

Qualidade do leite cru ovino armazenado sob refrigeração

Quality of ovine raw milk stored under refrigeration

Félix Roman Munieweg^I

Cássia Regina Nespolo^{I,*}

Franciele Cabral Pinheiro^{II}

Emiliane Rodrigues Gavião^I

Franciane Cabral Pinheiro^I

Marcela Czarnobay^{III}

RESUMO

A industrialização de lácteos ovinos é recente no Brasil e a produção é concentrada em regiões de serra, como a Gaúcha. O leite ovino possui alto conteúdo de sólidos comparado ao bovino, com maior rendimento na produção de queijo. A produção deste leite sofre variações sazonais e poderia ser estocado até obter uma quantidade suficiente para processamento. O objetivo deste trabalho foi avaliar parâmetros microbiológicos e físico-químicos no leite proveniente de seis produtores sob armazenamento refrigerado. O leite foi analisado durante sete dias, incluindo contagem padrão em placas (CPP), psicotróficos, coliformes totais e termotolerantes, *Staphylococcus* sp. e *Staphylococcus aureus*, acidez titulável, pH, atividade de água e proteína. Os resultados demonstraram altas contagens microbianas e CPP acima dos limites estabelecidos pela legislação para a maioria das amostras. Contagens de psicotróficos, coliformes totais e fecais foram elevadas durante este período. A acidez titulável aumentou ao longo dos dias e o conteúdo de proteína diminuiu. As amostras do produtor B apresentaram menores contagens microbianas dentre todas testadas. A estocagem a frio torna-se uma alternativa, a curto prazo, quando há diminuição na produção de leite ovino para beneficiamento a derivados. No entanto, o período de armazenamento refrigerado não deve ultrapassar dois dias, devido à deterioração.

PALAVRAS-CHAVE: Leite; Ovelha; Análise Microbiológica; Análise Físico-química; Vida de Prateleira

ABSTRACT

The dairy sheep industry is recent in Brazil and the production is concentrated in mountainous regions, such as Serra Gaúcha. Ovine milk has a higher solids content compared to bovine milk, thus with higher yield in cheese production. Sheep milk production undergoes seasonal variations and it could be stored until a sufficient quantity is available for processing. The objective of this study was to evaluate microbiological and physicochemical parameters in ovine milk from six different producers under refrigerated storage. Milk was analyzed during seven days, including standard plate count, psychrotrophic bacteria, total and fecal coliforms, *Staphylococcus* sp. and *S. aureus*, titratable acidity, pH, water activity, and protein content. The results showed high microbial counts and standard plate counts above those established by legislation for most samples. Psychrotrophic, total and fecal coliforms counts were increased during this period. Titratable acidity increased over the days, while protein content decreased. Samples of milk producer B presented the lowest microbial counts among all tested. Cold storage becomes a short-term alternative when there is a decrease in sheep milk production for dairy processing. Storage period of refrigerated milk must not exceed two days due to deterioration.

KEYWORDS: Milk; Sheep; Microbiological Analysis; Physicochemical Analysis; Shelf Life

^I Universidade Federal do Pampa (Unipampa), Rio Grande do Sul, RS, Brasil

^{II} Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS, Brasil

^{III} Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Sul (IFRS), Bento Gonçalves, RS, Brasil

* E-mail: cassianespolo@unipampa.edu.br



INTRODUÇÃO

A produção leiteira representa uma importante parcela da economia global, porém o continente americano gera apenas cerca de 0,4% da produção de leite ovino mundial. O continente contribui com 7,2% do número de cabeças ovinas, logo uma parcela muito pequena é destinada à produção leiteira¹. No Brasil, a produção leiteira gera inúmeros empregos em diversas propriedades, com importância social e econômica^{2,3}.

Na alimentação, o leite é considerado um alimento completo, altamente nutritivo, contribuindo para funções vitais por ser importante fonte de carboidrato, proteínas e lipídios⁴. A composição do leite varia segundo a espécie do animal. Quando comparado ao leite de vaca, o leite de ovelha apresenta grandes variações em relação a seus componentes. As maiores diferenças observadas estão relacionadas aos níveis de proteínas, em específico à caseína, e de lipídeos. O leite de vaca apresenta valores de 2,6% e 4,2%, enquanto o leite ovino, os valores correspondem a 3,6% e 7,9%, respectivamente⁵.

O leite ovino *in natura* atualmente é destinado em grande parte para produção de queijo e, em menores proporções, para produção de outros derivados lácteos^{6,7}. Dentre as suas características, destacam-se o alto valor proteico⁸, elevados teores de sólidos totais e gordura, tornando-se ideal para a produção de queijos com altos valores comerciais^{6,7}.

O leite, independentemente da espécie animal produtora, pode conter uma alta carga microbiana, devido à contaminação do animal por vários patógenos, tendo como fonte principal a mastite. A inflamação aumenta os percentuais de células somáticas no leite interferindo em sua qualidade⁴. Entre as principais bactérias vinculadas à mastite estão: *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus*, grupo coliformes⁹ e *Pseudomonas*¹⁰. Essa fonte de contaminação pode ser controlada por meio do manejo adequado do rebanho, além da higienização no momento da ordenha, a qual reduz a carga microbiana presente no teto dos animais^{3,4}. Outro determinante para a contaminação do leite são as práticas inadequadas no momento da armazenagem e transporte⁸.

A Instrução Normativa nº 62, de 29 dezembro de 2011, estabelece o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de leite cru refrigerado, com valores de referência para o leite a ser processado e comercializado. Segundo esta legislação, o leite cru deve ser resfriado até temperatura igual ou inferior a 4°C, no tempo máximo de 3 h após o término da ordenha¹¹. A refrigeração tem por objetivo evitar o crescimento microbiano e alterações indesejáveis no leite¹².

A qualidade da matéria-prima é um ponto extremamente importante e também limitante para presença de microrganismos patogênicos e deteriorantes no processo de industrialização de produtos lácteos⁹. Assim, a indústria de laticínios deve buscar formas de obter o leite e seus derivados com menor contaminação possível, de forma a garantir a conservação do produto e a segurança do consumidor. A partir disso, este trabalho teve por objetivo avaliar a qualidade microbiológica e físico-química

do leite de ovelha obtido de diferentes produtores da região da Serra Gaúcha.

