol. E essa situação pode agravar a acidez, se o leite for acondicionado em temperatura inadequada, favorecendo a multiplicação dos mesmos. Assim, quando isso acontece, há a adição, de forma fraudulenta, dos neutralizantes de acidez.

Assim, resumidamente, além da água, existem outras substâncias fraudulentas que podem ser adicionadas: substâncias inibidores de multiplicação microbiana, como o peróxido de hidrogênio, formol, cloro e hipoclorito; neutralizantes de acidez, como o bicarbonato de sódio, carbonato de cálcio e soda; reconstituintes de densidade, como o amido, a sacarose, o cloreto de sódio e o soro do leite. Assim, algumas das principais substâncias fraudulentas e suas respectivas análises de detecção serão discutidas a seguir.

A presença de peróxido de hidrogênio no leite não é fácil de ser detectada, porque essa substância se decompõe em água e oxigênio, levando a um



resultado falso negativo. Mas, para que seja feita a análise, em um tubo de ensaio, adiciona-se 10 mL de leite, o qual deve ser aquecido, em banho-maria, a 35°C por 5 minutos. Posteriormente, adiciona-se 2 mL de solução hidroalcoólica de guaiacol 1% (essa solução é feita com a mistura de 1mL de guaiacol, 10mL de álcool etílico e 89mL de água) e mais 2 mL de leite cru. Em seguida deve-se agitar. No leite normal (sem adulteração) não ocorrerá alteração da cor, enquanto que o leite com adição de peróxido de hidrogênio, a cor da mistura ficará salmão. Além dessa técnica, a condutividade elétrica é um método simples e barato para a identificação desta substância no leite.

A adição do formol no leite ocasiona um enrijecimento das proteínas, o que dificulta sua digestão, além de causar danos gástricos e, dependendo da sua concentração, pode causar lesões como queimaduras na cavidade bucal, principalmente em crianças. Para a detecção de formol no leite, em um tubo de ensaio, adiciona-se 5 mL de leite, 2 mL de ácido sulfúrico 50% e 1 mL de perclorato de ferro a 2%. Agitar o tubo e aquecer até que ocorra a ebulição. A coloração amarela é considerada normal, enquanto que a coloração violeta indica a adição fraudulenta de formol.

No teste para verificação de cloro e hipoclorito, substâncias que são inibidores de multiplicação microbiana, adiciona-se, em um tubo de ensaio, 5 mL de leite e 3 gotas de iodeto de potássio 40%. Agita-se o tubo e observa-se a coloração, se não houver alteração, o leite é considerado normal, mas se houver mudança para a cor amarela, indica a presença de hipoclorito.

Já para a detecção de bicarbonato de sódio, carbonato de cálcio e soda, substâncias alcalinas que são neutralizantes de acidez, em um tubo de ensaio, adiciona-se 5 mL do leite, 10mL de álcool etílico, agita-se e, em seguida, deve-se pingar 2 gotas de solução de ácido rosólico 2% (esse último deve estar diluído em álcool etílico neutralizado). Para o leite sem fraude, a coloração será laranja, enquanto o leite, adicionado de substâncias neutralizante ficará com a coloração vermelho-rosa.

Diferentemente, no teste de verificação do amido, substância usada como reconstituintes de densidade, adiciona-se, em um tubo de ensaio, 10mL do leite, o qual deve ser aquecido até a ebulição em banho-maria e, após isso, permanecer por



5 minutos. Em seguida, adiciona-se 2 gotas de lugol e observa-se a coloração. O leite sem fraude não terá alteração de cor, enquanto o leite com amido terá a coloração azulada.

Quanto à análise para detecção de sacarose, também reconstituinte de densidade, em um tubo de ensaio, adiciona-se 5 mL de leite, 2mL de ácido sulfúrico 50% e 4 gotas de resorcina. Em seguida, deve-se agitar e aquecer em banho-maria por 5 minutos. No leite sem fraude não haverá alteração alguma, entretanto, no leite com sacarose, haverá mudança para a cor rósea imediatamente.

Para a pesquisa de cloreto, em tubo de ensaio, deve-se inserir 10 mL de leite, 0,5 mL de solução de cromato de potássio a 5% e 4,5 mL de solução de nitrato de prata 0,1 N. Em seguida deve-se agitar o tubo e fazer a leitura do resultado. A coloração marrom com precipitados indica leite sem fraude, enquanto que o leite, adicionado de cloreto de sódio, ficará com a coloração amarelada). Vale ressaltar que o aumento no teor de cloreto também pode ocorrer por diversos fatores, necessitando, assim, de outras análises para confirmação da fraude.

