



UNIVERSIDADE  
ESTADUAL DE LONDRINA

---

EDSON ANTONIO RIOS

**CARACTERIZAÇÃO MICROBIOLÓGICA E FÍSICO-  
QUÍMICA DO LEITE CRU DE CABRA PRODUZIDO NO  
ESTADO DO PARANÁ**

---

Londrina  
2014

EDSON ANTONIO RIOS

**CARACTERIZAÇÃO MICROBIOLÓGICA E FÍSICO-  
QUÍMICA DO LEITE CRU DE CABRA PRODUZIDO NO  
ESTADO DO PARANÁ**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciência Animal da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Vanerli Beloti.

Londrina  
2014

**Catálogo elaborado pela Divisão de Processos Técnicos da Biblioteca Central da  
Universidade Estadual de Londrina**

**Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)**

R586c Rios, Edson Antonio.

Caracterização microbiológica e físico-química do leite cru de cabra produzido no estado do Paraná / Edson Antonio Rios. – Londrina, 2014.  
69 f. : il.

Orientador: Vanerli Beloti

Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, 2014.

Inclui bibliografia.

1. Leite de cabra – Microbiologia – Teses. 2. Leite de cabra – Propriedades físico-química – Teses. 3. Leite de cabra – Qualidade – Paraná – Teses. 4. Microorganismos – Teses. I. Beloti, Vanerli. II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal. III. Título.

CDU 637.1:579

EDSON ANTONIO RIOS

**CARACTERIZAÇÃO MICROBIOLÓGICA E FÍSICO-QUÍMICA DO  
LEITE CRU DE CABRA PRODUZIDO NO ESTADO DO PARANÁ**

Dissertação apresentada ao programa de pós-graduação em ciência animal da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial para obtenção do título de mestre.

**BANCA EXAMINADORA**

---

Orientadora Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Vanerli Beloti  
Universidade Estadual de Londrina - UEL

---

Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Lucienne Garcia Pretto-Giordano  
Universidade Estadual de Londrina - UEL

---

Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Tereza Cristina Rocha Moreira de Oliveira  
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Londrina, 30 de setembro de 2014.

RIOS, Edson Antonio. **Caracterização microbiológica e físico-química do leite cru de cabra produzido no estado do Paraná**. 2014. 69 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2014.

## RESUMO

O presente estudo teve por objetivo caracterizar a composição físico-química e microbiológica do leite cru de cabra produzido no estado do Paraná. Foram obtidas 32 amostras, logo após a ordenha, provenientes de oito propriedades, que juntas produzem cerca de 24% do leite de cabra produzido no Paraná. Para caracterização microbiológica foram quantificados micro-organismos aeróbios mesófilos, psicotróficos, coliformes totais, *Escherichia coli*, *Staphylococcus* coagulase positiva, proteolíticos, *Pseudomonas* spp., termodúricos mesófilos, termodúricos psicotróficos e a presença de *Listeria monocytogenes* e *Salmonella* spp.. Foi realizada ainda, a prova de lactofermentação. Para determinar as características físico-químicas foram realizadas as análises de acidez Dornic (°D), densidade, detecção de fosfatase e peroxidase, pH, crioscopia, prova da fervura, quantificação de gordura, proteína, lactose, sólidos totais, ureia e a contagem de células somáticas. Os resultados demonstraram contagens de aeróbios mesófilos dentro dos limites legais, embora as contagens de coliformes totais, tenham indicado elevada contaminação ambiental. Não foi detectada a presença de *Listeria monocytogenes* e de *Salmonella* spp. Micro-organismos proteolíticos predominaram na microbiota do leite de cabra, indicando uma rápida deterioração do produto. Em relação a qualidade físico-química 90,63% das amostras apresentaram alguma irregularidade, entretanto as médias das análises manteve-se dentro dos padrões determinados pela legislação. O leite cru de cabra produzido no Paraná apresenta altas contagens de coliformes, apesar de atender aos limites de aeróbios mesófilos na maioria das propriedades. A qualidade físico-química teve variações circunstanciais entre as amostras quanto à lactose, proteína, gordura, demonstrando a necessidade de mais estudos sobre a normalidade da composição físico-química do leite de cabra.

**Palavras-chave:** Leite de cabra. Micro-organismo indicadores. Micro-organismos deteriorantes. Características físico-química.

RIOS, Edson Antonio. **Characterization microbiological and physicochemical raw goat milk produced in state of Paraná.** 2014. 69 p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2014.

### ABSTRACT

The present study aimed to characterize the physicochemical and microbiological composition of raw goat milk produced in the state of Paraná. 32 samples were obtained immediately after milking from eight properties, which together produce about 24% of goat milk produced in Paraná. For characterization microbiological were quantify microorganisms mesophilic aerobes, psychrotrophic, coliforms, *Escherichia coli*, coagulase-positive staphylococci, proteolytic, *Pseudomonas* spp, thermotolerant mesophilic, psychrotrophic thermotolerant and the presence of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* spp.. It was also performed, lactofermentation test. For determine the physicochemical characteristics were analyzed Dornic acidity, density, detection of phosphatase and peroxidase, pH, freezing point, boiling test, the measurement of fat, protein, lactose, total solids, urea and somatic cell count. The results showed counts of mesophilic aerobes within legal limits, though the counts of coliforms have indicated high environmental contamination. We did not detect the presence of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* spp. Microorganisms proteolytic were the predominant microflora of goat milk, indicating a rapid deterioration of the product. Regarding the physicochemical quality 90.63% of the samples showed some irregularity, however, average analyzes remained within the standards set by law. Raw goat milk produced in Paraná has high coliform counts, although meet the limits of mesophilic aerobes at most properties. The physicochemical quality had circumstantial variations between samples for lactose, protein, fat, demonstrating the need for further studies on the normality of physicalchemical composition of goat milk.

**Keywords:** Goat milk. Microorganism indicators. Physicochemical characteristics. Spoilage microorganisms.

## SUMÁRIO

<b>ESTADO DA ARTE</b> .....	9
<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	10
1.1 PRODUÇÃO DE LEITE DE CABRA .....	10
1.2 MICRO-ORGANISMOS INDICADORES.....	11
1.2.1 Bactérias Aeróbias Mesófilas .....	12
1.2.2 Coliformes Totais .....	13
1.2.3 Coliformes Fecais e <i>Escherichia Coli</i> .....	14
1.2.4 <i>Staphylococcus</i> Coagulase Positiva.....	15
1.3 MICRO-ORGANISMOS DETERIORANTES .....	15
1.3.1 Proteolíticos.....	15
1.3.2 Psicrotróficos.....	16
1.3.3 <i>Pseudomonas</i> spp. ....	17
1.3.4 Micro-Organismos Termodúricos .....	18
1.4 MICRO-ORGANISMOS PATOGÊNICOS .....	19
1.4.1 <i>Listeria Monocytogenes</i> .....	19
1.4.2 <i>Salmonella</i> spp.....	20
1.5 CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS .....	20
1.5.1 Acidez e pH .....	21
1.5.2 Densidade .....	21
1.5.3 Índice Crioscópico.....	22
1.5.4 Lactose, Gordura e Proteína .....	22
1.5.5 Sais Minerais e Vitaminas .....	23
1.6 CÉLULAS SOMÁTICAS.....	24
1.7 O LEITE DE CABRA NO BRASIL .....	24
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	26
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	33
2.1 OBJETIVO GERAL .....	33
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	33

<b>3</b>	<b>ARTIGO 1 - CARACTERIZAÇÃO MICROBIOLÓGICA E FÍSICO-QUÍMICA DO LEITE CRU DE CABRA PRODUZIDO NO ESTADO DO PARANÁ</b> .....	34
3.1	RESUMO .....	35
3.2	ABSTRACT .....	36
3.3	INTRODUÇÃO.....	37
3.4	MATERIAL E MÉTODOS.....	38
3.5	RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	40
3.6	CONCLUSÃO.....	48
3.7	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	48
<b>4</b>	<b>ARTIGO-2 MICRO-ORGANISMOS DETERIORANTES EM LEITE CRU DE CABRA</b> .....	52
4.1	RESUMO .....	53
4.2	ABSTRACT .....	54
4.3	INTRODUÇÃO.....	55
4.4	MATERIAL E MÉTODOS.....	56
4.5	RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	57
4.6	CONCLUSÃO.....	61
4.7	REFERÊNCIAS .....	61
<b>5</b>	<b>CONCLUSÃO</b> .....	64
	<b>APÊNDICES</b> .....	65
	APÊNDICE A .....	66
	APÊNDICE B.....	68

**ESTADO DA ARTE**

# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 PRODUÇÃO DE LEITE DE CABRA

No cenário agrícola mundial, é notória a evolução da caprinocultura leiteira. Em determinados países, os sistemas de criação, transformação e distribuição encontram-se em estágio avançado de desenvolvimento (GONÇALVES et al., 2008). A caprinocultura leiteira é umas das atividades rurais que mais se desenvolve no cenário agropecuário mundial. Dados obtidos na *Food and Agriculture Organization* (FAO) mostram que entre 1997 e 2007 essa atividade cresceu 18%, a segunda que mais se desenvolve (FAOSTAT, 2010).

No Brasil a caprinocultura leiteira é uma atividade econômica relativamente recente, e contribui com aproximadamente 1,3% do leite produzido no mundo (FAOSTAT, 2010). Em 2010, a FAO (FAOSTAT, 2010) estimou o rebanho caprino brasileiro em 9 milhões de cabeças e a produção nacional em 150 mil toneladas de leite.

Com cerca de 90% de todo rebanho caprino nacional, a região nordeste se coloca como a maior portadora de caprinos do país. A produção comercial de leite de cabras teve início apenas na década de 70 nas regiões Sul e Sudeste. No entanto, a região Sudeste produziu 65% de todo leite caprino brasileiro, se tornando o grande polo nacional da atividade (CORDEIRO; CORDEIRO, 2009).

O estado do Paraná possui um rebanho caprino com cerca de 125 mil cabeças, sendo que aproximadamente 1300 cabras são ordenhas com uma produção de leite ao redor de 358 mil litros, porém, somente 130 mil litros foram comercializados (IBGE, 2006).

A criação de caprinos no estado do Paraná vem se mostrando uma ótima alternativa de renda extra para pequenos e médios produtores. Porém, a intensificação do sistema se faz necessária visando maior produtividade e sustentabilidade do sistema (BIEZUS et al., 2012). Todavia, por mais simples que seja alterar manejo e implantar tecnologias, a falta de pesquisa e o pouco conhecimento científico relacionado à caprinocultura dificulta a transmissão de informações para o campo (BORGES et al., 2012).

A caprinocultura vem despertando grande interesse dos pecuaristas nos últimos anos por se tratar de um nicho de mercado diferenciado tanto para carne como para leite. De maneira pontual, a produção de leite ganha atenção especial, já que este leite apresenta composição química rica em nutrientes e elevada digestibilidade (PELLEGRINI, 2012). Em várias regiões brasileiras existem produtos lácteos caprinos inspecionados, como

leite pasteurizado, leite em pó, leite UHT, iogurtes, doces e queijos (RESENDE; TOSETTO, 2004).

Apesar do leite de cabra apresentar características interessantes aos consumidores, a caprinocultura leiteira ainda enfrenta vários desafios de produção. A obtenção de leite de cabra com qualidade e segurança depende diretamente da manutenção de condições higiênico-sanitárias adequadas na obtenção da matéria-prima, no seu processamento e comercialização. A fim de responder a essa necessidade, critérios de qualidade foram estabelecidas em muitos países, com parâmetros higiênicos, tecnológicos e sensoriais (RIBEIRO; RIBEIRO, 2010). No Brasil, os parâmetros de qualidade e exigências de produção do leite de cabra foram publicados na Instrução Normativa nº 37 (IN 37) (BRASIL, 2000). Essa legislação foi criada com objetivo de regulamentar as condições de produção, a identidade e os requisitos mínimos de qualidade do leite de cabra destinado ao consumo humano em âmbito nacional. Essa legislação fixou as condições adequadas de produção, procedimentos de higiene de produção, de estocagem e transporte do leite cru e beneficiado, os padrões de contaminação bacteriana para o leite cru e beneficiado, e normas para beneficiamento do leite. Ainda, estabelece a necessidade de adoção das Boas Práticas de Fabricação (BPF) (BRASIL, 1997) pelos estabelecimentos elaboradores do produto.

## 1.2 MICRO-ORGANISMOS INDICADORES

Os micro-organismos indicadores são grupos de micro-organismos usados para sinalizar a qualidade ou a higiene com que o alimento foi produzido. O conceito de organismo indicador, é relacionado a algo que está tão estritamente associado a determinadas condições, que a sua presença é indicativa da existência dessas condições (TORTORELLO, 2003). Podem fornecer informações sobre a ocorrência de contaminação de origem fecal, sobre a provável presença de patógenos ou sobre a deterioração potencial do alimento, além de poderem indicar condições sanitárias inadequadas durante o processamento, produção ou armazenamento (FRANCO; LANDGRAF, 2008). Estes micro-organismos são importantes em testes microbiológicos realizados por agências reguladoras e pela indústria de alimentos (TORTORELLO, 2003).

Por vezes, a presença de um organismo indicador sozinho é motivo de preocupação; em outros casos, é a quantidade que é significativa. Os micro-organismos indicadores devem ser sempre avaliados em um contexto apropriado, tendo em conta a ecologia microbiana natural, fatores físicos e químicos que podem influenciar o crescimento

microbiano, a história do processo e as condições de armazenamento do produto (TORTORELLO, 2003). A maioria dos indicadores confiáveis para qualidade de alimentos tende a ser produto-específico (JAY, 2005).

Segundo a ICMSF (2002) deve ser considerado sete fatores quando for escolher um micro-organismos indicador:

- A presença do indicador deve sugerir um processo ou prática defeituosa, ou um potencial de deterioração do produto.
- Sobrevivência ou estabilidade do indicador deve ser semelhante ou maior do que o micro-organismo de deterioração ou risco.
- Características de crescimento do indicador deve ser semelhante ou mais rápido do que o micro-organismo de deterioração ou risco.
- As características que identificam o micro-organismo indicador deve ser estável.
- Método de detecção e/ou quantificação deve ser fácil, rápida, de baixo custo, confiável, sensível e validado; sem riscos para o analisador; e adequado para uso na indústria.
- Os resultados quantitativos deve mostrar uma correlação entre a concentração do indicador e do nível de micro-organismo de deterioração ou risco.
- Os resultados devem ser aplicáveis para o processo de controle.

Entre os indicadores comumente utilizados para qualidade higiênico-sanitária dos alimentos, encontram-se as contagens de aeróbios mesófilos, coliformes totais, *Escherichia coli*, e os *Staphylococcus* coagulase-positiva (TORTORELLO, 2003).

### 1.2.1 Bactérias Aeróbias Mesófilas

O grupo dos aeróbios mesófilos é um dos indicadores mais utilizados (TORTORELLO, 2003), é formado por todos aqueles micro-organismos capazes de crescerem em temperaturas entre 20 a 45°C, com uma temperatura ótima de 37°C, em condições de aerobiose (FRANCO; LANDGRAF, 2008; JAY, 2005), presentes tanto sob a forma vegetativa quanto esporulada (HAYES; HAYES, 1992; SIQUEIRA, 1995). Esses micro-organismos indicam a qualidade com que o alimento foi obtido ou processado, e sua presença em altas contagens é indicativa de procedimento higiênico inadequado na produção,

no beneficiamento ou na conservação, dependendo da origem da amostra. Também é necessário considerar que todas as bactérias patogênicas de origem alimentar são mesófilas e, portanto, uma alta contagem desse grupo pode significar que houve problemas na conservação e/ou transporte, que criou condições para o crescimento de patógenos (FRANCO; LANDGRAF, 2008). Porém este grupo não pode ser usado como indicador de segurança de alimentos (TORTORELLO, 2003).

A contagens de aeróbios mesófilos é o principal parâmetro para avaliar a qualidade e higiene do leite (FREITAS; NERO; CARVALHO, 2009). O controle das bactérias mesófilas é bastante simples, bastando apenas que o leite seja produzido sob condições higiênicas adequadas e que seja resfriado imediatamente após a ordenha. Nessas condições de leite resfriado, os mesófilos não conseguem se multiplicar (FONSECA; SANTOS, 2007). A IN 37, que regulamenta a produção de leite de cabra no Brasil, determina uma contagem máxima para aeróbios mesófilos de 500.000 UFC/mL (BRASIL, 2000).