MÉTODO

A produção de leite cru de ovelha da raça Lacaune era destinada a uma indústria de laticínios, localizada na região da Serra Gaúcha, a qual possui Selo de Inspeção Federal (S.I.F.). As amostras foram oriundas de seis diferentes propriedades leiteiras que fornecem sua produção para este laticínio, obtidas no mês de agosto de 2015, e os produtores foram identificados com letras de A a F. O leite foi obtido por ordenha mecanizada e coletado do tanque refrigerado de cada propriedade.

O leite de ovelha foi coletado em frascos estéreis de 80 mL, de forma a obter ao menos dois frascos de leite por produtor para cada dia de análise. Os frascos foram imediatamente acondicionados em caixas isotérmicas com gelo reutilizável rígido para manter a temperatura de refrigeração e encaminhadas ao Laboratório de Biologia, da Universidade Federal do Pampa (Unipampa), campus Itaqui-RS. As amostras foram recebidas e mantidas sob refrigeração, com temperatura controlada (5°C ± 2,5°C) e monitoradas durante o período de avaliação. As análises iniciaram-se 24 horas após a ordenha dos animais, durante sete dias consecutivos de armazenamento, e foram feitas ao menos em duplicata.

Os parâmetros físico-químicos analisados nas amostras de leite cru refrigerado foram os preconizados pela IN nº 62, de 29 de dezembro de 2011¹¹, incluindo proteína total, acidez, índice crioscópico e gordura. Além destas, foram determinados pH, atividade de água (Aw) e estabilidade ao etanol 72%. As análises físico-químicas seguiram a metodologia descrita pela IN nº 68, de 12 de dezembro de 2006¹³. A Aw foi realizada de acordo com o manual do fabricante AquaLab 4TE¹⁴. As demais determinações seguiram metodologias oficiais para pH¹⁵ e índice crioscópico¹⁶.

Dentre os parâmetros microbiológicos analisados estão a contagem padrão em placas, conforme exigência da IN nº 62/2011¹¹, coliformes totais, coliformes termotolerantes, psicotróficos, *Staphylococcus* sp. e *S. aureus*. As metodologias seguiram a IN nº 62/2003, de 26 de agosto de 2003, para a contagem padrão em placas e grupos coliformes totais e termotolerantes, com o grupo coliformes sendo determinado pela técnica de tubos múltiplos e o número mais provável analisado na tabela de Hoskins¹⁷. Além destas análises, foram realizadas ainda as contagens de microrganismos psicotróficos, de *Staphylococcus* sp. e *S. aureus*¹⁸. As diluições seriadas utilizadas variaram de 10⁻¹ a 10⁻¹⁰.

Os resultados foram organizados em programa Microsoft Excel 2010 para obtenção das médias e desvios padrão da média e os valores das contagens microbiológicas foram convertidos em logaritmos. Os dados foram avaliados pelo programa ASSISTAT 7.7 beta¹⁹, pelo qual foi aplicada análise de variância seguida pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de significância.



RESULTADOS E DISCUSSÃO

As contagens padrão em placas (CPP) e de psicrotóxicos em leite ovino cru mantido sob refrigeração estão apresentadas na Figura 1.

Pode ser observado (Figura 1A) que, embora a refrigeração retarde o processo de crescimento microbológico, este processo não causa a destruição microbiana e, com o passar do tempo, ocorre o aumento da carga microbológica dos produtos^{12,21}. Já os picos no gráfico, observados no sexto dia para os produtores D, E e F, são correspondentes ao resultado incontável na maior diluição realizada (10^{-10}). Isso pode ter ocorrido devido a uma possível contaminação adicional no momento da coleta nas propriedades, sendo que estes frascos podem ter sido mantidos abertos mais tempo que o necessário. Acredita-se que a contaminação tenha sido pontual, pois todo o leite foi coletado no mesmo momento e a contagem para os mesmos produtores foi menor aos sete dias de refrigeração.

Considerando-se a CPP no período de armazenamento (Figura 1A), é possível observar que o leite coletado a partir do produtor B

apresentou contagens próximas ao limite máximo preconizado pela IN n° 62/2011¹¹ e sem grandes variações. Apenas o valor médio para o dia 1 (5,60 logUFC/mL) deste produtor excedeu o limite máximo estabelecido para a região Sul (5,48 logUFC/mL)¹¹. As contagens médias observadas em outros estudos foram 4,30 e 4,70 logUFC/mL para leite ovino cru^{22,23} e 5,36 logUFC/mL para leite ovino em silo refrigerado²⁴. Este último estudo avaliou o leite durante armazenamento a 4°C, por um a quatro dias e o padrão de crescimento de mesófilos ao longo dos dias foi similar ao do presente estudo. Ao final de quatro dias, a quantificação média foi de 6,33 logUFC/mL²⁴, enquanto o valor médio destes produtores da Serra Gaúcha no quarto dia foi de 6,18 logUFC/mL.

A CPP média para os diferentes produtores no dia 1 foi 6,06 logUFC/mL (n = 12), superior aos dos estudos citados e também ao limite máximo estabelecido pela União Europeia para leite ovino e caprino em tanques de refrigeração, que é de 5,70 logUFC/mL^{24,25}. Este é um resultado preocupante, visto que a CPP inclui bactérias que podem ser patogênicas²⁶, além de indicar que as práticas de higiene no manejo animal foram