A adição fraudulenta de soro ao leite é normalmente detectada e quantificada pela determinação do glicomacropéptido (GMP). Esta substância é resultante da quebra da ligação peptídica da k-caseína entre aminoácidos, na ação da quimosina, presente no coágulo usado na produção de queijo. Desta ação, forma-se a para-k-caseína que permanece nas micelas de caseína e o glicomacropéptido, que fica no soro. No entanto, proteases termoestáveis produzidas por micro-organismos psicrótróficos podem, também, ser responsáveis por esse fenômeno mesmo após o tratamento térmico, necessitando, então, de outros testes para confirmar adulteração. Testes específicos são feitos para a detecção do GMP, como a eletroforese em gel de poliacrilamida em presença de uréia (ureia-PAGE), eletroforese em presença de duodecil sulfato de sódio (SDS-PAGE), cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), entre outros.

Além de todas essas substâncias químicas, atualmente também existem relatos da fraude por mistura de leites de espécies diferentes. Problemas decorrentes da mistura ilegal de leite mais barato com leites mais caros, durante a fabricação de queijos levaram a estudos de métodos para detectar a origem da espécie. Essa mistura, comum principalmente na produção de queijos, é importante,



principalmente, com relação à rastreabilidade de alimentos. Para a detecção desta fraude, diversas análises podem ser realizadas, entretanto, a Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) tem sido mais utilizada para a detecção específica de origem animal em produtos lácteos e queijos.

Mesmo sabendo que o manejo correto de práticas higiênicas na ordenha evita a contaminação do leite e a disseminação de microrganismos responsável pela mastite (infecção que leva à diminuição na qualidade e volume do leite), muitos produtores/transportadores de leite/ indústrias preferem fraudar o alimento, para aumentar seus lucros, sem se atentar para os riscos dessas substâncias.

A fraude de leite é um ato intencional de ganho econômico, que resulta na redução da qualidade e segurança do produto. É importante que haja uma fiscalização constante tanto do leite cru (matéria-prima), como também de seus derivados como o leite pasteurizado, leite UHT, queijos, iogurtes, entre outros.



Bibliografia

BELOTI, V. **Leite: Obtenção, Inspeção e Qualidade**. 1ª edição. Londrina. Editora Planta. 2015.

MAPA. RTIQ - Leite e seus derivados, 2020. Site com Biblioteca de Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade (RTIQ) dos Produtos de Origem Animal que são regulados pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Disponível em: <<https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/suasa/regulamentos-tecnicos-de-identidade-e-qualidade-de-produtos-de-origem-animal-1/rtiq-leite-e-seus-derivados>>. Acesso em: 08 março 2021.

CRUZ, A. G.; ZACARCHENCO, P. B.; OLIVEIRA, C. A. F.;CORASSIN, C. H. **Microbiologia, Higiene e Controle de Qualidade no Processamento de Leite e Derivados**. 1ª edição. Rio de Janeiro: Editora GEN LTC. 2018.

CRUZ, A. G.; ZACARCHENCO, P. B.; OLIVEIRA, C. A. F.;CORASSIN, C. H. **Processamento de Leites de Consumo**. 1ª edição. Rio de Janeiro: Editora GEN LTC. 2016.

CRUZ, A. G.; ZACARCHENCO, P. B.; OLIVEIRA, C. A. F.;CORASSIN, C. H. **Processamento de Produtos lácteos: Queijos, Leites Fermantados, Bebidas Lácteas, Sorvete, Manteiga, Creme de Leite, Doce de Leite, Soro em pó e Lácteos Funcionais**. 1ª edição. Rio de Janeiro: Editora GEN LTC. 2017.

CRUZ, A. G.; ZACARCHENCO, P. B.; OLIVEIRA, C. A. F.; CORASSIN, C. H. **Química, Bioquímica, Análise Sensorial e Nutrição no Processamento de Leite e Derivados**. 1ª edição. Rio de Janeiro: Editora Elsevier. 2016.

Rede Agripoint. MilkPoint, 2000. Site com artigos sobre produção de leite, mercado lácteo, notícias nacionais e internacionais, artigos técnicos e tendências da indústria e do consumo de laticínios. Disponível em: <<https://www.milkpoint.com.br/>>. Acesso em: 08 março 2021.

VIDAL, A. M. C.; SARAN NETTO, A.. **Obtenção e Processamento do Leite e derivados**. Pirassununga: Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo, 2018.