### 1.2.2 Coliformes Totais

Coliformes podem ser definidos como bactérias Gram-negativas, oxidase-negativa, aeróbica ou anaeróbica facultativas, bacilos não formadores de esporos, que podem crescer na presença de sais biliares, e que fermentam a lactose com a produção de ácido e gás dentro de 48 horas a 37°C (ROMPRÉ et al., 2002). Outra característica que pode ser utilizada é a presença do gene que codifica a produção  $\beta$ -galactosidase, enzima que cliva a lactose em glicose e galactose (THE; ENVIRONMENT, 1994).

Este grupo é composto por bactérias da família *Enterobacteriaceae* (FRANCO; LANDGRAF, 2008), representado pelos gêneros *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Hafnia*, *Klebsiella*, *Serratia* e *Yersinia* (HORAN, 2003; SILVA et al., 2010), incluindo cerca de 20 espécies, dentre as quais encontram-se tanto bactérias originárias do trato gastrointestinal de humanos e outros animais de sangue quente, como também diversos gêneros e espécies de bactérias não entéricas (SILVA et al., 2010). Assim, um teste de coliformes positivo não indica necessariamente contaminação fecal. A presença destes micro-organismos geralmente é considerada como contaminação ambiental (SPERLING, 2007), usado como índice de contaminação durante e/ou pós processamento (ARAÚJO; ARAÚJO, 2010). Contagens superiores a 1000 UFC/mL no leite cru indicam falha de higiene na ordenha (MARTINS; LIMA, 2013).

### 1.2.3 Coliformes Fecais e *Escherichia Coli*

Os coliformes termotolerantes são um subgrupo de micro-organismos pertencentes ao grupo dos coliformes totais (PARUCH; MAEHLUM, 2012). A característica que os distingue é que os termotolerantes são resistentes a temperaturas elevadas e, portanto, são capazes de crescer e fermentar a lactose a 44-45,5°C (FRANCO; LANDGRAF, 2008; SPERLING, 2007). Apesar de ser conhecido também como coliformes fecais, este grupo inclui os micro-organismos que podem estar presentes no ambiente, além das fezes, (*Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp. e *Citrobacter* spp.) (SPERLING, 2007; STEVENS; ASHBOLT; CUNLIFE, 2003), por isso a presença deste grupo não garante uma contaminação fecal (PARUCH; MAEHLUM, 2012).

A *Escherichia coli* é a principal bactéria dentro do grupo dos coliformes termotolerantes, sendo facilmente distinguida desse pela presença da enzima  $\beta$ -glucuronidase (PEPPER; GERBA; GENTRY, 2014) ela geralmente coloniza o trato gastrointestinal dos seres humanos e animais de sangue quente e está presente em grande número nas fezes, em concentrações de  $10^9$  por grama de matéria fecal (EDBERG et al., 2000). Sendo parte da microbiota intestinal, é transmitida para o meio ambiente através das fezes. Como parte da microbiota normal do intestino, a maioria das cepas de *Escherichia coli* não são patogênicas. No entanto, existem também as cepas associadas com doenças em humanas e animais (PARUCH; MAEHLUM, 2012).

Embora algumas cepas de *Escherichia coli* sejam patogênicas, a ocorrência de *Escherichia coli* no ambiente não resulta necessariamente em uma ameaça de doença. No entanto, a sua presença revela contaminação com matéria fecal (HALLER et al., 2009). A *Escherichia coli* é o único membro dos coliformes totais e termotolerantes que é exclusivamente de origem fecal, e não se multiplica bem no ambiente (EDBERG et al., 2000). Também é o único membro do grupo dos coliformes que satisfaz a maioria dos critérios como micro-organismo indicador ideal para contaminação fecal: exclusivamente de origem fecal, presentes em grande número nas fezes de humanos e animais de sangue quente, presente no esgoto, mas não cresce em águas naturais, e facilmente detectável através de métodos simples (THE; ENVIRONMENT, 1994). No leite cru contagens superiores 100 UFC/mL são indicativas de deficiência de higiene durante o procedimento de ordenha (MARTINS; LIMA, 2013).

#### 1.2.4 *Staphylococcus* Coagulase Positiva

O gênero *Staphylococcus*, pertence à família *Staphylococcaceae*, são bactérias Gram positivas, anaeróbicas facultativas, que se apresentam sob o agrupamento em cachos de uva (BROOKS et al., 2011). Neste gênero se incluem 49 espécies e 26 subespécies (EUZÉBY, 1997). As espécies do gênero *Staphylococcus* são classificados em grupos de acordo com a capacidade de sintetizar a enzima coagulase. O grupo dos *Staphylococcus* coagulase positiva é composto por 8 espécies (*S. aureus*, *S. schleiferi subsp. coagulans*, *S. intermedius*, *S. pseudointermedius*, *S. delphini*, *S. lutrae*, *S. hyicus* e *S. agnetis*). As demais espécies não coagulam o plasma e são denominadas de *Staphylococcus* coagulase negativa (FRENEY et al., 1999).

*Staphylococcus* são largamente disseminados no ambiente, sendo o homem e outros animais seu principal reservatório, e estão presentes na mucosa nasal, garganta, pele e cabelos (DE BUYSER et al., 1998). Portanto, sua presença nos alimentos é interpretada como indicativo de contaminação por manipuladores (SIQUEIRA, 1995).

Algumas espécies de *Staphylococcus* coagulase positiva podem ser encontradas em laticínios, e serem responsáveis por sérias intoxicações alimentares, devido às toxinas que se formam durante as fases de processamento e armazenamento dos produtos (PERRY, 2004). Considera-se que contagens superiores de  $10^5$  de *Staphylococcus aureus*, principal representante do grupo coagulase positiva, esteja relacionadas a intoxicações alimentares, caso as cepas sejam produtoras de enterotoxinas (SANTANA et al., 2010).

### 1.3 MICRO-ORGANISMOS DETERIORANTES

#### 1.3.1 Proteolíticos

Os micro-organismos proteolíticos constituem um grupo heterogêneo que produzem enzimas extracelulares com atividade proteolítica que irão resultar em alterações de sabor, redução da qualidade nutricional e diminuição do tempo de vida útil. As espécies proteolíticas mais comuns estão nos gêneros *Bacillus*, *Clostridium*, *Pseudomonas* e *Proteus* (SABEDOT et al., 2011).

Várias bactérias presentes no leite cru pode produzir proteases (FOX, 1981). Entre elas, as psicrotóxicas, que produzem enzimas sob refrigeração, e causam os mais graves problemas (LAW, 2009; COUSIN, 1982).

A atividade psicrotrófica-proteolítica expressa-se, principalmente, sobre as caseínas, degradando-as e promovendo a agregação das micelas do leite (NÖRNBERG; TONDO; BRANDELLI, 2009). As proteinases produzidas por essa microbiota são termoestáveis, mantêm-se íntegras e ativas após o tratamento térmico, e os prejuízos econômicos decorrentes dessa atividade são consideráveis, pois ocorre redução do rendimento na produção de derivados, limitação da vida de prateleira, além de alteração de sabor, odor e aparência (IZIDORO et al., 2013).

### 1.3.2 Psicrotróficos

A qualidade do leite cru e de produtos lácteos foi consideravelmente melhorada pela sua refrigeração em fazendas e em fábricas de processamento, reduzindo a taxa de deterioração por micro-organismos mesófilos. No entanto, as atuais práticas de refrigeração, coleta e armazenamento do leite cru não controlam o crescimento de bactérias psicrotróficas, que são capazes de crescer abaixo de 7°C, independentemente da sua temperatura ótima de crescimento. Os psicrotróficos presentes no leite refrigerado incluem bactérias Gram negativas e Gram positivas e incluem diversos gêneros: *Pseudomonas*, *Aeromonas*, *Acinetobacter*, *Alcaligenes*, *Achromobacter*, *Flavobacterium*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Corynebacterium*, *Microbacterium*, *Micrococcus* (micro-organismos termodúrico psicrotrófico), coliformes, como *Escherichia*, *Enterobacter*, *Citrobacter* e *Klebsiella* (FUQUAY; FOX; MCSWEENEY, 2011; MARTH; STEELE, 2001; SØRHAUG; STEPANIAK, 1997; SHAH, 1994).

A maioria das bactérias psicrotróficas encontradas no leite são inativadas pela pasteurização. No entanto, muitas dessas bactérias produzem lipases e proteases resistentes ao calor que degradam lipídios e proteínas do leite (MARCHAND et al., 2009a; TEH et al., 2011). A atividade dessas proteases residuais resulta em problemas tecnológicos, como a gelificação em leite tratado por ultra alta temperatura (UHT), a instabilidade térmica do leite, o *off-flavor* de alguns produtos lácteos, e uma redução de rendimento na fabricação de queijo (CELESTINO; IYER; ROGINSKI, 1997). Em suma, psicrotróficos desempenham um papel de liderança na deterioração do leite e dos produtos refrigerados. O número de psicrotróficos que se desenvolvem após a coleta do leite depende da temperatura e do tempo de armazenamento. Em condições sanitárias boas, menos de 10% da microbiota total deve ser de psicrotróficos. Porém, em condições insatisfatórias mais de 75% são bactérias psicrotróficas (COUSIN, 1982). *Pseudomonas* spp. é o psicrotrófico mais frequentemente

relatado no leite cru (DOGAN; BOOR, 2003; GUNASEKERA et al., 2003; WIEDMANN et al., 2000; SHAH, 1994).

### 1.3.3 *Pseudomonas* spp.

Dentre os psicrotróficos, os micro-organismos do gênero *Pseudomonas* são os mais importantes agentes de deterioração do leite (FUQUAY; FOX; MCSWEENEY, 2011), embora não representem mais do que 10% da microbiota do leite cru recém-ordenhado (SØRHAUG; STEPANIAK, 1997). Apresentam um tempo de geração reduzido em temperatura de refrigeração, independentemente de sua temperatura ótima de geração (FUQUAY; FOX; MCSWEENEY, 2011).

*Pseudomonas* spp. são bactérias que conseguem crescer em temperaturas de 0 a 7°C (SØRHAUG; STEPANIAK, 1997), pertencem à família *Pseudomonadaceae*, são bastonetes Gram negativos, aeróbios estritos, embora recentemente algumas espécies foram identificadas como sendo anaeróbios facultativo, não formadores de esporos e possuem um ou mais flagelos polares. Os micro-organismos pertencentes ao gênero *Pseudomonas* apresentam grande diversidade metabólica, o que as torna capazes de colonizar uma ampla variedade de nichos (FUQUAY; FOX; MCSWEENEY, 2011). São micro-organismos ambientais de ocorrência mundial tanto na água como no solo (QUINN et al., 2005), possuem alta capacidade em formar biofilmes, por apresentarem flagelos e fimbrias (SIMÕES; SIMÕES; VIEIRA, 2010). Esses fatores fornecem habilidades para *Pseudomonas* spp. se multiplicar em uma variedade de ambientes, como tubos de alumínio, baldes, torneiras, dentre outros (FUQUAY; FOX; MCSWEENEY, 2011).

Bactérias do gênero *Pseudomonas* predominam entre os psicrotróficos proteolíticos deterioradores do leite cru (CHEN; WEI; CHEN, 2011; MARCHAND et al., 2009b). A contaminação por *Pseudomonas*, inclusive na água que abastece a sala de ordenha, propicia sua presença no leite, bem como o seu desenvolvimento em condições de refrigeração. Além disso, foi detectada a presença de *Pseudomonas* spp. na superfície de tetos (FAGUNDES et al., 2006).

Durante a estocagem do leite cru sob refrigeração esses micro-organismos conseguem se multiplicar e produzir enzimas proteolíticas termorresistentes, que se mantêm viáveis mesmo após processos térmicos empregados na indústria, e promovem a deterioração do leite pasteurizado e outros derivados, como gelatinização e perda de sabor (CHEN;

DANIEL; COOLBEAR, 2003; RAJMOHAN; DODD; WAITES, 2002; SØRHAUG; STEPANIAK, 1997).

#### 1.3.4 Micro-Organismos Termodúricos

O tratamento térmico do leite, especialmente a pasteurização (72 a 75°C por 12 segundos ou 62 a 65°C por 30 minutos), tem como objetivo principal destruir micro-organismos patogênicos (JAY, 2005). Porém, alguns micro-organismos deteriorantes são capaz de resistir a esse tratamento, embora não cresçam a esta temperatura. Os micro-organismos termodúricos que por sobreviverem a pasteurização, podem contaminar o produto, e causar deterioração e defeitos tecnológicos como por exemplo degradação da proteína e *off-flavor* (KHANAL et al., 2014; SILVA; GIBBS, 2010). Várias espécies dos gêneros *Bacillus*, *Microbacterium*, *Micrococcus*, *Enterococcus*, *Lactobacillus* e *Corynebacterium* são descritos como micro-organismos termodúricos (HILEMAN, 1940).

Alguns micro-organismos termodúricos conseguem se desenvolver em temperaturas de refrigeração (7°C), conhecidos como termodúricos psicrotróficos (MANE; GANDHI, 2010). Em uma pesquisa na Índia com 36 isolados de bactérias termodúricas psicrotróficas de leite e derivados, foram identificados as bactérias *Macrococcus equiperficus*, *Exiguobacterium* spp., *Arthrobacter* spp. todas com atividade proteolítica (MANE; GANDHI, 2010).

O conteúdo de micro-organismos termodúricos em leite cru é afetado por fatores regionais e sazonais, e pelos métodos de limpeza e desinfecção dos equipamentos de ordenha e teteiras (HULL et al., 1992). Por essas razões a contagem de micro-organismos termodúricos é recomendada como um indicador de higiene na cadeia do leite. Contagens superiores a 1000 UFC/mL são indicativas de problemas de higiene na produção (FUQUAY; FOX; MCSWEENEY, 2011). Países como Canadá, Austrália, Nova Zelândia e Noruega utilizam essas contagens como bonificação para o pagamento do leite.

Todas essas características tornam esses micro-organismos importantes, por poderem causar uma perda econômica para os produtores, comprometendo a qualidade do leite e seus derivados (THOMAS; PRASAD, 2014).

## 1.4 MICRO-ORGANISMOS PATOGÊNICOS

### 1.4.1 *Listeria Monocytogenes*

O gênero *Listeria* inclui seis espécies: *L. monocytogenes*, *L. innocua*, *L. welshimeri*, *L. seeligeri*, *L. ivanovii* e *L. grayi* (DUERDEN et al., 1998), são bactérias cocobacilos, Gram positivas, não esporuladas, não produtoras de ácidos, anaeróbias facultativas e de ampla distribuição ambiental, isoladas de águas superficiais, de esgotos domésticos, águas residuais de indústrias de laticínios e de abatedouros, de solos, de insetos, de adubo orgânico e em fezes de animais e inclusive de humanos (KONEMAN et al., 1997; MURRAY; ROSENTHAL, 2014).

Entre as espécies de *Listeria* spp. a *L. monocytogenes* é a principal espécie patogênica para animais e seres humanos (MCLAUCHLIN et al., 2004), também é um importante patógeno de origem alimentar com graves problemas de saúde pública. Este agente patogênico é capaz de causar uma doença invasiva grave em humanos com uma elevada taxa de mortalidade, entre 20% e 30%, conhecida como listeriose (CARPENTIER; CERF, 2011).

*L. monocytogenes* contém 13 sorotipos (1/2a, 1/2b, 1/2c, 3a, 3b, 3c, 4a, 4b, 4ab, 4c, 4d, 4e, e 7), sendo que 95% das cepas de *L. monocytogenes* de origem alimentar associadas a listeriose em humanos pertencem aos sorotipos 1/2a, 1/2b, e 4b (KATHARIOU, 2002).

*L. monocytogenes*, é favorecida por sua capacidade de multiplicação entre 0°C e 44°C embora sua faixa ótima seja entre 30°C e 37°C, pode sobreviver em alimentos congelados. Toleram pH extremos de 5 a 9, baixa atividade da água e concentração de NaCl igual ou superior a 10% (MARCO et al., 2000; MARTÍN et al., 2004), e possui ainda capacidade de formar biofilme (GANDHI; CHIKINDAS, 2007). Essas características tornaram a *L. monocytogenes* um importante patógeno associado a alimentos. A contaminação por *L. monocytogenes* é uma das principais causas microbiológicas de recalls de alimentos, principalmente de carnes, aves, frutos do mar e derivados do leite (JEMMI; STEPHAN, 2006). Também é encontrada no leite cru (PITT; HARDEN; HULL, 2000), embora vários pesquisadores relatarem a ausência deste patógeno no leite cru, com altas contagens de aeróbios mesófilos, sugerindo que fatores inerentes a estes leites, como a própria competição microbiana inibam ou dificultem o crescimento de patógenos (MATTOS et al., 2010; NERO et al., 2008).