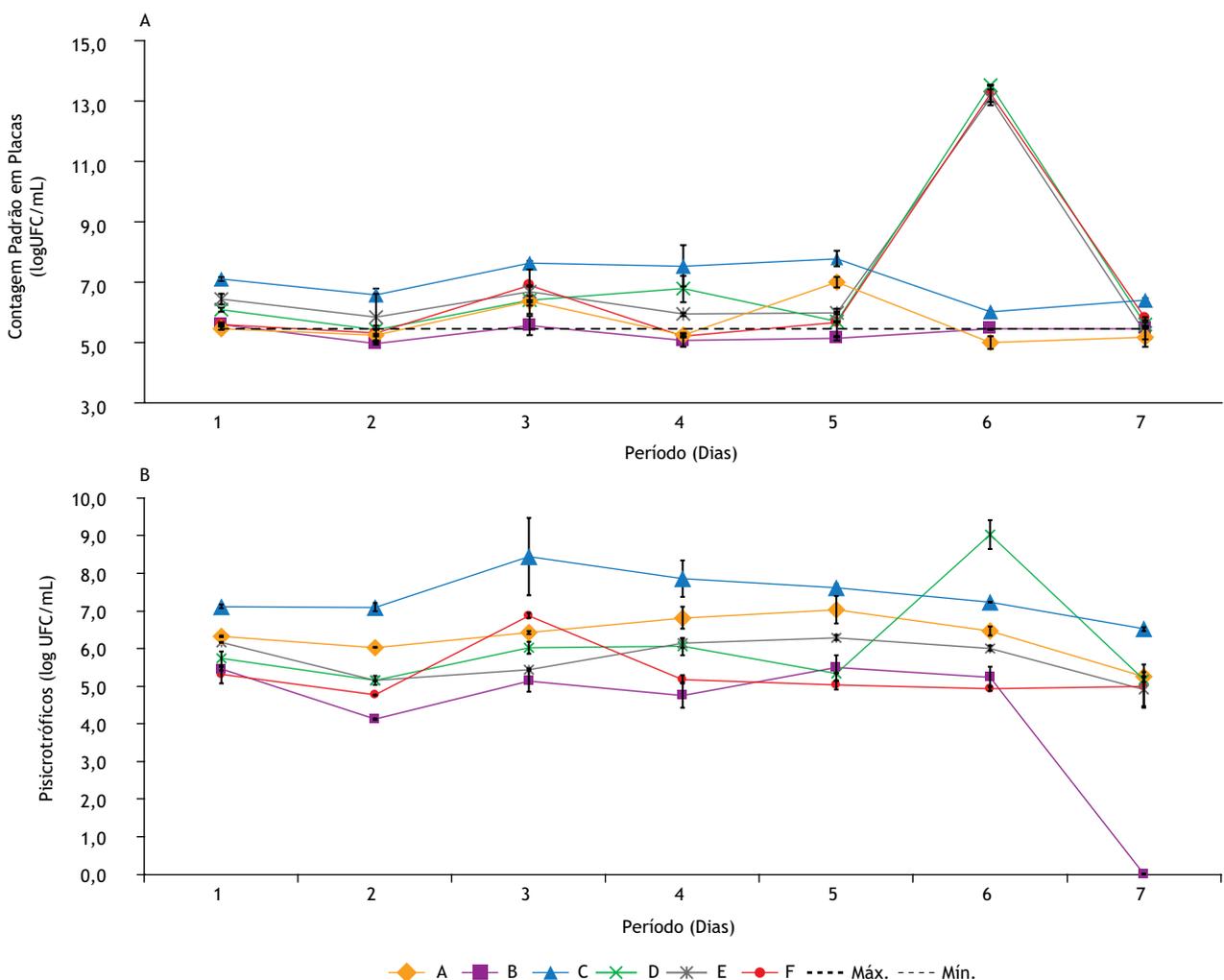


Figura 1. Valores médios de (A) Contagem Padrão em Placas (CPP) e de (B) psicrotóxicos em leite ovino cru refrigerado. As linhas coloridas indicam as médias obtidas por produtor e as barras são o desvio padrão da média; a linha tracejada indica o valor máximo permitido pela legislação para contagem padrão em placas¹¹.



deficientes, especialmente no momento da ordenha e por refrigeração insuficiente²⁷. A alta CPP é um fator limitante para a validade do produto, comprometendo a qualidade dos derivados deste leite²¹.

As contagens de psicotróficos (Figura 1B) evidenciam que o leite do produtor C apresentou valores estatisticamente superiores na maior parte dos dias de análise. Por outro lado, o declínio demonstrado no último dia para o produtor B representa a não detecção de colônias na menor diluição (10^{-1}) avaliada. Este comportamento pode ser devido a uma menor disponibilidade de substrato para crescimento microbiano, considerando-se o tempo avançado de armazenamento, mas não se pode descartar falta de homogeneização na coleta da alíquota para análise. Embora não haja um limite legal para a contagem de psicotróficos em leite, puderam ser observadas altas contagens, sendo este um grupo tipicamente presente em alimentos mantidos a baixas temperaturas^{24,26}. Neste grupo, estão bactérias potencialmente proteolíticas, tais como *Pseudomonas*, podendo se alojar nos tanques de transporte, nos refrigeradores dos produtores ou até mesmo no laticínio^{24,28,29}. Dados obtidos avaliando leite bovino cru refrigerado no RS, indicaram contagens de psicotróficos de 5,00 a 7,62 logUFC/mL ($n = 70$)²⁸. Estes valores foram similares aos obtidos no primeiro dia do presente estudo, os quais variaram de 5,31 a 7,11 logUFC/mL independentemente do produtor. As contagens de psicotróficos em amostras coletadas no silo de um laticínio, proveniente de ovelhas leiteiras de León, Espanha, revelaram valores médios de 6,40 logUFC/mL ($n = 130$) e de 7,77 logUFC/mL ao final de quatro dias²⁴. Na presente avaliação, o valor médio de psicotróficos entre os produtores foi de 6,02 logUFC/mL ($n = 12$) no primeiro dia, de 6,09 logUFC/mL ($n = 12$) no quarto dia e de 5,86 logUFC/mL ($n = 84$) no total das amostras, indicando valores compatíveis com obtidos para rebanhos ovinos.

O leite cru mantido em temperaturas de refrigeração pode apresentar várias bactérias dos gêneros *Enterococcus*, *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Lactobacillus*, *Microbacterium*, *Oerskovia*, *Propionibacterium*, *Micrococcus*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Bacillus* e *Listeria*, bem como as que fazem parte do grupo coliformes^{5,26,28}. De qualquer forma, altas contagens de psicotróficos não só em leite ovino, mas também em bovino, sinalizam a necessidade de criação de mecanismos de controle para evitar que um produtor acarrete a contaminação do silo de armazenamento e também problemas no beneficiamento²⁴.

A verificação dos grupos coliformes totais e termotolerantes e de *Staphylococcus* sp. em leite ovino refrigerado está apresentada na Tabela 1. Observa-se que, no primeiro dia, apenas os produtores B e F apresentaram valores de coliformes totais reduzidos em relação aos demais, com valores iguais ou próximos aos máximos quantificados pela técnica utilizada. Embora a legislação não apresente parâmetro de coliformes para leite cru, é importante salientar que o grupo coliformes totais é um bom indicador das condições higiênicas na obtenção do leite e os coliformes termotolerantes das condições sanitárias do leite *in natura*²¹.

Já os dados de coliformes termotolerantes (Tabela 1) foram menores em todos os produtores, quando comparados aos de coliformes totais. Entretanto, o produtor C destacou-se com número elevado de contaminação. Este grupo representa um perigo iminente, quando o leite não for pasteurizado de forma correta, pelo risco de acarretar doença ao consumidor final^{21,26}. O valor médio de todas as amostras foi 2,51 logNMP/mL ($n = 36$) para coliformes totais e 0,85 logNMP/mL ($n = 36$) para termotolerantes. Os valores obtidos em outros estudos com leite de ovelhas Lacaune no RS determinaram 2,04 a 2,34 logNMP/mL para coliformes totais e 2,04 logNMP/mL para termotolerantes^{22,23}. Já os valores encontrados em outro estudo com leite ovino, obtido em silo de armazenamento refrigerado, foram 3,45 logUFC/mL para coliformes totais e 2,38 logUFC/mL para *Escherichia coli*²⁴.

Os dados observados são preocupantes, pois demonstram que a higienização dos locais de ordenha, dos equipamentos ou durante o processo de ordenha era feita de forma inadequada, o que prejudica a qualidade do leite ordenhado, reduzindo sua vida de prateleira e comprometendo a produção de derivados^{21,27}. Desta forma, medidas como ordenhar em local limpo, utilizar água potável para lavar os tetos dos animais e os equipamentos, além de mergulhar os tetos do animal em solução desinfetante antes e após a ordenha podem minimizar a contaminação^{22,27}, proporcionando um produto com maior qualidade e revertendo em maior valor de pagamento por litro para o produtor²⁷.

A determinação da presença de *Staphylococcus* sp. (Tabela 1) indicou contagens elevadas, sendo que os valores médios foram 3,01 logUFC/mL, no primeiro dia, e 3,98 logUFC/mL no sétimo dia de refrigeração, superiores aos observados em outro trabalho com *Staphylococcus aureus* em leite ovino de silo refrigerado, com valores entre 2,62 a 2,92 logUFC/mL²⁶. Não foi

Tabela 1. Avaliação de coliformes totais, termotolerantes e de *Staphylococcus* sp. no primeiro e último dias de conservação do leite de ovelha sob refrigeração.

Produtor (dia de refrigeração)	Coliformes totais (logNMP/mL)	Coliformes termotolerantes (logNMP/mL)	<i>Staphylococcus</i> sp. (logUFC/mL)
A (1)	Maior que 3,04 ^a	Menor que 0,48 ^b	4,45 ± 0,45 ^a
A (7)	Maior que 3,04 ^a	Menor que 0,48 ^b	4,35 ± 0,07 ^a
B (1)	2,20 ± 0,84 ^{ab}	1,30 ± 0,33 ^{ab}	1,81 ± 1,80 ^a
B (7)	0,96 ± 0,40 ^{ab}	0,48 ± 0,00 ^b	4,26 ± 0,18 ^a
C (1)	Maior que 3,04 ^a	2,75 ± 0,29 ^a	2,66 ± 2,65 ^a
C (7)	Maior que 3,04 ^a	2,71 ± 0,33 ^a	3,90 ± 0,01 ^a
D (1)	Maior que 3,04 ^a	Menor que 0,48 ^b	4,46 ± 0,23 ^a
D (7)	2,61 ± 0,43 ^{ab}	Menor que 0,48 ^b	4,17 ± 0,26 ^a
E (1)	Maior que 3,04 ^a	0,72 ± 0,24 ^b	3,66 ± 0,18 ^a
E (7)	Maior que 3,04 ^a	0,52 ± 0,04 ^b	2,01 ± 2,00 ^a
F (1)	0,96 ± 0,40 ^b	0,52 ± 0,04 ^b	n.d.* ^a
F (7)	0,56 ± 0,00 ^b	Menor que 0,48 ^b	5,19 ± 0,19 ^a

Valores médios ± desvio padrão da média ($n = 2$); Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$); *n.d. não detectado na menor diluição 10^{-1}



observada contagem no dia 1 para o leite do produtor F, ao contrário dos demais, o que pode indicar melhor manejo sanitário neste rebanho, visto que *Staphylococcus* está comumente envolvido em mastite e pode contaminar o leite produzido⁹. A investigação da presença de *S. aureus* em leite cru de ovelha da raça Lacaune em outros estudos demonstrou contagens de 3,52 e 4,28 logUFC/mL^{22,23}. Um estudo de prevalência de *Staphylococcus* como causa de mastite em rebanhos leiteiros, em fazendas do Egito verificou a presença de *S. aureus* em 50% (n = 40) dos isolados, 20% de *Staphylococcus cohnii* e 10% de *Staphylococcus lugdunensis* como os mais prevalentes em casos de mastite em ovelhas⁹. Outro estudo similar foi realizado com cabras, no Brasil, e a prevalência para *S. aureus* foi de 26,7% (n = 86), *Staphylococcus intermedius* foi 16,3%, com os estafilococos coagulase negativa como os mais prevalentes (51,2%)³⁰.