### 1.4.2 *Salmonella* spp.

*Salmonella* spp. pertence à família das *Enterobacteriaceae* são bacilos Gram negativos de até 3µm de comprimento, fermentam glicose, são oxidase positiva, catalase positiva, anaeróbios facultativos e não formam esporos (QUINN et al., 2005). A taxonomia atual do gênero *Salmonella* é baseada em características bioquímicas, antigênicas (somáticos, flagelares e capsulares) e em técnicas moleculares de análise genética, que divide o gênero em duas espécies: *Salmonella enterica* e *Salmonella bongori*. A *Salmonella enterica* divide-se em seis subespécies chamadas: *enterica*, *salamae*, *arizonae*, *diarizonae*, *hountenae* e *indica*. As subespécies são ainda divididas em sorovares (por exemplo, *S. enterica* subsp. *enterica* sorovar Typhimurium) (MARTELLI; DAVIES, 2012). Os sorovares tipicamente envolvidos em salmonelose em mamíferos, incluindo o homem, quase sempre pertencem à subespécie *enterica* (MARTELLI; DAVIES, 2012).

Já se isolou *Salmonella* spp. a partir de diversos animais, incluindo bovinos, ovinos, suínos, aves e animais de sangue frio, como lagartos (JAY, 2005). É uma das causas mais comuns de toxinfecção alimentar devido a suas características: baixo números de células em alimentos podem causar doença, capaz de crescer em temperaturas entre 8°C a 45° C em alimentos com pH entre 4 e 9 e atividade de água mínima de 0,94 (SILVA; GIBBS, 2012).

Aproximadamente, 1,4 milhões de casos de infecção por *Salmonella* spp. ocorrem em humanos anualmente nos Estados Unidos, resultando em cerca de 16.000 internações com cerca de 600 mortes, o custo total estimado é de bilhões de dólares anualmente (LEE et al., 2015).

*Salmonella* spp. é uma das principais preocupações para a indústria de laticínios, porque essas bactérias têm causado surtos recentes da doença e têm sido isoladas de diversos produtos lácteos no mercado (EL-GAZZAR; MARTH, 1992; KARSHINA et al., 2013).

## 1.5 CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS

A IN 37 traz como definição para o leite de cabra o produto oriundo da ordenha completa, ininterrupta, em condições de higiene, de animais da espécie caprina saudáveis, bem alimentados e descansados (BRASIL, 2000). Possui cor branca, sabor e odor característicos, mas não desagradáveis. A sua composição, como ocorre nas demais espécies, é diretamente influenciada por fatores, como raça, idade, estágio de lactação, quantidade de

leite produzido, estado de saúde geral e do úbere, fisiologia, localidade, fatores genéticos e alimentação. A sazonalidade altera muito a composição durante o ano, sendo que no final da lactação apresenta aumento nos teores de gordura, proteína e minerais e redução da lactose (HAENLEIN, 2004).

No Brasil, a IN 37 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) (BRASIL, 2000) regulamenta as condições de produção, a identidade e os requisitos mínimos de qualidade do leite de cabra destinado ao consumo humano. Estabelecendo os padrões mínimos para densidade, crioscopia, acidez Dornic, gordura, proteína, lactose, minerais e sólido não gorduroso.

### 1.5.1 Acidez e pH

A acidez do leite decorre da presença de ácidos orgânicos fracos, portanto, a simples medida do pH não permite o cálculo da quantidade de ácido presente. Nos laticínios, a acidez do leite é usualmente expressa em graus Dornic (°D), onde se considera que toda acidez do leite deva-se ao ácido láctico. Um grau Dornic equivale a 0,1g de ácido láctico por litro de leite. No leite de cabras hípidas esse valor varia entre 12 a 16°D, lembrando que no leite congelado, uma das maneiras de comercialização do produto, essa acidez pode variar entre 11 a 18°D (MAGALHÃES, 2005). Pela IN 37, de 2000, a acidez pode variar entre 13 a 18°D para o leite cru de cabra (BRASIL, 2000).

O leite de cabra apresenta um de pH 6,5 a 6,8 (PARK et al., 2007). A capacidade tampão é superior ao leite de vaca, devido a reação alcalina e dificilmente acidifica no estômago humano, o leite caprino pode amenizar alguns problemas digestivos como úlcera e gastrite (COSTA,2002).

### 1.5.2 Densidade

A densidade está relacionada aos sólidos totais presentes no leite, podendo diminuir com a adição de água. A densidade relativa é a relação obtida em comparação com a densidade da água pura 15°C, que é de 1,000 g/mL. Como o volume de qualquer substância varia com a temperatura, é necessário especificar ou padronizar a temperatura (PRATA; FUKUDA, 1998).

Para o leite de cabra, a faixa está situada entre 1.029 a 1.039g/mL dependendo se estes valores relacionam-se a leite individual ou leite de conjunto e também,

varia em função das estações do ano, do estado fisiológico e da raça do animal (PARK et al., 2007). De acordo com a IN 37, de 2000, a densidade medida em 15°C deve estar na faixa de 1,028 a 1,034g/mL (BRASIL, 2000).

A avaliação da densidade pode servir como indicativo de fraude por adição de água. Dentre as causas anormais de variação desse parâmetro, pode se destacar a adição de água, o que leva a uma diminuição na densidade do leite e por outro lado o desnate e a adição de amido que aumentam a densidade (AGNESE et al., 2002).

### 1.5.3 Índice Crioscópico

O índice crioscópico ou ponto de congelamento do leite é de suas características a menos variável, estando ligado à concentração dos componentes solúveis em água. A lactose e os sais contribuem em torno de 75 a 80% da diminuição do ponto de congelamento total, sendo o restante influenciado por outros constituintes hidrossolúveis como cálcio, potássio, magnésio, lactatos, fosfatos, ureia e dióxido de carbono (BRASIL et al., 1999).

A relativa constância do ponto crioscópico do leite e a sua variação proporcional de acordo com a quantidade adicionada, aliados à relativa facilidade de medição, quando comparado com as outras propriedades coligativas das soluções, fazem com que a crioscopia do leite seja o método universalmente aceito para a constatação de fraude por adição de água ao leite (BRASIL et al., 1999)

Segundo Park et al. (2007), o ponto de congelamento do leite de cabra é -0,540 a -0,573 graus Horvet (°H). A IN 37 (BRASIL,2000) estabelece como padrão no Brasil o valor de -0,550 a -0,580°H.

### 1.5.4 Lactose, Gordura e Proteína

Como em vaca, a lactose é o principal carboidrato do leite de cabra. O teor de lactose do leite caprino (4,1%) é inferior ao leite bovino (4,7%), mas não pode ser considerado como uma solução para alimentação de pessoas que sofrem de intolerância à lactose (SILANIKOVE et al., 2010).

O leite de cabra possui de 2,0 a 8,0% de gordura (HAENLEIN, 2004), sendo que a legislação brasileira atual determina que o teor original é de 3,0% podendo ser inferior quando comprovado que o rebanho apresenta teor de gordura menor do que os 3,0%

estabelecidos (BRASIL,2000). A gordura é composta por glóbulos menores e mais dispersos que no leite de vaca, tornando mais rápida a ação das lipases o que confere a alta digestibilidade ao leite de cabra. Ainda apresenta 18% de ácidos graxos de cadeia curta (4 a 10 carbonos), sendo o dobro do leite de vaca, representado pelos ácidos graxos voláteis capríco, caprílico e cáprico aos quais são responsáveis pelo sabor e aroma típicos (PARK et al., 2007).

O leite de cabra pode ter variações no teor de gordura e proteína, consequência da genética, ambiente e sazonalidade (BARRÓN-BRAVO et al., 2013). O leite de cabra apresenta como média 3,4% de proteína (PARK et al., 2007), no Brasil tem como exigência mínima de 2,8% de proteína (BRASIL,2000).

O leite de cabra apresenta proporções similares de  $\kappa$ -caseína com o leite de vaca, mas o leite caprino possui nível superior de  $\beta$ -caseína (53% contra 37,5%) e nível inferior de  $\alpha$ -s1 caseína (15% contra 38%) do que o leite de vaca (CLARK; SHERBON, 2000), o que o torna um produto mais digestível (PARK et al., 2007). A  $\alpha$ -s1 é encontrada em maior quantidade no leite de vaca, e é considerado o responsável pela alergia ao leite. O maior teor de nitrogênio não proteico e menor de nitrogênio ligado à caseína, gera um produto com uma estrutura altamente hidratada, mais aberta e menos firme, gerando baixo rendimento do queijo e uma fraca estrutura e textura dos derivados, no entanto esta relação facilita a digestão do coágulo num menor tempo de transito gástrico (HAENLEIN, 2004).

#### 1.5.5 Sais Minerais e Vitaminas

O conteúdo mineral do leite caprino é superior ao do leite de vaca quanto ao cálcio, fósforo, potássio e magnésio. O maior teor de K e Na favorece ao aparecimento do sabor ligeiramente salgado do leite caprino (BOŽANIĆ; ROGELJ; TRATNIK, 2002). O leite de cabra apresenta menor estabilidade térmica, devido à própria constituição de suas micelas, devido a maiores concentrações de cálcio e fósforo inorgânicos em relação às de origem bovina (JENNESS, 1980). Desta forma, o tratamento térmico deve ser controlado adequadamente para não haver prejuízos à qualidade final do leite.

Quanto às vitaminas, apresenta alto teor das vitaminas A e B, suprimindo adequadamente a necessidade de vitamina A e niacina, e excede de tiamina, riboflavina e ácido pantotênico para bebês (PARK et al., 2007).

## 1.6 CÉLULAS SOMÁTICAS

A contagem de células somáticas (CCS) é usada como indicador de qualidade do leite tanto para vacas como para cabras (HAENLEIN, 1996). Normalmente, a CCS no leite de cabras não infectadas é maior que no leite de vacas não infectadas. A CCS no leite de vacas livres de infecção intramamária é, em geral, inferior a 200.000 células/ml de leite e no leite de cabras não infectadas, inferior a 400.000 células/ml (MCDUGALL et al., 2001).

A CCS mais elevada no leite de cabra é atribuída à maneira como o leite é secretado pela glândula mamária. Na espécie bovina, a glândula mamária é classificada como merócrina pois somente o produto (leite) sintetizado pela glândula é secretado. Na espécie caprina, a glândula é classificada como apócrina, sendo o produto de secreção eliminado juntamente com pequena parte da célula (ZENG, 1996).

Os Estados Unidos permite o valor máximo para CCS de  $10^6$  cel/mL de leite de cabra (CHEN et al., 2010). Devido à falta de estudos no Brasil sobre a normalidade de células somáticas presente no leite de cabra ainda não possuímos um padrão determinado pela legislação.

## 1.7 O LEITE DE CABRA NO BRASIL

No Brasil, assim como no Paraná a caprinocultura leiteira é uma atividade econômica relativamente recente, com um mercado em amplo crescimento. Sendo assim, necessários estudos que determinem e informem sobre as características da produção do leite de cabra no país e no Paraná. A caracterização microbiológica é importante para identificar os grupos de micro-organismos predominantes, bem como sua origem. O estudo de micro-organismos indicadores, auxilia a identificar a origem dos principais grupos contaminantes, possibilitando o controle desta contaminação.

Os micro-organismos deteriorantes determinam a vida útil do leite e o rendimento na produção de derivados como o queijo. O estudo destes micro-organismos permitirá determinar sua origem e controlar a contaminação aumentando a vida útil e a qualidade do leite cru de cabra e seus derivados.

Também são poucos os dados sobre a composição do leite de cabra produzido no Brasil, e suas características físico-químicas. A legislação traz parâmetros que podem diferir dos resultados observados, sem que isso signifique fraudes ou problemas.

Apenas, estes fatores são influenciados pelas condições de produção e sobretudo pela alimentação e raça dos animais, fatores ainda desconhecidos na caprinocultura nacional. O mesmo pode-se dizer da quantidade de células somáticas, que não tem padrão legal.

Essas informações são importantes para o estabelecimento de programas de manejo e implantação de boas práticas assim como para estratégias de melhoria da qualidade do leite de cabra e seus derivados.

## REFERÊNCIAS

- AGNESE, A. P. et al. Avaliação físico-química do leite cru comercializado informalmente no município de Seropédica - RJ. **Higiene Alimentar**, v. 16, n. 94, p. 58–61, 2002.
- ARAÚJO, N. G.; ARAÚJO, P. M. A. G. DE. **Ciência do Leite**, 2010. Disponível em: <<http://www.cienciadoleite.com.br/?action=1&type=0&a=215>>. Acesso em: 3 set. 2014.
- BARRÓN-BRAVO, O. G. et al. Losses in milk yield, fat and protein contents according to different levels of somatic cell count in dairy goats. **Small Ruminant Research**, v. 113, n. 2-3, p. 421–431, jul. 2013.
- BIEZUS, V. et al. Comportamento ingestivo de cabritas em recria suplementadas em pastagem de tifton 85. **Synergismus scyentifica UTFPR**, v. 07, n. 1, p. 7–9, 2012.
- BORGES, G. D. S. et al. Acesso ao creep feeding em diferentes idades. **Synergismus scyentifica UTFPR**, v. 07, n. 1, 2012.
- BOŽANIĆ, R.; ROGELJ, I.; TRATNIK, L. Fermentation and storage of probiotic yoghurt from goat's milk. **Mljekarstvo**, v. 52, n. 2, p. 93–111, 15 abr. 2002.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº 368, de 04/09/1997. Aprova o Regulamento Técnico sobre as condições Higiênico-Sanitárias e de Boas Práticas de Fabricação para Estabelecimentos Elaboradores/Industrializadores de Alimentos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 1997.
- BRASIL, L. H. A. et al. Efeito da temperatura ambiental na densidade e ponto de congelamento do leite de cabra. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 19, n. 3, p. 333–337, dez. 1999.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 37, de 31/10/2000. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite de Cabra. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 2000.
- BROOKS, G. F. et al. **Microbiologia Medica**. 25. ed. Porto Alegre: Artemed, 2011. p. 828.
- CARPENTIER, B.; CERF, O. Review--Persistence of *Listeria monocytogenes* in food industry equipment and premises. **International journal of food microbiology**, v. 145, n. 1, p. 1–8, 31 jan. 2011.
- CELESTINO, E. L.; IYER, M.; ROGINSKI, H. Reconstituted UHT-treated milk: Effects of raw milk, powder quality and storage conditions of UHT milk on its physico-chemical attributes and flavour. **International Dairy Journal**, v. 7, n. 2-3, p. 129–140, fev. 1997.
- CHEN, L.; DANIEL, R. M.; COOLBEAR, T. Detection and impact of protease and lipase activities in milk and milk powders. **International Dairy Journal**, v. 13, n. 4, p. 255–275, jan. 2003.
- CHEN, S. X. et al. Effect of somatic cell count in goat milk on yield, sensory quality, and fatty acid profile of semisoft cheese. **Journal of dairy science**, v. 93, n. 4, p. 1345–54, abr. 2010.

CHEN, T. R.; WEI, Q. K.; CHEN, Y. J. *Pseudomonas* spp. and *Hafnia alvei* growth in UHT milk at cold storage. **Food Control**, v. 22, n. 5, p. 697–701, maio 2011.

CLARK, S.; SHERBON, J. W. Alphas1-casein, milk composition and coagulation properties of goat milk. **Small Ruminant Research**, v. 38, n. 2, p. 123–134, out. 2000.

CORDEIRO, P. R. C.; CORDEIRO, A. G. P. C. **A Produção de leite de Cabra no Brasil e seu mercado**, 2009. Disponível em: <<http://www.caprtec.com.br/pdf/LeitedeCabranoBrasil.pdf>>. Acesso em: 5 set. 2014.

COSTA, A. L. DA. **Leite caprino: um novo enfoque de pesquisa**, 2002. Disponível em: <<http://www.fmvz.unesp.br/fmvz/Informativos/ovinos/utilid09.htm>>. Acesso em: 14 set. 2014.

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

DE BUYSER, M. . et al. Comparison of selective culture media to enumerate coagulase-positive staphylococci in cheeses made from raw milk. **Food Microbiology**, v. 15, n. 3, p. 339–346, jun. 1998.

DOGAN, B.; BOOR, K. J. Genetic Diversity and Spoilage Potentials among *Pseudomonas* spp. Isolated from Fluid Milk Products and Dairy Processing Plants. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 69, n. 1, p. 130–138, 1 jan. 2003.

DUERDEN, B. I. et al. **Topley and Wilson's Microbiology and Microbial Infections, 2 Volume Systematic Bacteriology**. 9. ed. Londo: Arnold, 1998. p. 1377.

EDBERG, S. C. et al. *Escherichia coli*: the best biological drinking water indicator for public health protection. **Symposium series (Society for Applied Microbiology)**, n. 29, p. 106S–116S, jan. 2000.

EL-GAZZAR, F. E.; MARTH, E. H. *Salmonellae*, salmonellosis, and dairy foods: a review. **Journal of dairy science**, v. 75, n. 9, p. 2327–43, set. 1992.