As contagens elevadas de *S. sp.* indicam que as condições de higiene no momento da ordenha eram deficitárias ou que a saúde do animal estava prejudicada, pois poderiam estar com mastite^{5,29,31}. Tais espécies podem causar perdas econômicas substanciais, resultando em diminuição da produção de leite, afetando a produção industrial e com possível risco ao consumidor⁹. A quantidade elevada de *S. sp.* pode estar associada à presença de *S. aureus* no leite, fato verificado em apenas duas das amostras avaliadas. As contagens foram $2,51 \pm 0,33$ logUFC/mL para o produtor E, no dia 1, e de $3,46 \pm 0,01$ logUFC/mL para o produtor C, no dia 7. Sabe-se que este microrganismo pode produzir toxina estafilocócica e causar intoxicação alimentar^{26,31}, mostrando-se necessário um acompanhamento do rebanho destes produtores e um controle rígido da refrigeração do leite para evitar a proliferação do microrganismo e produção da toxina.

Os resultados das análises de acidez titulável e de teor de proteína em leite ovino cru refrigerado estão demonstrados na Figura 2. Pode-se observar, no dia 1 (Figura 2A), que apenas os produtores A, B e E apresentaram leites com valores de acidez titulável dentro dos limites estabelecidos para a legislação brasileira que é de 0,14 a 0,18 gramas de ácido láctico por 100 mL. Com o passar dos dias, ocorreu um aumento da quantidade de ácido láctico nas amostras para todos os produtores. O leite do produtor A manteve a acidez mais baixa ao longo dos dias e houve um aumento estatisticamente significativo entre os dias 1 e 7 deste produtor. De uma maneira geral, os produtores C, D e F tiveram os piores valores de acidez do começo ao fim das análises, desta forma não se enquadrando em nenhum momento com os valores determinados pela legislação. De acordo com estudos realizados com leite ovino na Serra Gaúcha³² e com raças da Europa³³, a acidez variou de 0,22 a 0,25 g de ácido láctico por 100 mL de leite, enquanto na região Metropolitana de Porto Alegre²³ o valor médio foi de 0,15 g de ácido láctico por espaço 100 mL de leite. Estes trabalhos anteriores desenvolvidos no Brasil também utilizaram a raça Lacaune. O valor médio obtido com todas as amostras foi de 0,19 g de ácido láctico por 100 mL de leite (n = 84), próximo ao citado em outros estudos.

Os resultados constatarem a tendência de acidificação do leite refrigerado (Figura 2A), podendo ser ocasionado por contaminação

microbiológica que faz com que a acidez da matéria-prima aumente, devido à produção de ácido láctico por microrganismos. Fazendo-se um comparativo com um estudo sobre o rendimento da coalhada obtida de leite fresco, resfriado e congelado de ovelha da raça Lacaune, pode-se observar que o soro obtido do leite resfriado a 5°C por sete dias apresentou acidez mais elevada comparada com as demais, provavelmente devido a uma possível contaminação microbiológica durante o processo de refrigeração³⁴.

A Figura 2B demonstra que nos dois primeiros dias todos os leites avaliados apresentaram valores médios acima do mínimo de 2,9% de proteína¹¹. A partir deste período, os valores ficaram estatisticamente inferiores comparados aos dias 1 e 2. Além disso, houve uma queda acentuada no dia 3 para os produtores B e C, apesar de não ter sido observada uma contagem aumentada para psicrófilos ou mesófilos nestes mesmos pontos, podendo-se atribuir este teor proteico diminuído a uma falta de homogeneização na coleta da amostra ou da alíquota para análise. Nos dias 6 e 7, é possível observar valores muito baixos e que comprometem a qualidade e rendimento industrial. O teor médio de proteína para todos os produtores no primeiro dia de refrigeração foi de 5,99% (n = 12), mantendo-se assim no segundo dia e diminuindo a partir do terceiro dia. Se considerarmos este valor médio, está acima do relatado em estudos para leite ovino Lacaune fresco produzido no Brasil, com teores relatados desde 5,70%²², 5,52%²³, 5,27%³⁴, 4,93%³⁵ a 4,46%³¹, porém abaixo do observado em ovinos da Europa, com 6,56% na Itália³⁶ e 6,20% para diferentes raças europeias³². No entanto, o valor médio após sete dias foi de 3,71% (n = 84), bastante inferior ao obtido em outro estudo com leite de ovelha da mesma região, mantido sob refrigeração durante sete dias, com média 5,26% (n = 12)³⁴.

A deterioração e consumo da proteína foram acentuados nos dois últimos dias de análise, indicando o consumo excessivo deste substrato. Isso pode ter ocorrido devido a uma contaminação bacteriológica, causada por microrganismos proteolíticos. A proteólise pode ser atribuída às bactérias psicrófilas e a mais conhecida por este efeito é a *Pseudomonas*²⁹. Como observado anteriormente, altas contagens de psicrófilos acompanharam todo o período de estocagem refrigerada (Figura 1B).

Outros microrganismos destacam-se por utilizar a lactose como substrato e produzirem ácido láctico, assim acidificando o meio e precipitando nutrientes, como a caseína^{3,12}. A avaliação da estabilidade do leite ovino ao etanol 72% revelou que nos dias 6 e 7 houve formação de grumos nos leites de todos os produtores, de média a grande quantidade, apontando que além do conteúdo de proteína, sua estabilidade também foi comprometida. Além das já citadas, outras bactérias proteolíticas que podem estar envolvidas neste processo podem ser *Lactobacillus* e *Enterococcus*^{28,37}. Embora bactérias psicrófilas tenham uma correlação com a atividade proteolítica, isto não foi observado em trabalho prévio com leite bovino²⁸, podendo a própria microbiota do leite ser um fator degradante das proteínas³⁷.

Os dados de pH e atividade de água em leite de ovelha, do primeiro ao último dia de conservação, são apresentados na Tabela 2. Os valores de pH variaram entre 7,04 e 7,35, com valor médio de 7,13 (n = 84). Os valores para pH citados em estudos anteriores

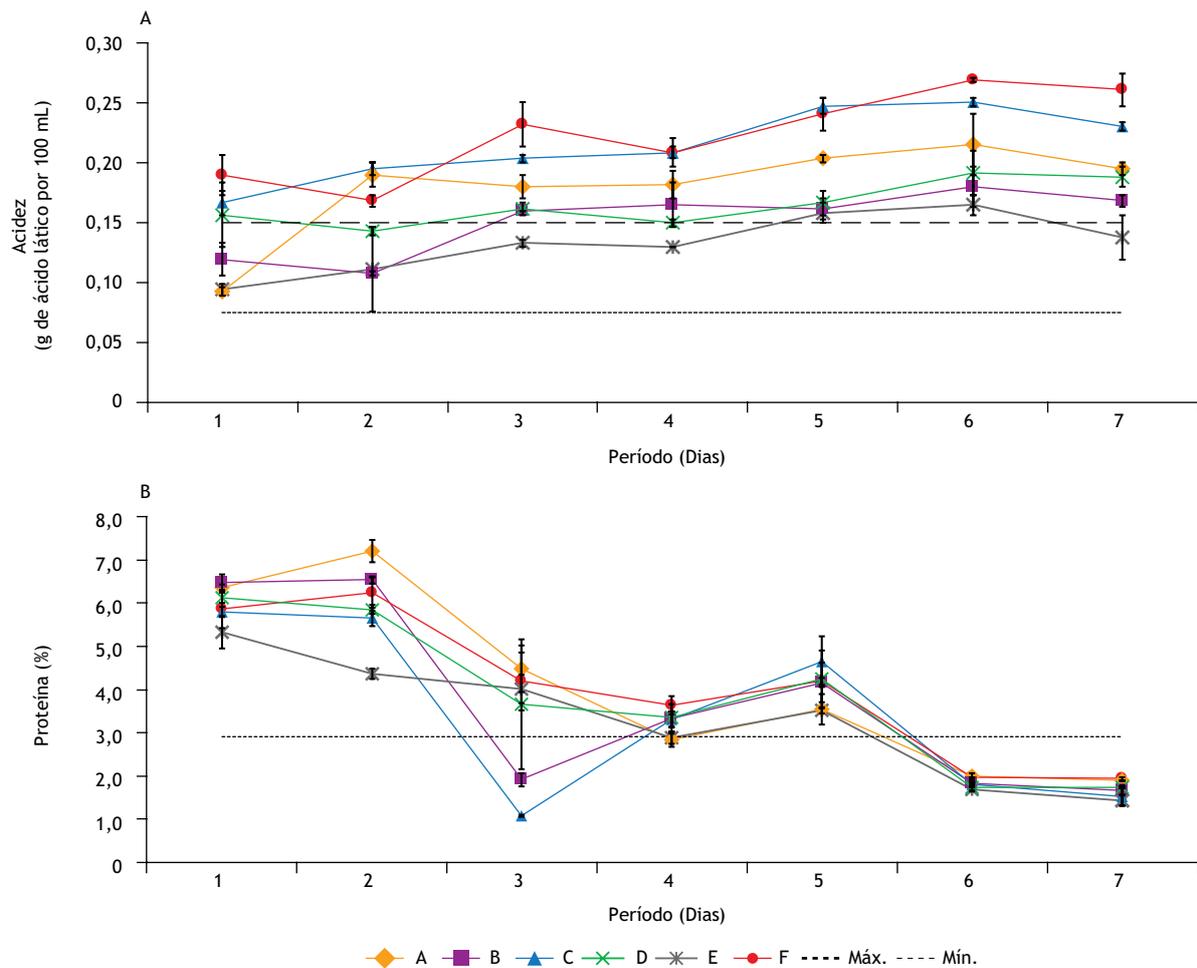


Figura 2. Valores médios de (A) acidez titulável e de (B) proteína em leite ovino cru mantido sob refrigeração. As linhas coloridas indicam as médias obtidas por produtor e as barras são o erro padrão da média; a linha pontilhada indica o valor mínimo e a linha tracejada o valor máximo, definidos em legislação¹¹.

foram 6,27²² e 6,53³² para raça Lacaune, 6,70 para Corriedale⁷ e variando de 6,51 a 6,85 para raças europeias³³. A elevação do pH, superior a 6,7 e mesmo a 7,0, pode estar associada a alterações provocadas pela mastite, com impacto econômico negativo e mudanças na composição físico-química do leite³⁸. Alterações nos valores de acidez e do pH do leite ovino podem afetar o processo de coagulação e também a capacidade de retenção de água da massa, influenciando o processo de dessoramento, o tamanho dos grânulos de coágulo formados, a textura e o crescimento microbiano no queijo³³.

A atividade de água no leite permaneceu alta em todo o período, com valor médio de 0,9822 (n = 84), e pode-se observar pequenas variações entre os produtores, mas nenhuma estatisticamente significativa. Sabe-se que concentração alta de umidade no leite diminuirá seu rendimento por menor teor de sólidos e elevará a atividade de água, favorecendo a contaminação e as reações de degradação³².

O índice crioscópico e o teor de gordura foram obtidos através de dados de controle de laticínio, com exceção do produtor E. Os seguintes valores foram observados para cada produtor: -0,578 °H no A; -0,565 °H no B; -0,563 °H para o C; -0,564 °H para o D; e -0,569 °H

Tabela 2. Avaliação de pH e a atividade de água (Aw) do leite de diferentes produtores mantido sob refrigeração.

Produtor (dia de refrigeração)	pH	Aw
A (1)	7,15 ± 0,02 ^{de}	0,9916 ± 0,0023 ^a
A (7)	7,15 ± 0,02 ^{de}	0,9900 ± 0,0034 ^a
B (1)	7,22 ± 0,01 ^{bcd}	0,9900 ± 0,0002 ^a
B (7)	7,30 ± 0,01 ^{ab}	0,9900 ± 0,0004 ^a
C (1)	7,13 ± 0,01 ^{def}	0,9902 ± 0,0006 ^a
C (7)	7,26 ± 0,01 ^{abc}	0,9873 ± 0,0010 ^a
D (1)	7,10 ± 0,02 ^{ef}	0,9904 ± 0,0014 ^a
D (7)	7,35 ± 0,04 ^a	0,9866 ± 0,0018 ^a
E (1)	7,26 ± 0,01 ^{abc}	0,9897 ± 0,0011 ^a
E (7)	7,28 ± 0,01 ^{abc}	0,9930 ± 0,0061 ^a
F (1)	7,04 ± 0,01 ^f	0,9887 ± 0,0018 ^a
F (7)	7,19 ± 0,01 ^{cde}	0,9857 ± 0,0004 ^a

Valores médios ± desvio padrão da média (n = 2); Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença estatisticamente significativa (p < 0,05)



para o F. Estes resultados estão acima dos limites estipulados pela legislação, que determina valores de $-0,530^{\circ}\text{H}^{\circ}$ a $-0,550^{\circ}\text{H}^{\circ}$. Valores elevados da ordem de $-0,55^{\circ}\text{C}$ e $-0,59^{\circ}\text{C}$ foram observados em amostras de leite de ovelhas Lacaune, em Cascavel-PR³⁹. Os pontos de congelamento esperados para leite de ovelha são em torno de $-0,535^{\circ}\text{H}$, sendo que valores abaixo deste podem ser indícios de fraude por adição de água ao leite⁵.