EUZÉBY, J. P. **List of Prokaryotic names with standing in nomenclatura**, 1997. Disponível em: <<http://www.bacterio.net/staphylococcus.html>>. Acesso em: 3 set. 2014.

FAGUNDES, C. M. et al. Presença de *Pseudomonas* spp em função de diferentes etapas da ordenha com distintos manejos higiênicos e no leite refrigerado. **Ciência Rural**, v. 36, n. 2, p. 568–572, abr. 2006.

FAOSTAT. **Food and Agriculture Organization of The United Nations**, 2010. Disponível em: <<http://faostat3.fao.org/faostat-gateway/go/to/home/E>>. Acesso em: 2 set. 2014.

FONSECA, L. F. L. DA; SANTOS, M. V. DOS. **Qualidade microbiológica do leite: métodos de análise e estratégias de controle**, 2007. Disponível em: <[http://paraiso.ifto.edu.br/docente/admin/upload/docs\\_upload/material\\_26df0a43b5.pdf](http://paraiso.ifto.edu.br/docente/admin/upload/docs_upload/material_26df0a43b5.pdf)>. Acesso em: 3 set. 2014.

FOX, P. F. Proteinases in dairy technology. **Netherlands milk and dairy journal**, v.35, p.233-253, 1981.

FRANCO, B. D. G. DE M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos Alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2008. p. 182.

FREITAS, R.; NERO, L. A; CARVALHO, A F. Technical note: enumeration of mesophilic aerobes in milk: evaluation of standard official protocols and Petrifilm aerobic count plates. **Journal of dairy science**, v. 92, n. 7, p. 3069–73, jul. 2009.

FRENEY, J. et al. Recommended minimal standards for description of new staphylococcal species. Subcommittee on the taxonomy of staphylococci and streptococci of the International Committee on Systematic Bacteriology. **International journal of systematic bacteriology**, v. 49 Pt 2, n. 1 999, p. 489–502, abr. 1999.

FUQUAY, J.; FOX, P.; MCSWEENEY, P. **Encyclopedia of Dairy Sciences**. 2. ed. New York: Elsevier, 2011. p. 4170.

GANDHI, M.; CHIKINDAS, M. L. Listeria: A foodborne pathogen that knows how to survive. **International journal of food microbiology**, v. 113, n. 1, p. 1–15, 1 jan. 2007.

GONÇALVES, A. L. et al. Avaliação de sistemas de produção de caprinos leiteiros na Região Sudeste do Brasil. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 37, n. 2, p. 366–376, fev. 2008.

GUNASEKERA, T. S. et al. Specific detection of *Pseudomonas* spp. in milk by fluorescence in situ hybridization using ribosomal RNA directed probes. **Journal of applied microbiology**, v. 94, n. 5, p. 936–45, jan. 2003.

HAENLEIN, G. F. Status and prospects of the dairy goat industry in the United States. **Journal of animal science**, v. 74, n. 5, p. 1173–81, maio 1996.

HAENLEIN, G. F. . Goat milk in human nutrition. **Small Ruminant Research**, v. 51, n. 2, p. 155–163, fev. 2004.

HALLER, L. et al. Distribution and survival of faecal indicator bacteria in the sediments of the Bay of Vidy, Lake Geneva, Switzerland. **Ecological Indicators**, v. 9, n. 3, p. 540–547, maio 2009.

HAYES, P. R.; HAYES, R. **Food Microbiology and Hygiene**. 2. ed. London: Springer Science & Business Media, 1992. v. 1, p. 516.

HILEMAN, J. L. Thermotolerant Bacteria in Pasteurized Milk. A Review of Literature. **Journal of Dairy Science**, v. 23, n. 11, p. 1143–1160, nov. 1940.

HORAN, N. J. **Handbook of Water and Wastewater Microbiology**. 1. ed. California: Elsevier, 2003. p. 105–112.

HULL, R. et al. Thermotolerant bacteria: A re-emerging problem in cheese making. **The Australian Journal of Dairy Technology**, v. 47, p. 91-94, 1992.

IBGE. **IBGE : Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**, 2006. Disponível em: <[http://www.ibge.gov.br/home/pesquisa/pesquisa\\_google.shtm?cx=009791019813784313549:onz63jzsr68&cof=FORID:9&ie=ISO-8859-1&q=leite+de+cabra+parana&sa=Pesquisar&siteurl=www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/agropecuaria/censoagro/2006/defaulttab\\_censoagro.shtm&ref=www.ibge.gov.br/home/es](http://www.ibge.gov.br/home/pesquisa/pesquisa_google.shtm?cx=009791019813784313549:onz63jzsr68&cof=FORID:9&ie=ISO-8859-1&q=leite+de+cabra+parana&sa=Pesquisar&siteurl=www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/agropecuaria/censoagro/2006/defaulttab_censoagro.shtm&ref=www.ibge.gov.br/home/es)>

tatistica/economia/agropecuaria/censoagro/2006/default.shtm&ss=5043j1483933j25>. Acesso em: 2 set. 2014.

ICMSF INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS. **Microorganisms in Foods 7**. New York: Kluwer Academic, 2002. p. 357.

IZIDORO, T. B. et al. Atividade proteolítica de bactérias psicrotróficas em leites estocados em diferentes temperaturas. **Revista Ceres**, v. 60, n. 4, p. 452–457, ago. 2013.

JAY, J. M. **Microbiologia de Alimentos**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. p. 712.

JEMMI, T.; STEPHAN, R. *Listeria monocytogenes*: food-borne Pathogenesis and virulence factors. **Scientific and Technical Review**, v. 25, n. 2, p. 571–580, 2006.

JENNESS, R. Composition and Characteristics of Goat Milk: Review 1968–1979. **Journal of Dairy Science**, v. 63, n. 10, p. 1605–1630, out. 1980.

KARSHINA, N. S. et al. Isolation of Salmonella Species from Milk and Locally Processed Milk Products Traded for Human Consumption and Associated Risk Factors in Kanam, Plateau State, Nigeria. **Journal of Animal Production Advances**, v. 3, n. 3, p. 69, 2013.

KATHARIOU, S. *Listeria monocytogenes* virulence and pathogenicity, a food safety perspective. **Journal of food protection**, v. 65, n. 11, p. 1811–29, nov. 2002.

KHANAL, S. N. et al. Inactivation of thermotolerant aerobic sporeformers in milk by ultrasonication. **Food Control**, v. 37, p. 232–239, mar. 2014.

KONEMAN, E. W. et al. **Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology**. 5. ed. New York: Lippincott-Raven, 1997. p. 1395.

LAW, B. A. Enzymes of psychrotrophic bacteria and their effects on milk and milk products. **Journal of Dairy Research**, v. 46, n. 03, p. 573, 1 jun. 2009.

LEE, K.-M. et al. Review of Salmonella detection and identification methods: Aspects of rapid emergency response and food safety. **Food Control**, v. 47, p. 264–276, jan. 2015.

MAGALHÃES, A. C. M. DE. **Obtenção higiênica e parâmetros de qualidade do leite de cabra**, 2005. Disponível em: <[https://www.dti.ufv.br/dzo/caprinos/artigos\\_tec/hig\\_quali.pdf](https://www.dti.ufv.br/dzo/caprinos/artigos_tec/hig_quali.pdf)>. Acesso em: 14 set. 2014.

MANE, N. V; GANDHI, M. B. Studies on proteolytic thermotolerant psychrotrophic bacteria in milk and fermented milk products. **Journal of Environmental Research And Development**, v. 5, n. 2, p. 384–392, 2010.

MARCHAND, S. et al. Seasonal influence on heat-resistant proteolytic capacity of *Pseudomonas lundensis* and *Pseudomonas fragi*, predominant milk spoilers isolated from Belgian raw milk samples. **Environmental microbiology**, v. 11, n. 2, p. 467–82, fev. 2009a.

MARCHAND, S. et al. Heterogeneity of heat-resistant proteases from milk *Pseudomonas* species. **International journal of food microbiology**, v. 133, n. 1-2, p. 68–77, 31 jul. 2009b.

- MARCO, F. et al. In vitro activities of 22 antimicrobial agents against *Listeria monocytogenes* strains isolated in Barcelona, Spain. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, v. 38, n. 4, p. 259–261, dez. 2000.
- MARTELLI, F.; DAVIES, R. H. Salmonella serovars isolated from table eggs: An overview. **Food Research International**, v. 45, n. 2, p. 745–754, mar. 2012.
- MARTH, E. H.; STEELE, J. **Applied Dairy Microbiology**. 2. ed. New York: Marcel Dekker, 2001. p. 705.
- MARTÍN, B. et al. Quantification of *Listeria monocytogenes* in fermented sausages by MPN-PCR method. **Letters in applied microbiology**, v. 39, n. 3, p. 290–5, jan. 2004.
- MARTINS, E. S.; LIMA, C. M. F. Qualidade microbiológica de leite cru refrigerado obtido de propriedades rurais do município de frutal-mg: comparação das ordenhas mecânica e manual. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, v. 7, n. 1, p. 955–964, 18 mar. 2013.
- MATTOS, M. R. DE et al. Qualidade do leite cru produzido na região do agreste de Pernambuco, Brasil. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 31, n. 1, p. 173, 30 abr. 2010.
- MCDOUGALL, S. et al. Relationships among somatic cell count, California mastitis test, impedance and bacteriological status of milk in goats and sheep in early lactation. **Small ruminant research : the journal of the International Goat Association**, v. 40, n. 3, p. 245–254, jun. 2001.
- MCLAUCHLIN, J. et al. *Listeria monocytogenes* and listeriosis: a review of hazard characterisation for use in microbiological risk assessment of foods. **International journal of food microbiology**, v. 92, n. 1, p. 15–33, 1 abr. 2004.
- MURRAY, P. R.; ROSENTHAL, K. S. **Microbiologia Médica**. 7. ed. London: Elsevier, 2014. p. 1072.
- NERO, L. A et al. *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* spp. in raw milk produced in Brazil: occurrence and interference of indigenous microbiota in their isolation and development. **Zoonoses and public health**, v. 55, n. 6, p. 299–305, ago. 2008.
- NÖRNBERG, M. DE F. B. L.; TONDO, E. C.; BRANDELLI, A. Bactérias psicrotróficas e atividade proteolítica no leite cru refrigerado. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 37, n. 2, p. 157–163, 2009.
- PARK, Y. W. et al. Physico-chemical characteristics of goat and sheep milk. **Small Ruminant Research**, v. 68, n. 1-2, p. 88–113, mar. 2007.
- PARUCH, A. M.; MAEHLUM, T. Specific features of *Escherichia coli* that distinguish it from coliform and thermotolerant coliform bacteria and define it as the most accurate indicator of faecal contamination in the environment. **Ecological Indicators**, v. 23, p. 140–142, dez. 2012.
- PELLEGRINI, L. G. DE et al. Características físico-químicas e cor instrumental de ricota fresca de leite de cabra. **Synergismus scyentifica UTFPR**, v. 07, n. 1, 2012.

- PEPPER, I. L.; GERBA, C. P.; GENTRY, T. J. **Environmental Microbiology**. 3. ed. Londo: Elsevier Science, 2014. p. 728.
- PERRY, K. S. P. Queijos: aspectos químicos, bioquímicos e microbiológicos. **Química Nova**, v. 27, n. 2, p. 293–300, abr. 2004.
- PITT, W. M.; HARDEN, T. J.; HULL, R. R. Behavior of *Listeria monocytogenes* in pasteurized milk during fermentation with lactic acid bacteria. **Journal of food protection**, v. 63, n. 7, p. 916–20, jul. 2000.
- PRATA, L. F.; FUKUDA, R. T. **Fundamentos de Ciência do Leite**. Jaboticabal: Unesp, 1998.
- QUINN, P. J. et al. **Microbiologia Veterinária e Doenças Infecciosas**. Porto Alegre: Artemed, 2005. p. 511.
- RAJMOHAN, S.; DODD, C. E. R.; WAITES, W. M. Enzymes from isolates of *Pseudomonas fluorescens* involved in food spoilage. **Journal of applied microbiology**, v. 93, n. 2, p. 205–13, jan. 2002.
- RESENDE, K.T.; TOSETTO, E.M. Avaliação de estratégias de manejo em criatórios de caprinos leiteiros. In: ENCONTRO NACIONAL PARA O DESENVOLVIMENTO DA ESPÉCIE CAPRINA, 8., 2004, Botucatu. **Anais Botucatu: UNESP/ FMVZ**, 2004. p.184-198.
- RIBEIRO, A. C.; RIBEIRO, S. D. A. Specialty products made from goat milk. **Small Ruminant Research**, v. 89, n. 2-3, p. 225–233, abr. 2010.
- ROMPRÉ, A. et al. Detection and enumeration of coliforms in drinking water: current methods and emerging approaches. **Journal of microbiological methods**, v. 49, n. 1, p. 31–54, mar. 2002.
- SABEDOT, M. A. et al. Correlação entre contagem de células somáticas, parâmetros microbiológicos e componentes do leite em amostras de leite. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR**, v. 14, n. 2, p. 101–106, 2011.
- SANTANA, E. H. . DE et al. ARTIGO. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 77, n. 3, p. 545–554, 2010.
- SHAH, N. P. Psychrotrophs in milk: a review. **Milchwissenschaft**, v. 49, p. 432-437, 1994.
- SILANIKOVE, N. et al. Recent advances in exploiting goat's milk: Quality, safety and production aspects. **Small Ruminant Research**, v. 89, n. 2-3, p. 110–124, abr. 2010.
- SILVA, N. DA et al. **Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos e Água**. 4. ed. São Paulo: Varela, 2010. p. 624.
- SILVA, F. V. M.; GIBBS, P. A. Non-proteolytic *Clostridium botulinum* spores in low-acid cold-distributed foods and design of pasteurization processes. **Trends in Food Science & Technology**, v. 21, n. 2, p. 95–105, fev. 2010.

- SILVA, F. V. M.; GIBBS, P. A. Thermal pasteurization requirements for the inactivation of Salmonella in foods. **Food Research International**, v. 45, n. 2, p. 695–699, mar. 2012.
- SIMÕES, M.; SIMÕES, L. C.; VIEIRA, M. J. A review of current and emergent biofilm control strategies. **LWT - Food Science and Technology**, v. 43, n. 4, p. 573–583, maio 2010.
- SIQUEIRA, R. S. DE. **Manual de microbiologia de alimentos**. Guaratiba: Embrapa-CTAA, 1995. p. 159.
- SØRHAUG, T.; STEPANIAK, L. Psychrotrophs and their enzymes in milk and dairy products: Quality aspects. **Trends in Food Science & Technology**, v. 8, n. 2, p. 35–41, fev. 1997.
- SPERLING, M. VON. **Wastewater Characteristics, Treatment and Disposal: Biological Wastewater Treatment Series Volume 1**. 1. ed. London: IWA Publishing, 2007. p. 308.
- STEVENS, M.; ASHBOLT, N.; CUNLIFE, D. **Review of Coliforms as microbial of Drinking Water Quality**. Canberra: Biotext Ltd, 2003.
- TEH, K. H. et al. Thermo-resistant enzyme-producing bacteria isolated from the internal surfaces of raw milk tankers. **International Dairy Journal**, v. 21, n. 10, p. 742–747, out. 2011.
- THE, D. OF; ENVIRONMENT. **The microbiology of water - part 1: Drinking water**. London: Her Majesty's Stationery Office, 1994.
- THOMAS, A.; PRASAD, V. Thermotolerant Bacteria in Milk- A Review. v. 3, n. 6, p. 2438–2442, 2014.
- TORTORELLO, M. L. Indicator organisms for safety and quality--uses and methods for detection: minireview. **Journal of AOAC International**, v. 86, n. 6, p. 1208–17, 2003.
- WIEDMANN, M. et al. Molecular and phenotypic characterization of Pseudomonas spp. isolated from milk. **Applied and environmental microbiology**, v. 66, n. 5, p. 2085–95, maio 2000.
- ZENG, S. S. Comparison of goat milk standards with cow milk standards for analyses of somatic cell count, fat and protein in goat milk. **Small Ruminant Research**, v. 21, n. 3, p. 221–225, jul. 1996.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Caracterizar a microbiota e a composição físico-química do leite cru de cabra produzido no estado do Paraná.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Enumerar micro-organismos indicadores no leite cru de cabra: aeróbios mesófilos, *Staphylococcus* coagulase positiva, coliformes totais e *Escherichia coli* verificando as condições higiênico sanitárias de produção e o atendimento aos padrões legais;
- Pesquisar micro-organismos deteriorantes no leite cru de cabra: micro-organismos proteolíticos, psicrotróficos, *Pseudomonas* spp. e termodúricos mesófilos e psicrotróficos;
- Pesquisar a ocorrência de *Listeria monocytogenes* e *Salmonella* spp. no leite cru de cabra;
- Avaliar os parâmetros físico-químicos e quantificar os componentes do leite cru de cabra;
- Quantificar células somáticas no leite cru de cabra.

**3 ARTIGO 1 - CARACTERIZAÇÃO MICROBIOLÓGICA E FÍSICO-QUÍMICA  
DO LEITE CRU DE CABRA PRODUZIDO NO ESTADO DO PARANÁ**

## CARACTERIZAÇÃO MICROBIOLÓGICA E FÍSICO-QUÍMICA DO LEITE CRU DE CABRA PRODUZIDO NO ESTADO DO PARANÁ

### 3.1 RESUMO

No Brasil, a caprinocultura leiteira é uma atividade econômica relativamente recente e as características microbiológicas e físico-químicas do leite são ainda pouco estudadas. O objetivo deste trabalho foi determinar as características microbiológicas e físico-químicas do leite cru de cabra produzido no estado do Paraná. Foram analisadas amostras de leite de oito propriedades rurais em diferentes municípios do Paraná, representando cerca de 23% do leite produzido no estado. Foram realizadas quatro repetições, totalizando 32 amostras. Para a caracterização microbiológica pesquisou-se aeróbios mesófilos, coliformes totais, *E. coli*, psicrotróficos, *Staphylococcus* coagulase positiva, *L. monocytogenes* e *Salmonella* spp.. Foram realizadas análises de acidez titulável (°D), densidade, detecção de fosfatase, peroxidase, pH, condutividade, crioscopia, prova da fervura, a quantificação de gordura, proteína, lactose, sólidos totais, sólidos não gordurosos, ureia e contagem de células somáticas. As médias para aeróbios mesófilos, coliformes totais, *E. coli*, *Staphylococcus* coagulase positiva e micro-organismos psicrotróficos foram 4,10; 2,38; 0,65; 2,06 e 4,02 log UFC/ml respectivamente. Não foram detectadas a presença de *L. monocytogenes* e *Salmonella* spp. As médias encontradas foram de 18,30°D para acidez, 1,030 g/mL para densidade, 2 amostras apresentaram resultado negativo para fosfatase, todas apresentam a presença de peroxidase, 6,60 para o pH, 6,77 mS/cm para condutividade, -0,562°H para crioscopia, as amostras foram estáveis à prova da fervura, 3,84% para gordura, 3,39% para proteína, 4,31% para lactose, 12,56% para sólidos totais, 8,73 % para sólidos não gordurosos e 24,00 mg/dL para ureia. Na contagem de células somáticas 73,33% das amostras tiveram contagens superiores a  $1 \times 10^6$  cel/mL. O leite cru de cabra produzido no Paraná apresenta altas contagens de coliformes que indicam higiene precária na ordenha, apesar de atender aos limites de aeróbios mesófilos na maioria das propriedades. Todas as médias das análises físico-químicas foram compatíveis as determinações da legislação brasileira.

**Palavras chave:** leite de cabra, microbiologia, micro-organismos indicadores, composição físico-química.

## CHARACTERIZATION MICROBIOLOGICAL AND PHYSICOCHEMICAL RAW GOAT MILK PRODUCED IN STATE OF PARANÁ

### 3.2 ABSTRACT

In Brazil, dairy goat is a relatively recent economic activity, microbiological and physicalchemical characteristics of milk are still poorly studied. The aim of this study was to determine the microbiological and physicochemical characteristics of raw goat milk produced in the state of Paraná. Milk samples from eight rural municipalities of Paraná in different properties were had analyzed, representing about 23% of the milk produced in the state. Four replications, totaling 32 samples were had taken. For microbiological characterization researched mesophilic aerobes, coliforms, *E. coli*, psychrotrophic, coagulase-positive staphylococci, *L. monocytogenes* and *Salmonella* spp.. Were performed acidity (°D), density, detection of phosphatase and peroxidase enzymes, pH, freezing point, boil test, quantification of fat, protein, lactose, total solids, urea and the somatic cell count. The mean mesophilic aerobes, coliforms, *E. coli*, coagulase-positive staphylococci and psychrotrophic were 4,10; 2,38; 0,65; 2,06 and 4,02 log CFU/ml respectively. Were had not detected the presence of *L. monocytogenes* and *Salmonella* spp. The average found were 18,30 °D to acidity, 1,030 g/mL for density, two samples were negative for phosphatase, all show the presence of peroxidase, 6,60 to pH, 6,77 mS/cm to Conductivity, -0.562 °H to freezing point, the samples were stable to boiling test, 3,84% to fat, 3,39% to protein, 4,31% to lactose, 12,56% to total solids, 8,73% to non-fat solids and 24,00 mg/dL to urea. In somatic cell count 73,33% of the samples had counts greater than  $1 \times 10^6$  cells/mL. Raw goat milk produced in Paraná has high coliforms counts that indicate poor milking hygiene, despite meeting the limits of mesophilic aerobes at most properties. All average of physicalchemical analyzes were consistent determinations of Brazilian law.

**Key words:** goat milk, microbiology, indicators microorganism, composition physicochemical.

### 3.3 INTRODUÇÃO

O leite de cabra vem conquistando um crescente mercado, devido a suas características nutricionais e tecnológicas. Seu potencial tecnológico está relacionado, principalmente, ao seu potencial hipoalergênico, que o faz uma alternativa ao leite de vaca. O sabor e a textura também vêm sendo explorados para a fabricação de produtos diferenciados, como queijos e iogurtes, que apresentam uma digestão mais fácil, devido aos glóbulos de gordura do leite de cabra apresentarem diâmetros menores. O uso do leite de cabra na elaboração de derivados lácteos permite a obtenção de produtos com características próprias e uma excelente qualidade nutricional. Esses produtos apresentam um alto valor agregado, devido as características sensoriais particulares e ao apelo que possuem junto aos consumidores, por serem considerados “alimentos saudáveis” (MEDINA et al., 2004; SCINTU; PIREDDA, 2007).

Segundo dados da *Food and Agriculture Organization of the United Nations* (FAO) (FAOSTAT, 2010), a caprinocultura leiteira está entre as atividades rurais que mais se destacaram mundialmente, com um crescimento de 18% entre os anos de 1997 e 2007. No Brasil, a caprinocultura leiteira é uma atividade econômica relativamente recente, e contribui com 1,3% do leite de cabra produzido no mundo (FAOSTAT, 2010). No ano de 2006, a produção brasileira atingiu aproximadamente 36 milhões de litros, sendo que o Paraná contribuiu com 358 mil litros, dos quais 130 mil litros foram beneficiados formalmente (IBGE, 2006).

É sabido que a qualidade do leite é um dos principais problemas do leite bovino no Brasil, interferindo negativamente na produção e rendimento de derivados (FAGAN et al., 2005; MATTOS et al., 2010; NERO et al., 2005; SILVA et al., 2011). A obtenção de leite com qualidade e segurança depende diretamente da manutenção de condições higiênico-sanitárias adequadas na obtenção da matéria-prima, no seu processamento e comercialização (RIBEIRO; RIBEIRO, 2010). Considerando essas características e experiências da bovinocultura, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) estabeleceu padrões e regras para a produção de leite de cabra em 2000, com o objetivo de melhorar a qualidade, a saúde animal, os procedimentos de ordenha, armazenamento, transporte e condições de processamento do leite de cabra (BRASIL, 2000).

As condições higiênico-sanitárias em que ocorre a ordenha e o armazenamento do leite, nas propriedades que exploram a caprinocultura leiteira, são ainda pouco estudadas no Brasil, assim como as características físico-químicas e microbiológicas. O objetivo deste

trabalho foi estudar as características físico-químicas e microbiológicas do leite de cabra cru produzido no estado do Paraná.

### 3.4 MATERIAL E MÉTODOS

Foi analisado o leite de oito propriedades rurais do estado do Paraná, em quatro repetições, uma a cada estação do ano, totalizando 32 amostras. As oito propriedades selecionadas representam 182/1200 (15,17%) (Quadro 1) das cabras ordenhadas no estado do Paraná, e 23,45% do leite produzido no estado, quando comparadas com os dados Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) (2006). As amostras de leite de cabra cru foram coletadas do leite de conjunto logo após a ordenha. As principais características de cada propriedade e o número de amostras coletadas estão detalhados no Quadro 1. As amostras de leite foram coletadas em dois frascos plásticos estéreis de 500mL cada, transportados para as análises em recipientes isotérmicos com gelo e processadas imediatamente após a chegada.

Quadro 1 - Principais características de produção de oito propriedades produtoras de leite de cabra no estado do Paraná, e número de amostras coletadas para o presente estudo, entre Outubro de 2013 e Agosto de 2014.

Propriedade (Cidades)	Raça dos animais	Animais em lactação (n)*	Produção diária (L)*	Sistema de Ordenha	Sistema de estocagem	Número de amostras (n)
A (Floraí)	Saanen/ Ânglonubianos	42	53	Manual	Freezer	4
B (Arapoti)	Saanen	48	75	Mecânica	Tanque de expansão	4
C (Arapongas)	Saanen	7	18	Manual	Geladeira	4
D (Tibaji)	Mista	8	18	Manual	Geladeira	4
E (Irerê)	Mista/Saanen	5	12	Manual	Freezer	4
F (Campo Largo)	Saanen	11	16	Mecânica	Freezer	4
G (Campo Largo)	Saanen	50	26	Mecânica	Tanque de expansão	4
H (Campo Largo)	Saanen	11	19	Mecânica	Freezer	4

Fonte: elaborado pelo autor.

\*Valor aproximado, com base nos registros durante a amostragem.

Para as análises microbiológicas, todas as amostras foram preparadas em diluições decimais seriadas utilizando solução de NaCl 0,85% peptonada 0,1%.

As amostras foram semeadas para contagem de aeróbios mesófilos em placas Petrifilm™ AC (3M, EUA), com incubação a 35°C por 48h. Para pesquisa de coliformes totais e *Escherichia coli*, as amostras foram semeadas em Petrifilm™ EC (3M, EUA), com

incubação a 35°C por 48h. Após a incubação, as colônias típicas foram enumeradas e, ao final, os resultados foram expressos em unidades formadoras de colônias por ml (UFC/mL).

Para enumeração de *Staphylococcus* coagulase positiva, foram seguidas as recomendações da ISO 6888-2 (1999) onde 0,1mL das diluições escolhidas foram semeados em superfície, utilizando ágar fibrinogênio plasma de coelho (RPFA) (Biomérieux<sup>®</sup>, França). Após incubação a 35°C por 48 horas as colônias típicas, com halo opaco, foram enumeradas, sendo a contagens expressa em UFC/mL.

As contagens para micro-organismos psicrotróficos foram realizadas segundo Wehr e Frank (2004), com plaqueamento superficial de 0,1ml das diluições em ágar padrão para contagem (PCA) (Acumedia, EUA), e incubação em temperatura de 7°C durante 10 dias e a contagem expressa em UFC/mL.

A pesquisa de *Salmonella* spp. foi realizada segundo o protocolo ISO 6579 (2002) e a pesquisa de *Listeria monocytogenes* segundo o protocolo *Bacterial Analytical Manual/Food and Drug Administration* (BAM/FDA) (HITCHINS, 2003).

As análises de acidez titulável em graus Dornic (°D), determinação de densidade à 15°C, detecção de fosfatase e peroxidase foram realizadas segundo metodologia recomendada pela Instrução Normativa 68 (IN 68) (BRASIL, 2006). O pH foi aferido pelo pHmetro digital Hanna<sup>®</sup> HI 8424 e a condutividade no condutímetro portátil Hanna<sup>®</sup> HI 8733, conforme orientações do fabricante. A crioscopia foi realizada utilizando crioscópio eletrônico digital micro processado PZL<sup>®</sup> 7000 conforme orientações do fabricante, com três repetições para cada amostra. A prova da fervura para verificação da estabilidade do leite ao processamento térmico foi realizada pela ebulição de 2mL da amostra em tubo de ensaio sob a chama de bico de Bunsen, as amostras que apresentaram coágulos após a fervura foram consideradas instáveis.

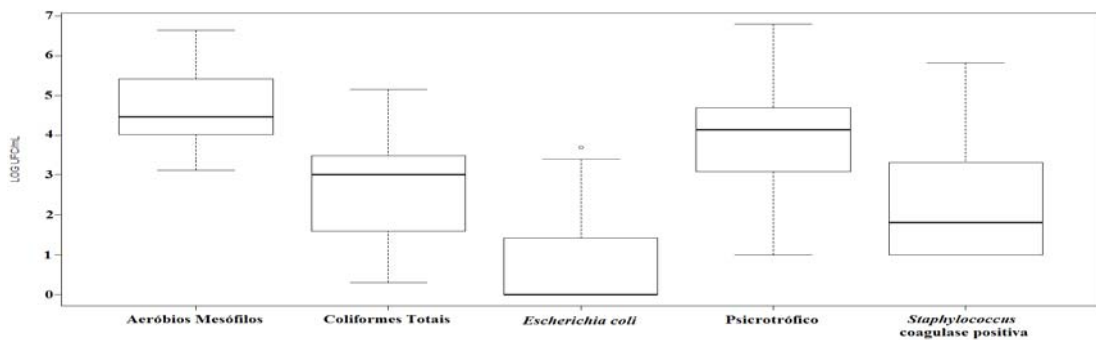
A quantificação de gordura, proteína, lactose e sólidos totais foi realizada no laboratório da Associação Paranaense de Criadores de Bovinos da Raça Holandesa (APCBRH) integrante da Rede Brasileira de Qualidade do Leite, com o equipamento Bentley 2000<sup>®</sup>, pela metodologia de infravermelho. A análise de ureia e a contagem de células somáticas (CCS) também foram realizadas no laboratório da APCBRH, sendo a ureia realizada pelo método enzimático automatizado no equipamento Chemspec 150<sup>®</sup> e a CCS por citometria de fluxo no Somacount 500<sup>®</sup>. Foram analisadas 30 amostras, todas enviadas em frascos contendo 0,02 a 0,05% de conservante bromopol<sup>®</sup> e as análises foram realizadas em equipamentos ajustados para leite de cabra.

A análise dos dados foi realizada com o programa Microsoft Excel<sup>®</sup> 2010. Para a realização do Teste “T” os valores foram convertidos para log e construção de gráficos pelo programa R.

### 3.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Contagens superiores a 5,00 log UFC/mL para aeróbios mesófilos são indicativas de falhas de higiene durante a obtenção do leite (ROBINSON, 2002). Em nosso estudo a média das contagens de aeróbios mesófilos foi de 4,10 log UFC/mL sendo que 12/32 amostras (37,50%) apresentaram valores superiores a 5,00 log UFC/mL, indicando procedimentos de higiene ineficientes durante a ordenha. Apenas as propriedades D e E apresentaram todas as amostras com valores inferiores. A legislação brasileira tem como critério microbiológico para leite cru de cabra a contagem em placas de  $5 \times 10^5$  UFC/mL que equivalem a 5,70 log UFC/mL (BRASIL,2000). Em relação esse parâmetro quatro amostras estariam irregulares. Fonseca et al. (2006) encontraram uma média de 4,30 log UFC/mL em análise de leite de cabra logo após a ordenha, semelhante a este estudo que obteve uma média de 4,10 log/mL (Gráfico 1). Entretanto se for considerado que as amostras do presente estudo foram colhidas imediatamente após a ordenha, as contagens poderiam ser superiores.

Gráfico 1 - Distribuições das contagens microbiológicas realizadas em 32 amostras de leite cru de cabra de oito propriedades do estado do Paraná (valores em  $\log_{10}$  e UFC/ mL), coletadas entre outubro de 2013 e agosto de 2014.



Fonte: elaborado pelo autor.

Coliformes e *E. coli* são bons indicadores de qualidade higiênico-sanitária para alimentos. Os coliformes totais indicam a contaminação ambiental e *E. coli* indica contaminação fecal e o possível risco da presença de outros micro-organismos patogênicos (GOTTARDI; CARDOSO; SCHMIDT, 2008). No presente estudo, todas as amostras apresentaram contagens de coliformes a 30°C, variando entre 0,30 log a 5,60 log UFC/mL (Gráfico 1), sendo que 16/32 amostras (50,00%) apresentaram contagens superiores a 3,00 log

UFC/mL que, segundo Martins e Lima (2013), representa condições higiênico-sanitárias deficientes durante a ordenha. A presença de *E. coli* foi detectada em 10/32 amostras (31,25%), sendo que seis (18,75%) apresentaram contagens superior a 2 log UFC/mL que é indicativo de falhas de higiene na obtenção do leite (MARTINS; LIMA, 2013). A média foi de 0,65 log UFC/mL com uma contagem máxima de 3,70 log UFC/mL. Nas propriedades E e H (6,25%) não foi detectado *E. coli*.