Os teores de gordura por produtor foram: 7,30% no A; 6,26% no B; 6,81% para o C; 9,42% para o D; e 6,58% para o F, obtendo-se um valor médio de $7,27 \pm 0,87\%$ entre todos os produtores. Os valores obtidos para amostras de leite de ovelha Lacaune em outros estudos foram inferiores, de 6,47%²³, 6,70%²¹ e 6,84%³⁸. O teor de gordura tem relação direta com o rendimento do queijo e com sua textura, e o leite com maiores concentrações de gordura é indicado para a produção de queijos com pasta mole⁴⁰. Este valor elevado de gordura observado nas amostras de leite representa ganho na cadeia produtiva, já que o produtor recebe remuneração maior pelo leite e a indústria consegue produzir mais derivados, inclusive aproveitando o excedente após o desnate do leite.

CONCLUSÃO

A maior parte das amostras apresentou CPP acima do máximo permitido pela legislação vigente, além de contagens elevadas para psicotróficos, coliformes totais e *Staphylococcus* sp., o que salienta problemas vinculados à saúde do rebanho, às condições sanitárias da ordenha e ao armazenamento refrigerado. Não houve um produtor com melhores resultados para todos os parâmetros avaliados, ocorrendo grandes variações entre os mesmos e ao longo dos dias de refrigeração. No entanto, o produtor B apresentou maior número de amostras abaixo do limite estabelecido para CPP, contagens menores para psicotróficos e coliformes totais, e com acidez mais baixa ao final do período. Aliado a isso, a acidez aumentou e a proteína diminuiu durante os dias de refrigeração, demonstrando que este armazenamento não pode ser prolongado. Havendo necessidade de armazenamento em períodos sazonais, o leite ovino refrigerado poderia ser utilizado pela indústria em até dois dias após a ordenha. Desta forma, seriam evitadas perdas econômicas e de rendimentos industrial e agregadas maior qualidade e segurança aos derivados.

REFERÊNCIAS

1. Food and Agriculture Organization. FAOSTAT. 2016[acesso 8 jun 2016]. Disponível em: <http://faostat3.fao.org/browse/Q/QA/E>
2. Langoni H, Penachio DDS, Citadella JCC, Laurino F, Faccioli-Martins PY, Luncheis SB et al. Aspectos microbiológicos e de qualidade do leite bovino. *Pesq Vet Bras*. 2011;31(12):1059-65. <https://doi.org/10.1590/S0100-736X2011001200004>
3. Rohenkohl JE, Corrêa GF, Azambuja DFD, Ferreira FR. O agronegócio de leite de ovinos e caprinos. *Ind Econ*. 2011;39(2):97-114.
4. Calfeffe JLR, Langoni H. Qualidade do leite: uma meta a ser atingida. *Vet Zootec*. 2015;22(2):151-61.
5. Gomes SF. Qualidade do leite cru de ovinos da área geográfica de produção do Queijo Terrincho DOP (Trás-os-Montes): dos fatores de produção animal à qualidade do queijo [dissertação]. Bragança: Instituto Politécnico de Bragança; 2012.
6. Rodrigues ARF. Otimização do processo de fabrico de um queijo de ovelha amanteigado [dissertação]. Porto: Faculdade de Ciências; 2014.
7. Souza ACKOD, Osório MTM, Osório JCDS, Oliveira NMD, Vaz CMS, Souza M et al. Produção, composição química e características físicas do leite de ovinos da raça Corriedale. *Rev Bras Agrociência*. 2005;11(1):73-7. <https://doi.org/10.18539/CAST.V11I1.1173>
8. Rossi EM, Zilli D, Scapin D, Roza-Gome MF, Gelinski JMLN. Avaliação da qualidade microbiológica de queijos Minas Frescal comercializados em supermercados da região extremo-oeste de Santa Catarina, Brasil. *Evidência*. 2010;10(1-2):105-14.
9. El-Jakee JK, Aref NE, Gomaa A, El-Hariri M, Galal HM, Sherif AO et al. Emerging of coagulase negative staphylococci as a cause of mastitis in dairy animals: an environmental hazard. *Int J Vet Sci Med*. 2013;1(2):74-8. <https://doi.org/10.1016/j.ijvsm.2013.05.006>
10. Mallet A. Quantificação e identificação de *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Aeromonas hydrophila* em água de propriedades leiteiras [dissertação]. Lavras: Universidade Federal de Lavras; 2007.
11. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BR). Instrução Normativa nº 62, de 29 de dezembro de 2011. Aprova o regulamento técnico de produção, identidade e qualidade do leite tipo a, o regulamento técnico de identidade e qualidade de leite cru refrigerado, o regulamento técnico de identidade e qualidade de leite pasteurizado e o regulamento técnico da coleta de leite cru refrigerado e seu transporte a granel. *Diário Oficial União*. 29 dez 2011.
12. Chaves ACS. Leite. In: Koblitz MGB. *Matérias primas alimentícias: composição e controle de qualidade*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2011. p. 148-84.
13. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BR). Instrução Normativa nº 68, 12 de dezembro de 2006. Oficializar os métodos analíticos oficiais físico-químicos, para controle de leite e produtos lácteos. *Diário Oficial União*. 14 dez 2006.
14. AquaLab. Aqualab series 4TE: atividade de água por ponto de orvalho. São José dos Camps: AquaLab; 2016[acesso 19 jul 2016]. Disponível em: <http://aqualab.decagon.com.br/produtos/analizadores-de-atividade-de-de-agua/aqualab-series-4te-atividade-de-agua-por-ponto-de-orvalho/>
15. Instituto Adolfo Lutz. Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz: Métodos químicos e físicos para análise de alimentos. São Paulo: IMESP; 2006.
16. International Dairy Federation. ISO 5764:2002. Milk - Determination of freezing point - Thermistor cryoscope method. Brussels: IDF, 2002.