*Staphylococcus aureus* estão envolvidos em vários surtos de intoxicação alimentar pelo consumo de leite e derivados, sendo o principal representante do grupo os *Staphylococcus* coagulase positiva (DE BUYSER et al., 2001). Esses micro-organismos têm grande importância porque as enterotoxinas que produzem são termoestáveis, e podem chegar ao consumidor após tratamentos térmico (SILVA et al., 2010). Os estafilococos também são importantes indicadores da qualidade da manipulação de alimentos, por serem habitantes naturais da pele humana e de animais. As contagens médias de *Staphylococcus* coagulase positiva foram de 2,06 log UFC/mL com mínimo de 1,00 log UFC/mL e máximo de 5,82 log UFC/mL. Estes resultados foram inferiores aos encontrados no Nordeste do Brasil (6,29 log UFC/mL) por Oliveira et al. (2011). Considera-se que alimentos com contagens acima de 5,00 log UFC/ml sejam potencialmente capazes de causar intoxicação (HAYES; FORSYTHE, 2010), situação encontrada em uma amostra (3,13%) nesse estudo. Porém, isso pode ser agravado com a permanência prolongada do leite cru em refrigeração, já que cepas gênero *Staphylococcus* apresentam capacidade psicotrófica (CHAMPAGNE et al., 1994).

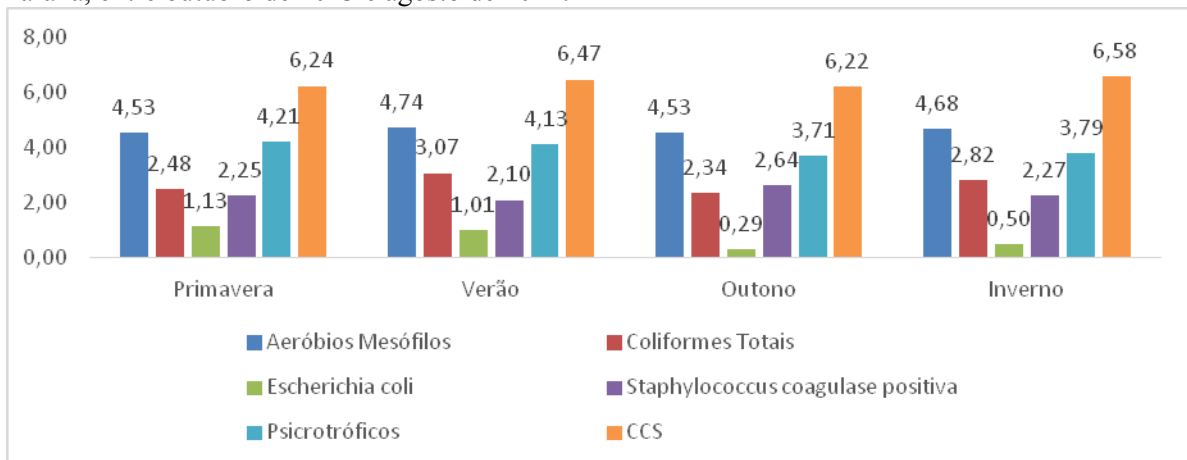
A legislação brasileira não determina padrão para micro-organismos psicotróficos. Mas com a obrigatoriedade da refrigeração do leite logo após a ordenha, estes micro-organismos têm seu crescimento favorecido. Em nosso estudo a média de psicotróficos foi de 4,02 log UFC/mL, menor que a contagem de aeróbios mesófilos (4,10 log UFC/ml), resultado semelhante ao encontrado Minas Gerais, Brasil, por Yamazi et al. (2013) (4,10 log UFC/mL). Porém, 10/32 amostras (31,25%) tiveram contagens de psicotróficos superiores a de aeróbios mesófilos. Em caso de refrigeração prolongada, essa proporção poderia ser superior já que com a refrigeração a multiplicação de aeróbios mesófilos é reduzida enquanto a multiplicação de psicotróficos é favorecida, situação não encontrada nesse estudo devido as amostras terem sido colhidas logo após a ordenha. Isso indica que a microbiota natural de boa parte do leite de cabra produzido no Paraná é predominantemente psicotrófica. As bactérias psicotróficas têm grande importância na qualidade do leite uma vez que boa parte destes micro-organismos produzem enzimas lipolíticas e proteolíticas, que contribuem para a degradação progressiva das proteínas e lipídios, não só durante o armazenamento, mas também depois do tratamento

térmico porque são enzimas termoestáveis (RAYNAL-LJUTOVAC; GABORIT; LAURET, 2005).

*Salmonella* spp. e *Listeria monocytogenes* não foram detectadas em nenhuma amostra analisada, resultado semelhante ao encontrado na Grécia, Portugal e França (MORGAN et al., 2003). Embora não existam muitos estudos sobre a presença de *Salmonella* spp. e *Listeria monocytogenes* em leite cru de cabra no Brasil, Oliveira et al. (2011) encontraram *Salmonella enterica* em 2/96 amostras (2,08%) e não detectaram *Listeria monocytogenes*. Em leite de vaca, estudos demonstram que a ausência de patógenos em leite cru está relacionada à competição microbiana, principalmente promovida por bactérias ácido lácticas (MATTOS et al., 2010; NERO et al., 2008).

Não foi encontrada diferença significativa ( $p < 0,005$ ) no teste “T” entre as contagens dos micro-organismos pesquisados quando relacionadas com a estação do ano (Gráfico 2).

Gráfico 2 – Médias das contagens, nas quatro estações do ano, para micro-organismos (log UFC/mL) e células somáticas (CCS)\* (cel/mL) pesquisadas em 32 amostras de oito propriedades do estado do Paraná, entre outubro de 2013 e agosto de 2014.



Fonte: elaborado pelo autor.

\*Análise de 30 amostras. Amostras G e H foram analisadas em três repetições para CCS.

Quanto às características físico-químicas, utilizando os parâmetros determinados pela Instrução Normativa 37 (BRASIL, 2000) (Tabela 1), 29/32 (90,63%) amostras apresentaram alguma irregularidade (Gráfico 3). No entanto as médias obtidas para os diversos parâmetros ficou dentro dos limites legais.

Tabela 1 - Características físico-químicas médias, desvio padrão e mediana de 32 amostras de leite cru de cabra, coletadas em oito propriedades do estado do Paraná, no período de outubro de 2013 a agosto de 2014 e padrões determinados pela IN 37.

	Padrão <sup>1</sup>	A	B	C	D	E	F	G	H	Média Geral	Mediana	
		Média ±	Média ±	Média ±	Média ±	Média ±	Média ±	Média ±	Média ±	Média ±	Min - Máx	
<b>Densidade (g/mL)</b>	1,028 a 1,034	1,030 ±0,001	1,030 ±0,005	1,030 ±0,002	1,031 ±0,004	1,030 ±0,001	1,030 ±0,001	1,031 ±0,001	1,030 ±0,001	1,030 ±0,002	1,024 - 1,036	1,030
<b>Crioscopia (°H)</b>	-0,550 a -0,580	-0,558 ±0,011	-0,561 ±0,012	-0,568 ±0,005	-0,565 ±0,006	-0,564 ±0,009	-0,567 ±0,005	-0,547 ±0,023	-0,563 ±0,006	-0,562 ±0,012	-0,516 - -0,573	-0,564
<b>Acidez Dornic (°D)</b>	13 a 18 <sup>2</sup>	19,00 ±1,40	15,50 ±2,60	19,00 ±2,20	21,00 ±3,50	18,50 ±4,40	18,00 ±3,00	19,00 ±2,20	16,80 ±1,30	18,30 ±2,90	13,00 - 25,00	18,00
<b>pH</b>	-	6,38 ±0,19	6,60 ±0,25	6,45 ±0,29	6,44 ±0,19	6,62 ±0,24	6,53 ±0,12	6,83 ±0,38	6,82 ±0,37	6,60 ±0,30	6,03 - 7,39	6,60
<b>Condutividade (mS/cm)</b>	-	6,65 ±0,62	7,10 ±1,04	7,91 ±0,57	6,22 ±0,76	6,62 ±0,57	6,73 ±0,44	6,15 ±0,18	6,78 ±0,47	6,77 ±0,76	5,09 - 8,64	6,69
<b>*Gordura (%)</b>	Teor original <sup>3</sup>	3,96 ±0,48	2,81 ±0,56	4,02 ±0,80	3,68 ±1,30	4,35 ±0,67	3,34 ±0,39	4,58 ±0,23	3,58 ±0,93	3,84 ±0,84	2,07 - 5,18	3,76
<b>*Proteína (%)</b>	Mínimo de 2,8	3,31 ±0,25	3,03 ±0,52	3,33 ±0,38	3,79 ±0,46	3,55 ±0,53	3,22 ±0,24	3,69 ±0,45	3,07 ±0,24	3,39 ±0,44	2,50 - 4,35	3,26
<b>*Lactose (%)</b>	Mínimo 4,3	4,39 ±0,15	4,16 ±0,17	4,07 ±0,13	4,79 ±0,24	4,43 ±0,23	4,14 ±0,07	4,24 ±0,05	4,22 ±0,22	4,31 ±0,27	3,90 - 5,10	4,26
<b>*Sólidos totais (%)</b>	-	12,67 ±0,87	10,9 ±0,79	12,46 ±1,03	13,31 ±1,85	13,41 ±1,22	11,65 ±0,72	13,57 ±0,50	11,83 ±1,29	12,56 ±1,31	10,35 - 14,75	12,46
<b>*SNG (%)</b>	8,2	8,72 ±2,28	8,14 ±0,43	8,45 ±0,29	9,63 ±0,76	9,07 ±0,56	8,31 ±0,34	8,99 ±0,43	8,25 ±0,40	8,73 ±0,64	7,70 - 10,54	8,67
<b>*Ureia (mg/ dl)</b>	-	18,18 ±2,28	23,76 ±13,13	22,87 ±0,75	19,96 ±5,30	19,43 ±3,53	27,03 ±2,56	33,45 ±7,1	28,32 ±10,97	24,00 ±7,83	13,36 - 40,35	23,19

Fonte: elaborado pelo autor.

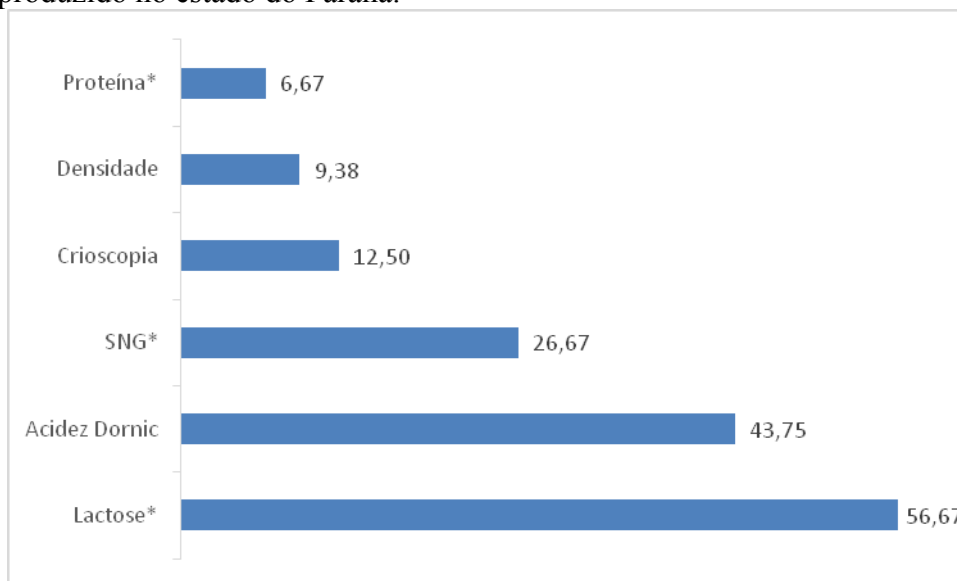
<sup>1</sup>Segundo a Instrução Normativa 37 (BRASIL, 2000).

<sup>2</sup>A faixa normal para a acidez titulável de leite cru de cabra congelado variará de 11 a 18°D.

<sup>3</sup>Serão admitidos valores inferiores a 2,9% para as variedades integral e semi-desnatada, mediante comprovação de que o teor médio de gordura de um determinado rebanho não atinge esse nível.

\*Análise de 30 amostras. Amostras G e H foram analisadas em três repetições para estes componentes.

Gráfico 3 - Porcentagens de alterações físico-químicas detectadas em 32 amostras de leite cru de cabra produzido no estado do Paraná.



Fonte: elaborado pelo autor.

\*Análise de 30 amostras. Amostras G e H foram analisadas em três repetições para estes componentes.

A média para a acidez Dornic foi de  $18,30^{\circ}\text{D}$ , com valores entre 13 a  $25^{\circ}\text{D}$ . O padrão estabelecido pela legislação é de 13 a  $18^{\circ}\text{D}$  (BRASIL,2000). Em 14/32 amostras (43,75%) analisadas, os valores foram superiores a  $18^{\circ}\text{D}$  indicando alta contaminação microbiana, confirmadas pelas contagens de aeróbios mesófilos, sendo que 4 destas estavam acima de 5,7 log UFC/mL, que é o padrão legal. Aeróbios mesófilos apresentam preferencialmente metabolismo sacarolítico, e degradam rapidamente a lactose, levando à formação de ácido láctico (GOTTARDI; CARDOSO; SCHMIDT, 2008).

A média geral para densidade foi de 1,030 g/mL variando entre 1,024 a 1,036 g/mL, sendo que 3/32 amostras (9,38%) apresentaram resultado fora do padrão estabelecido pela legislação (BRASIL, 2000), as propriedades B (1,024 e 1,036 g/mL) e D (1,036 g/mL). A amostra da propriedade B que apresentou a densidade de 1,024 g/mL também teve o valor de crioscopia ( $-0,546^{\circ}\text{H}$ ) inferior ao determinado pela legislação, indicativo da presença de água, que pode ser intencional ou resíduo do sistema de ordenha mecânica. Embora a legislação brasileira determine o padrão de densidade de 1,028 a 1,034 g/mL (BRASIL,2000), pesquisas em outros países, demonstraram que o leite de cabra pode variar de 1,029 a 1,039 g/mL, sofrendo influências da estação do ano, do estado fisiológico e da raça do animal (PARK et al., 2007). Em nosso estudo foi acompanhada a ordenha dos animais, podendo assim, excluir-se a fraude intencional por adição de água e reconstituintes nas amostras que apresentaram valores superiores a 1,034g/mL, sugerindo que as amostras com valores superiores a 1,034

g/mL, apresentaram variações que ocorrem naturalmente, confirmando assim a necessidade de mais estudos para avaliar a normalidade dos parâmetros do leite de cabra produzido no Brasil.

Quanto a pesquisa da enzima fosfatase, que indica se o leite não sofreu nenhum tratamento térmico prévio, duas amostras da propriedade D tiveram resultados negativos, porém foi usado o teste colorimétrico que não é indicado para leite de cabra, porque pode resultar em resultados falso negativos (VARNAN; SUTHERLAND, 1994), isso ocorre quando o teor de fosfatase é muito pequeno, o que é característico do leite de cabra (ROSEIRO; BARBOSA, 1995). As amostras foram todas positivas para a pesquisa de peroxidase, demonstrando que nenhuma amostra sofreu aquecimento superior a 80° C.

O valor encontrado para o pH variou entre 6,03 a 7,39, com uma média de 6,60, que está dentro da faixa de normalidade para leite de cabra que, segundo Park et al. (2007) é de 6,50 a 6,80. Para condutividade, encontrou-se valores entre 5,09 a 8,64 mS/cm com uma média de 6,77 mS/cm, valor semelhante aos 6,95 mS/cm encontrados por Park (1991).

Na crioscopia os valores foram de -0,516 a -0,573°H e média de -0,562°H, média dentro do valor estabelecido para leite de cabra (Tabela 1) (BRASIL,2000). Outros pesquisadores encontraram médias semelhantes a este estudo: Andrade et al. (2008) encontraram -0,553°H em Minas Gerais e Prata et al. (1998) encontraram -0,574°H no sudeste do Brasil. Mayer e Fiechter (2012) na Áustria encontraram uma média inferior aos relatos do Brasil (-0542°H). O ponto de congelamento ou índice crioscópico do leite é uma prova de alta sensibilidade para determinar a presença de água no leite (SLAGHUIS, 2001). Porém, este parâmetro sofre influência da raça, estágio e número de lactação, ocorrência de mastite subclínica, deficiências nutricionais, ingestão de água, condições climáticas, estresse térmico, as influências sazonais, a presença de CO<sub>2</sub> no leite, além de variações regionais (JANŠTOVÁ et al., 2007). Nesta pesquisa quatro amostras de três diferentes propriedades apresentaram valores inferiores a -0,550°H, A (-0,544), B (-0,546°H) e H (-0,543 e -0,516°H). Três amostras apresentaram valores muito próximos ao padrão. Porém, devido aos diversos fatores que podem influenciar o ponto de congelamento, se faz necessário outros estudos de normalidade da crioscopia no estado do Paraná. As propriedades B e H possuíam sistema de ordenha mecânica que, por problemas do equipamento, poderiam deixar água residual passar para o leite.

O leite de cabra apresenta menor estabilidade térmica, devido à própria constituição de suas micelas, devido a maiores concentrações de cálcio e fósforo inorgânicos em relação às de origem bovina (JENNESS, 1980). Por isso, a legislação brasileira (BRASIL,2000) não

recomenda o teste do alizarol para verificação da estabilidade térmica do leite de cabra, sendo assim, em nosso estudo verificamos a estabilidade térmica utilizando a prova da fervura, onde todas as amostras foram estáveis demonstrando que este teste pode ser uma alternativa para a indústria.

Cinco amostras de quatro diferentes propriedades apresentaram valores inferiores a 3,00% de gordura, valor determinado pela legislação, embora a média encontrada (3,84%) esteja de acordo com o valor 3,80% para o leite de cabra descrito na literatura (PARK et al., 2007). O valor mínimo foi de 2,07% e máximo de 5,18%. Resultados semelhantes foram encontrados na Noruega (3,83%) (SKEIE, 2014) e na região sudeste do Brasil (3,74%) (PRATA et al., 1998). Porém, valores superiores foram encontrados na Grécia (4,8%) e em Portugal (4,27%) (MORGAN et al., 2003). Já na França e na região nordeste do Brasil, os pesquisadores encontraram valores inferiores, 3,44% e 3,4% respectivamente (MORGAN et al., 2003; QUEIROGA et al., 2007), essas variações ocorrem porque o teor de gordura é influenciado por muitos fatores: estação do ano, estágio da lactação, raça e o tipo de alimentação (SCINTU; PIREDDA, 2007).

O leite de duas propriedades apresentou valores inferiores ao mínimo de proteína estabelecido pela legislação de 2,8%. Foram as propriedades B (2,5%) e H (2,73%). Porém, a média foi de 3,39% (com valores entre 2,50 a 4,35%), resultado próximo aos encontrados em outros estudos por Kondyli et al. (2012) na Grécia, por Morgan et al. (2003) na França, por Prata et al. (1998) no sudeste do Brasil e por Skeie (2014) na Noruega que obtiveram 3,44; 3,26; 3,27 e 3,09 respectivamente. O teor de proteína como o de gordura, sofre influência da raça, estação do ano, genética e alimentação (ILOEJE; VAN VLECK; WIGGANS, 1981; MORGAN et al., 2003; PERIS et al., 1997).

Os leites de cabra analisados apresentaram valores de lactose oscilando de 3,90 a 5,10% é média de 4,31%, semelhante aos relatados de Queiroga et al. (2007) no nordeste do Brasil, Morgan et al. (2003) em Portugal, Skeie (2014) na Noruega e Prata et al. (1998) no sudeste do Brasil que obtiveram 4,10; 4,21; 4,32; e 4,35 respectivamente. Em 17/30 amostras (56,67%), de oito propriedades, os valores foram inferiores a 4,3%, valor estabelecido pela legislação (BRASIL,2000). E em apenas uma propriedade (D), os valores de lactose foram todos superiores a 4,3%. Silanikove et al. (2010) relataram que a média desejável de lactose para leite de cabra é 4,1%, utilizando este valor como parâmetro cinco amostras ainda estariam irregulares. Apesar desta variação a lactose é um dos nutrientes mais estáveis na composição química do leite e está diretamente relacionado à regulação da pressão osmótica,

de modo que maior produção de lactose determina maior produção de leite (QUEIROGA et al., 2007).

Embora a representação média de sólidos não gordurosos (SNG) tenha sido superior (8,73%) aos 8,20% determinados na legislação (BRASIL,2000) com variação entre 7,70 a 10,54%, oito amostras tiveram valores inferiores.

A média para ureia apresentou uma grande variação,13,36 a 40,35 mg/dL, com uma média de 24,00 mg/dL, valor inferior ao encontrado na Áustria que foi de 33,5 mg/dL (MAYER; FIECHTER, 2012). No entanto, não há parâmetro de normalidade para este item, fortemente relacionado ao conteúdo proteico da alimentação.

A contagem de células somáticas (CCS) está demonstrada na Tabela 2. A CCS é utilizada como indicador de qualidade do leite de cabra (HAENLEIN, 1996), uma vez que é influenciada pela sanidade da glândula mamária dos animais e pelos fatores que auxiliam a manter a sanidade como a higiene na ordenha. Em muitos países define-se o preço pago pelo leite a partir dos valores de CCS (RAYNAL-LJUTOVAC; GABORIT; LAURET, 2005). O Brasil, assim como a União Europeia, ainda não possui parâmetro para CCS. Leitner, Silanikove e Merin (2008) em Israel propuseram um sistema de avaliação de CCS para pagamento de leite cru de cabra, onde classificaram o leite: alta qualidade  $<8 \times 10^5$  cel/mL, associado com a infecção de aproximadamente 25% do rebanho; média qualidade  $<1,5 \times 10^6$  cel/mL, associado à taxa de infecção entre 25 e 50%; baixa qualidade  $>1,5 \times 10^6$  cel/mL, associado à taxa de infecção acima de 50% e leite contendo  $>3,5 \times 10^6$  cel/mL, que não deve ser aceito para o consumo humano. Comparando os resultados com o esquema proposto, aproximadamente 23,33% das amostras estariam impróprias para o consumo apresentando valores superiores  $3,5 \times 10^6$  cel/mL, e segundo a legislação dos Estados Unidos, que tem como padrão  $1,0 \times 10^6$  (CHEN et al., 2010), 73,33% das amostras do presente trabalho estariam fora do parâmetro estabelecido.

Tabela 2 - Contagens de Células Somáticas (CCS) em 30 amostras de leite de cabra de oito propriedades localizadas no estado do Paraná, colhidas entre outubro de 2013 e agosto de 2014.

Contagem de células somáticas (cel /mL)	Amostras de leite de cabra	
	N	%
$<8,4 \times 10^5$	6	20,00
$8,4 \times 10^5$   $1,0 \times 10^6$	2	6,67
$1,0 \times 10^6$   $1,5 \times 10^6$	5	16,67
$1,5 \times 10^6$   $3,5 \times 10^6$	10	33,33
$\geq 3,5 \times 10^6$	7	23,33
Total	30	100

Fonte: elaborado pelo autor.

### 3.6 CONCLUSÃO

O leite cru de cabra produzido no Paraná apresenta baixa qualidade. As altas contagens de coliformes indicam higiene precária na ordenha, apesar dos limites de aeróbios mesófilos terem sido atendidos na maioria das propriedades.

Embora 90,63% das amostras tenham apresentado alguma alteração físico-química, quando comparadas com a legislação brasileira para leite de cabra, a grande oscilação nos resultados das análises físico-químicas e a impossibilidade de que sejam atribuídos à fraudes, indicam que são necessários mais estudos para a determinação de parâmetros que reflitam as condições brasileiras de produção de leite caprino.

São necessários outros estudos sobre a normalidade da quantidade de CCS em leite caprino, de forma que se possa estabelecer parâmetros ainda não exigidos pela legislação brasileira.

### 3.7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDRADE, P. V. D. DE et al. Características microbiológicas e físico-químicas do leite de cabra submetido à pasteurização lenta pós-envase e ao congelamento. **Ciência Rural**, v. 38, n. 5, p. 1424–1430, ago. 2008.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 37, de 31/10/2000. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite de Cabra. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 2000.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 68, de 12/12/2006. Estabelece métodos analíticos físico-químicos oficiais para leite e produtos lácteos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 2006.

CHAMPAGNE, C. P. et al. Psychrotrophs in dairy products: their effects and their control. **Critical reviews in food science and nutrition**, v. 34, n. 1, p. 1–30, jan. 1994.

CHEN, S. X. et al. Effect of somatic cell count in goat milk on yield, sensory quality, and fatty acid profile of semisoft cheese. **Journal of dairy science**, v. 93, n. 4, p. 1345–54, abr. 2010.

DE BUYSER, M. L. et al. Implication of milk and milk products in food-borne diseases in France and in different industrialised countries. **International Journal of Food Microbiology**, v. 67, n. 1-2, p. 1–17, jul. 2001.

FAGAN, É. P. et al. Avaliação e implantação de boas práticas nos principais pontos de contaminação microbiológica na produção leiteira. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 26, n. 1, p. 83, 30 jun. 2005.

FAOSTAT. **Food and Agriculture Organization of The United Nations**, 2010. Disponível em: <<http://faostat3.fao.org/faostat-gateway/go/to/home/E>>. Acesso em: 2 set. 2014.

FONSECA, C. R. DA et al. Qualidade do leite de cabra in natura e do produto pasteurizado armazenados por diferentes períodos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n. 4, p. 944–949, dez. 2006.

GOTTARDI, C. P. T.; CARDOSO, M. M.; SCHMIDT, V. Qualidade higiênica de leite caprino por contagem de coliformes e estafilococos. **Ciência Rural**, v. 38, n. 3, p. 743–748, 2008.

HAENLEIN, G. F. Status and prospects of the dairy goat industry in the United States. **Journal of animal science**, v. 74, n. 5, p. 1173–81, maio 1996.

HAYES, P. R.; FORSYTHE, S. J. **Food Hygiene, Microbiology and HACCP**. 3. ed. Maryland: Aspen, 2010. p. 449.

HITCHINS, A. D. Detection and enumeration of *Listeria monocytogenes* in Foods. In: **Bacteriological analytical manual**. 8 ed. [S.l.]: FDA, 2003.

IBGE. **IBGE : Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**, 2006. Disponível em: <[http://www.ibge.gov.br/home/pesquisa/pesquisa\\_google.shtm?cx=009791019813784313549%3Aonz63jzsr68&cof=FORID%3A9&ie=ISO-8859-1&q=leite+de+cabra+parana&sa=Pesquisar&siteurl=www.ibge.gov.br%2Fhome%2Festatistica%2Feconomia%2Fagropecuaria%2Fcensoagro%2F2006%2Fdefaulttab\\_censoagro.shtm&ref=www.ibge.gov.br%2Fhome%2Festatistica%2Feconomia%2Fagropecuaria%2Fcensoagro%2F2006%2Fdefault.shtm&ss=5043j1483933j25](http://www.ibge.gov.br/home/pesquisa/pesquisa_google.shtm?cx=009791019813784313549%3Aonz63jzsr68&cof=FORID%3A9&ie=ISO-8859-1&q=leite+de+cabra+parana&sa=Pesquisar&siteurl=www.ibge.gov.br%2Fhome%2Festatistica%2Feconomia%2Fagropecuaria%2Fcensoagro%2F2006%2Fdefaulttab_censoagro.shtm&ref=www.ibge.gov.br%2Fhome%2Festatistica%2Feconomia%2Fagropecuaria%2Fcensoagro%2F2006%2Fdefault.shtm&ss=5043j1483933j25)>. Acesso em: 2 set. 2014.

ILOEJE, M. U.; VAN VLECK, L. D.; WIGGANS, G. R. Components of Variance for Milk and Fat Yields in Dairy Goats. **Journal of Dairy Science**, v. 64, n. 11, p. 2290–2293, nov. 1981.

ISO. ISO 6888-2 - **Microbiology of food and animal feeding stuffs** - Horizontal method for the enumeration of coagulase-positive staphylococci (*Staphylococcus aureus* and other species) - Part 2: Technique using rabbit plasma fibrinogen agar medium. Geneva: International Standardization Organization, 1999.

ISO. ISO 6579 - **Microbiology of food and animal feeding stuffs** - Horizontal method for the detection of *Salmonella* spp. Geneva: International Standardisation Organization, 2002.

JANŠTOVÁ, B. et al. Freezing point of raw and heat-treated goat milk. **Czech Journal Animal Science**, v. 2007, n. 6215712402, p. 394–398, 2007.

JENNESS, R. Composition and Characteristics of Goat Milk: Review 1968–1979. **Journal of Dairy Science**, v. 63, n. 10, p. 1605–1630, out. 1980.

KONDYLI, E. et al. Chemical composition and microbiological quality of ewe and goat milk of native Greek breeds. **Small Ruminant Research**, v. 103, n. 2-3, p. 194–199, abr. 2012.

LEITNER, G.; SILANIKOVE, N.; MERIN, U. Estimate of milk and curd yield loss of sheep and goats with intramammary infection and its relation to somatic cell count. **Small Ruminant Research**, v. 74, n. 1-3, p. 221–225, jan. 2008.

- MARTINS, E. S.; LIMA, C. M. F. Qualidade microbiológica de leite cru refrigerado obtido de propriedades rurais do município de frutal-mg: comparação das ordenhas mecânica e manual. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, v. 7, n. 1, p. 955–964, 18 mar. 2013.
- MATTOS, M. R. DE et al. Qualidade do leite cru produzido na região do agreste de Pernambuco, Brasil. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 31, n. 1, p. 173, 30 abr. 2010.
- MAYER, H. K.; FIECHTER, G. Physical and chemical characteristics of sheep and goat milk in Austria. **International Dairy Journal**, v. 24, n. 2, p. 57–63, jun. 2012.
- MEDINA, M. et al. **Cheeses Made from Ewes ' and Goats ' Milk**. v. 2, 2004.
- MORGAN, F. et al. Characteristics of goat milk collected from small and medium enterprises in Greece, Portugal and France. **Small Ruminant Research**, v. 47, n. 1, p. 39–49, jan. 2003.
- NERO, L. A. et al. Leite cru de quatro regiões leiteiras brasileiras: perspectivas de atendimento dos requisitos microbiológicos estabelecidos pela Instrução Normativa 51. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 25, n. 1, p. 191–195, mar. 2005.
- NERO, L. A et al. *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* spp. in raw milk produced in Brazil: occurrence and interference of indigenous microbiota in their isolation and development. **Zoonoses and public health**, v. 55, n. 6, p. 299–305, ago. 2008.
- NORBERG, E. et al. Electrical conductivity of milk: ability to predict mastitis status. **Journal of dairy science**, v. 87, n. 4, p. 1099–107, abr. 2004.
- OLIVEIRA, C. J. B. et al. On farm risk factors associated with goat milk quality in Northeast Brazil. **Small Ruminant Research**, v. 98, n. 1-3, p. 64–69, jun. 2011.
- PARK, Y. W. Interrelationships between somatic cell counts, electrical conductivity, bacteria counts, percent fat and protein in goat milk. **Small Ruminant Research**, v. 5, n. 4, p. 367–375, set. 1991.
- PARK, Y. W. et al. Physico-chemical characteristics of goat and sheep milk. **Small Ruminant Research**, v. 68, n. 1-2, p. 88–113, mar. 2007.
- PERIS, S. et al. Influence of kid rearing systems on milk composition and yield of Murciano-Granadina dairy goats. **Journal of dairy science**, v. 80, n. 12, p. 3249–55, dez. 1997.
- PRATA, L. F. et al. Composição, perfil nitrogenado e características do leite caprino (saanen): região sudeste, Brasil. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 18, n. 4, p. 1–12, out. 1998.
- QUEIROGA, R. DE C. R. DO E. et al. Influência do manejo do rebanho, das condições higiênicas da ordenha e da fase de lactação na composição química do leite de cabras Saanen. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 36, n. 2, p. 430–437, abr. 2007.
- RAYNAL-LJUTOVAC, K.; GABORIT, P.; LAURET, A. The relationship between quality criteria of goat milk, its technological properties and the quality of the final products. **Small Ruminant Research**, v. 60, n. 1-2, p. 167–177, out. 2005.