17. Silva DN, Junqueira VCA, Silveira NFDA, Taniwaki MH, Santos RFSD, Gomes RAR. Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água. São Paulo: Varela; 2007.
18. Silva FAZ, Azevedo CAV. Principal components analysis in the software assistat-statistical attendance. Proceedings of the 7th World Congress on Computers in Agriculture; 2009 Jun 22-24; Reno, Nevada. St. Joseph: American Society of Agricultural and Biological Engineers; 2009.
19. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Instrução Normativa nº 37, de 31 de outubro de 2000. Aprovar o regulamento técnico de identidade e qualidade de leite de cabra. Diário Oficial União. 31 out 2000.
20. Gonzaga N, Daniel GC, Marezel J, Rodrigues L, Marioto M, Tamanini R et al. Evolução da qualidade microbiológica e físico-química do leite pasteurizado. Semina: Ciên Biol Saúde. 2015;36(1):47-54. <https://doi.org/10.5433/1679-0367.2015v36n1p47>
21. Nespolo CR, Brandelli A. Characterization of cheeses produced with ovine and caprine milk and microbiological evaluation of processing areas in the dairy plant in Brazil. Int Food Res J. 2012;19(4):1713-21.
22. Nespolo CR, Taffarel LAS, Brandelli A. Parâmetros microbiológicos e físico-químicos durante a produção e maturação do queijo Fascal. Acta Scientiae Veterinariae. 2009;37(4):323-8.
23. Garnica MLD, Santos JA, Gonzalo AC. Influence of storage and preservation on microbiological quality of silo ovine milk. J Dairy Sci. 2011;94(4):1922-7. <https://doi.org/10.3168/jds.2010-3787>.
24. European Union. Council Directive 92/46/ECC of 16 June 1992. Laying down the health rules for the production and placing on the market of raw milk, heat-treated milk and milk-based products. Diario Oficial Comunidades Europeas. 16 Jun 1992.
25. Jay JM. Microbiologia dos alimentos. Porto Alegre: Artmed; 2005.
26. Dürr JW. Como produzir leite de qualidade. Brasília: Senar; 2012.
27. Nörnberg MDFBL, Tondo EC, Brandelli A. Bactérias psicrotóricas e atividade proteolítica no leite cru refrigerado. Acta Scientiae Veterinariae. 2009;37(2):157-63.
28. Raynal-Ljutovac K, Pirisi A, Crémoux R, Gonzalo C. Somatic cells of goat and sheep milk: Analytical, sanitary, productive and technological aspects. Small Rumin Res. 2007;68(1-2):126-44. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2006.09.012>
29. Salina A, Machado GP, Guimaraes FDF, Langoni H. Sensibilidade microbiana de *Staphylococcus* spp. Isolados de leite de cabras com mastite subclínica. Vet Zootec. 2015;22(2):288-94.
30. Brandão MLL, Rosas CDO, Bricio SML, Costa JDCBD, Medeiros VDM, Warnken MB. Produção de materiais de referência para avaliação de métodos microbiológicos em alimentos: estafilococos coagulase positiva e *Listeria* spp. em leite em pó. Analytica. 2013;63(3):60-70.
31. Brito MA, Gonzalez FD, Ribeiro LA, Campos R, Lacerda L, Barbosa PR, et al. Composição do sangue e do leite em ovinos leiteiros do sul do Brasil: variações na gestação e na lactação. Ciênc Rural. 2006;36(3):942-8. <https://doi.org/10.1590/S0103-84782006000300033>
32. Park YW, Juárez M, Ramos M, Haenlein GFW. Physico-chemical characteristics of goat and sheep milk. Small Rum Res. 2007;68(1-2):88-113. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2006.09.013>
33. Fava LW, Kulkamp-Guerreiro IC, Pinto AT. Rendimento de coalhada obtida a partir de leite fresco, refrigerado e congelado de ovelha da raça Lacaune e característica física do soro obtido. Ciênc Rural. 2014;44(5):937-42. <https://doi.org/10.1590/S0103-84782014000500028>
34. Ticiani E, Sandri, EC, Souza JD, Batistel F, Oliveira DED. Persistência da lactação e composição do leite em ovelhas leiteiras das raças Lacaune e East Friesian. Ciênc Rural. 2013;43(9):1650-3. doi:10.1590/S0103-84782013000900018
35. Cosentino C, Paolino R, Freschi P, Calusso AM. Jenny milk as an inhibitor of late blowing in cheese: a preliminary report. J Dairy Sci. 2013;96(6):3547-50. <https://doi.org/10.3168/jds.2012-6225>
36. Ramos CL. Caracterização de *Lactobacillus* spp. e desenvolvimento de um sistema de simulação de sobrevivência bacteriana no trato gastrointestinal [tese]. Lavras: Universidade Federal de Lavras; 2013.
37. Pinheiro KG. Características físico-químicas do leite caprino na época seca e chuvosa na microrregião de Mossoró-RN [dissertação]. Mossoró: Universidade Federal Rural do Semiárido; 2012.
38. Malho EL. Análise físico química comparativa entre leite de ovelha Lacaune e leite de vaca Jersey no oeste do Paraná [monografia]. Curitiba: Universidade Tuiuti do Paraná; 2012.
39. Morand-Fehr P, Fedele V, Decandia M, Frileux Y. Influence of farming and feeding systems on composition and quality of goat and sheep milk. Small Rum Res. 2007;68 (1-2) 20-34. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2006.09.019>

Conflito de Interesse

Os autores informam não haver qualquer potencial conflito de interesse com pares e instituições, políticos ou financeiros deste estudo.



Esta publicação está sob a licença Creative Commons Atribuição 3.0 não Adaptada. Para ver uma cópia desta licença, visite http://creativecommons.org/licenses/by/3.0/deed.pt_BR.