- RIBEIRO, A. C.; RIBEIRO, S. D. A. Specialty products made from goat milk. **Small Ruminant Research**, v. 89, n. 2-3, p. 225–233, abr. 2010.
- ROBINSON, R. K. **Dairy Microbiology Handbook: The Microbiology of Milk and Milk Products**. 3. ed. New York: John Wiley and Sons, 2002. p. 784.
- ROSEIRO, M. L. DE B.; BARBOSA, M. Phosphatase activity levels in pasteurized goats' milk. **International Journal of Dairy Technology**, v. 48, n. 1, p. 9–12, fev. 1995.
- SCINTU, M. F.; PIREDDA, G. Typicity and biodiversity of goat and sheep milk products. **Small Ruminant Research**, v. 68, n. 1-2, p. 221–231, mar. 2007.
- SILANIKOVE, N. et al. Recent advances in exploiting goat's milk: Quality, safety and production aspects. **Small Ruminant Research**, v. 89, n. 2-3, p. 110–124, abr. 2010.
- SILVA, L. C. C. DA et al. Rastreamento de fontes da contaminação microbiológica do leite cru durante a ordenha em propriedades leiteiras do Agreste Pernambucano. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 32, n. 1, p. 267, 31 mar. 2011.
- SILVA, N. DA et al. **Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos e Água**. 4. ed. São Paulo: Varela, 2010. p. 624.
- SKEIE, S. B. Quality aspects of goat milk for cheese production in Norway: A review. **Small Ruminant Research**, jul. 2014.
- SLAGHUIS, B. A. The freezing point of authentic and original farm bulk tank milk in The Netherlands. **International Dairy Journal**, v. 11, n. 3, p. 121–126, jan. 2001.
- VARNAN, A. BERLANDH.; SUTHERLAND, J. P. **Milk and Milk Products: Technology, chemistry and microbiology Food Products**. New York: Chapman e hall, 1994. p. 451.
- WEHR, H. M.; FRANK, J. F. **Standard Methods for the Examination of Dairy Products**. 17. ed. Washington: American Public Health Association, 2004. p. 570.
- YAMAZI, A. K. et al. Long cold storage influences the microbiological quality of raw goat milk. **Small Ruminant Research**, v. 113, n. 1, p. 205–210, jun. 2013.

**4 ARTIGO-2 MICRO-ORGANISMOS DETERIORANTES EM LEITE CRU DE  
CABRA**

## MICRO-ORGANISMOS DETERIORANTES EM LEITE CRU DE CABRA

### 4.1 RESUMO

A caprinocultura leiteira está entre as atividades rurais que mais se destacaram mundialmente, com um crescimento de 18% entre os anos de 1997 e 2007. Isso é principalmente relacionado ao fato deste produto apresentar uma composição química rica em nutrientes e elevada digestibilidade. O leite é um produto perecível, sujeito a rápida deterioração. Com a refrigeração, o problema da acidificação do leite foi controlado, uma vez que o crescimento de bactérias ácido lácticas e/ou outras bactérias mesófilas, diminuiu. Entretanto, a permanência do leite em temperatura de refrigeração por períodos prolongados, favorece o crescimento de bactérias psicrotróficas. Uma das principais causas de deterioração no leite refrigerado, é a presença de proteases e lipases produzidas por bactérias psicrotróficas, que são enzimas termoestáveis e resistem ao tratamento térmico. Dentre os psicrotróficos, os micro-organismos do gênero *Pseudomonas* spp. são os mais importantes agentes de deterioração do leite, mas bactérias do gênero *Bacillus* spp. também são produtores de enzimas proteolíticas e lipolíticas. Termodúricos também são importantes deteriorantes, uma vez que constituem a microbiota remanescente ao tratamento térmico. O objetivo deste trabalho foi pesquisar micro-organismos deteriorantes em amostras de leite cru de cabra produzidos no estado do Paraná. Foi analisado o leite de oito propriedades rurais do estado do Paraná, em quatro repetições, uma a cada estação do ano, totalizando 32 amostras. Foram quantificados micro-organismos proteolíticos, psicrotróficos, *Pseudomonas* spp., termodúricos mesófilos e termodúricos psicrotróficos, e realizou-se a prova da lactofermentação. A média das contagens para micro-organismos deteriorantes foram 4,43; 4,02; 2,43; 2,02; e 1,28 log UFC/mL para proteolíticos, psicrotróficos, *Pseudomonas* spp., termodúricos mesófilos e psicrotróficos respectivamente. A prova de lactofermentação demonstrou uma predominância de micro-organismos proteolíticos. O leite da maioria das propriedades estudadas apresenta altas contagens de micro-organismos psicrotróficos e proteolíticos, resultando em uma matéria prima que tende à rápida deterioração e oferece baixo rendimento na fabricação de derivados.

**Palavras chave:** Leite de cabra, micro-organismos deteriorantes, psicrotróficos, *Pseudomonas* spp.

## SPOILAGE MICROORGANISMS IN RAW GOAT MILK

### 4.2 ABSTRACT

The dairy goat is among the rural activities that stood out worldwide, with a growth of 18% between the years 1997 and 2007. This is mainly related to the fact that this product has a rich chemical composition in nutrients and high digestibility. However, the milk is quickly perishable product subject to spoilage. With the cooling of raw milk, raw milk acidification caused by the growth of lactic acid bacteria and /or other mesophilic bacteria was decreased. However, with the permanence of milk at refrigerator temperatures for prolonged periods, allows growth of psychrotrophic bacteria. A major cause of deterioration in the refrigerated milk is the presence of proteases and lipases produced by psychrotrophic bacteria, enzymes that are thermostable and resistant to heat treatment. Among the psychrotrophic, the microorganisms *Pseudomonas* spp. are the most important agents of deterioration of milk. The thermoduric microorganisms are also important spoilage, since it constitutes the remaining heat treatment microbiota. The aim of this study was to investigate spoilage microorganisms in samples of raw goat milk produced in the state of Paraná. Milk from eight farms in the state of Paraná was analyzed in four replicates, one every season, totaling 32 samples. Microbiological analyzes were carried out, counts for microorganisms, proteolytic, psychrotrophic, *Pseudomonas* spp., thermoduric mesophilic and thermoduric psychrotrophic, and lactofermentation test. The average counts for spoilage microorganisms were 4,43; 4,02; 2,43; 2,02; and 1,28 log CFU/mL for proteolytic, psychrotrophic, *Pseudomonas* spp., thermoduric mesophilic and psychrotrophic respectively. Evidence lactofermentation test showed a predominance of proteolytic microorganisms. The milk of most studied property shows high counts and proteolytic psychrotrophic microorganisms, resulting in a raw material which tends to rapid deterioration and gives low yields in the manufacturing thereof.

**Key words:** Goat milk, spoilage microorganisms, psychrotrophic, *Pseudomonas* spp.

### 4.3 INTRODUÇÃO

Segundo dados da *Food and Agriculture Organization of the United Nations* (FAO) (FAOSTAT, 2010), a caprinocultura leiteira está entre as atividades rurais que mais se destacaram mundialmente, com um crescimento de 18% entre os anos de 1997 e 2007. Estes resultados são principalmente relacionados ao fato deste produto apresentar uma composição química rica em nutrientes e elevada digestibilidade (PELLEGRINI et al., 2012). Contudo, o leite é um produto rapidamente perecível, sujeito a deterioração.

A deterioração de um produto é caracterizada por danos físicos, mudanças químicas como oxidação, mudanças de cor, ou aparecimento de sabores e de odores desagradáveis resultantes do crescimento microbiano que é a causa mais comum de deterioração (GRAM et al., 2002).

A deterioração microbiana do leite pode afetar gravemente a qualidade e o rendimento dos produtos lácteos, devido as alterações provocadas pelos micro-organismos e seus metabólitos (MACHADO; BAZZOLLI; VANETTI, 2013).

Com a refrigeração do leite cru, controlou o crescimento dos microrganismos aeróbios mesófilos e a acidificação do leite cru causada pelo crescimento de bactérias ácido lácticas e/ou outras bactérias mesófilas (SAMARŽIJA; ZAMBERLIN; POGAČIĆ, 2012). Entretanto, com a permanência do leite a temperaturas de refrigeração por períodos prolongados, tem sido notada a substituição da microbiota deteriorante mesófila por uma microbiota de bactérias psicrotróficas (ZENI et al., 2013).

Uma das principais causas de deterioração do leite refrigerado é a presença de proteases que são enzimas que degradam proteína e muitas bactérias presentes no leite cru refrigerado são capazes de produzir essas enzimas (BENDICHO et al., 2002). Boa parte das bactérias psicrotróficas, além da capacidade de se multiplicarem em temperatura de refrigeração, produzem tanto proteases como lipases termoestáveis (MARCHAND et al., 2009; SØRHAUG; STEPANIAK, 1997; TEH et al., 2011). Dentre os psicrotróficos, os micro-organismos do gênero *Pseudomonas* são os mais importantes agentes de deterioração do leite (FUQUAY; FOX; MCSWEENEY, 2011). No entanto outros micro-organismos são considerados importantes produtores de enzimas termoestáveis como os do gênero *Bacillus* e *Paenibacillus* (IVY et al., 2012).

Os micro-organismos termodúricos, que são aqueles que conseguem sobreviver ao tratamento de pasteurização, também são importantes deteriorantes, uma vez que constituem a microbiota remanescente após tratamento térmico (THOMAS; PRASAD, 2014).

Assim a deterioração do leite refrigerado é determinada principalmente por micro-organismos produtores de proteases e lipases termoestáveis no leite cru e pela microbiota termodúrica.

O objetivo deste trabalho foi pesquisar micro-organismos deteriorantes do leite cru de cabra produzidos no estado do Paraná.

#### 4.4 MATERIAL E MÉTODOS

Foi analisado o leite de oito propriedades rurais do estado do Paraná, nos municípios de ... em quatro repetições, uma a cada estação do ano, totalizando 32 amostras. As propriedades selecionadas são responsáveis por cerca de 23% do leite de cabra produzido no Paraná (XL/1200L). As amostras de leite cru de cabra foram coletadas do leite de conjunto logo após a ordenha, utilizando-se frascos plásticos estéreis, transportados para as análises em recipientes isotérmicos com gelo e processadas imediatamente após a chegada.

Para as análises microbiológicas todas as amostras foram preparadas em diluições decimais seriadas utilizando solução de NaCl 0,85% peptonada 0,1%, exceto para pesquisa de *Pseudomonas* spp..

As contagens para micro-organismos proteolíticos, psicrotróficos, termodúricos mesófilos e termodúricos psicrotróficos foram realizadas segundo Wehr e Frank (2004), sendo feito plaqueamento superficial de 0,1ml das diluições escolhidas e a contagem expressa em UFC/mL. Para psicrotróficos as diluições foram semeadas em ágar padrão para contagem (PCA) (Acumedia<sup>®</sup>, EUA), e incubadas a 7°C durante 10 dias. A contagem de micro-organismos proteolíticos foi realizada utilizando ágar leite (Acumedia<sup>®</sup>, EUA) suplementado com leite em pó desnatado (10% v/v, Molico<sup>®</sup> Nestlé, Brasil), seguido de incubação a 30°C por 72 horas. As colônias que produziram halo de degradação da proteína foram enumeradas. Para a contagem de micro-organismos termodúricos mesófilos e termodúricos psicrotróficos, uma alíquota de 5ml da amostra analisada foi aquecida em tubo estéril em banho-maria a 62,8°C durante 30 minutos e logo resfriada a 10°C, e semeada em ágar PCA seguindo-se incubação a 36°C por 48 horas para a contagem de termodúricos mesófilos e 7°C por 10 dias para termodúricos psicrotróficos.

Para enumeração de *Pseudomonas* spp. foram seguidas as recomendações da ISO 11059 (2009), as amostras foram diluídas em água peptonada tamponada (Oxoid<sup>®</sup>, Inglaterra) e 0,1mL das diluições escolhidas foram semeadas em superfície, utilizando ágar penicilina pimáricina (PPA), confeccionado com *Pseudomonas* ágar base (Oxoid<sup>®</sup>, Inglaterra) mais 100.000 UI/L de penicilina G (Sigma Aldrich<sup>®</sup>, EUA), e 0,01g/L de pimáricina (Coalhopar F-E-B Biotecnologia<sup>®</sup>, Brasil). Após incubação a 25°C por 48 horas, pelo menos cinco colônias de cada placa foram confirmadas pela coloração de Gram, prova de oxidase e fermentação da glicose. Foram consideradas para as contagens proporcionais de *Pseudomonas*, as colônias oxidase positivas, não fermentadoras de glicose, que apresentaram morfologia de bacilos Gram negativos. A proporção de colônias consideradas *Pseudomonas* spp. nas provas confirmatórias, foi aplicada a contagem total obtida nas placas e os resultados foram expressos em UFC/mL.

A prova da lactofermentação foi baseada na metodologia descrita por Behmer (1999). Onde coágulos pequenos e retraídos na parede do tubo, com grande separação de soro foram classificados como digeridos. Coágulos com presença de bolhas e orifícios formados pela produção de gás pela microbiota presente foram classificados como esponjosos. Coágulos perfeitos, sem separação de soro e lisos foram classificados como gelatinosos. Finalmente, tubos que não apresentaram coagulação do leite foram classificados como líquidos.

A análise estatística foi realizada com o programa Microsoft Excel<sup>®</sup> 2010. Para a realização do Teste “T” os valores foram convertidos para log.

#### 4.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Todas as amostras apresentaram micro-organismos proteolíticos (Tabela 1), sendo que 65,73% das amostras apresentaram contagens superiores a 4,00 log UFC/mL (Tabela 2), com uma contagem média de 4,43 log UFC/mL. Bactérias proteolíticas são importantes na determinação da vida útil do leite, porque degradam a proteína, um dos mais importantes nutrientes do leite e promovem sedimentação e diminuição do rendimento na fabricação de derivados.

Tabela 1 - Média e  $\pm$  desvio padrão das contagens de micro-organismos deteriorantes realizadas em 32 amostras de leite cru de cabra de oito propriedades do estado do Paraná (valores em  $\log_{10}$  e UFC/ mL), entre Outubro de 2013 e Agosto de 2014.

Propriedade	Proteolíticos	Psicrotróficos	<i>Pseudomonas</i>	Termodúricos Mesófilos	Termodúricos Psicrotróficos
	Média	Média	Média	Média	Média
A	5,21 $\pm 0,55$	4,33 $\pm 0,41$	1,51 $\pm 1,02$	2,40 $\pm 0,86$	1,00 $\pm 0,00$
B	4,77 $\pm 0,92$	4,44 $\pm 0,71$	2,93 $\pm 1,30$	1,87 $\pm 0,16$	1,27 $\pm 0,43$
C	4,2 $\pm 0,22$	2,98 $\pm 0,36$	1,41 $\pm 1,03$	2,38 $\pm 0,62$	1,00 $\pm 0,00$
D	3,88 $\pm 0,79$	3,53 $\pm 1,23$	1,02 $\pm 0,46$	2,11 $\pm 0,66$	1,27 $\pm 0,53$
E	3,71 $\pm 0,54$	3,00 $\pm 0,41$	1,20 $\pm 0,23$	1,32 $\pm 0,56$	1,53 $\pm 0,83$
F	4,59 $\pm 1,43$	5,18 $\pm 1,93$	2,68 $\pm 2,00$	2,23 $\pm 0,53$	1,42 $\pm 0,57$
G	4,68 $\pm 1,71$	3,92 $\pm 2,65$	4,45 $\pm 0,85$	2,18 $\pm 0,55$	1,86 $\pm 1,03$
H	4,4 $\pm 0,63$	4,74 $\pm 0,72$	4,26 $\pm 0,59$	1,65 $\pm 0,69$	0,92 $\pm 0,15$
Média	4,43 $\pm 0,49$	4,02 $\pm 0,80$	2,43 $\pm 1,37$	2,02 $\pm 0,38$	1,28 $\pm 0,32$
Mediana	4,42	4,15	1,56	1,88	1,00

Fonte: elaborado pelo autor.

Tabela 2 - Distribuição da frequência dos micro-organismos deteriorantes pesquisados em 32 amostras de leite cru de cabra produzido nos estados do Paraná, entre o período de Outubro de 2013 e Agosto de 2014.

Intervalos (log UFC/mL)	Proteolíticos		Psicrotróficos		<i>Pseudomonas</i>		Termodúricos Mesófilos		Termodúricos Psicrotróficos	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
<2	0	0,00	2	6,25	16	50,00	18	56,25	28	87,51
2   3	2	6,25	5	15,62	1	3,12	11	34,38	3	9,37
3   4	9	28,12	8	25,00	7	21,88	3	9,37	1	3,12
4   5	12	37,50	11	34,38	6	18,75	0,0	0,00	0	0,00
5   6	7	21,88	4	12,50	2	6,25	0,0	0,00	0	0,00
$\geq 6$	2	6,25	2	6,25	0	0,00	0,0	0,00	0	0,00
Total	32	100	32	100	32	100	32	100	32	100

Fonte: elaborado pelo autor.

As contagens de micro-organismos psicrotróficos apresentaram valores entre 1,00 a 7,73 log UFC/ mL (Tabela 1), tendo como média 4,02 log UFC/mL, média semelhante à encontrada em leite cru de cabra por Yamazi et al. (2013) em Minas Gerais e em uma propriedade do estado de São Paulo por Fonseca et al. (2006) que foram 4,10 e 4,20 log UFC/mL respectivamente. A partir da implantação de sistemas de refrigeração do leite, esses micro-organismos se tornaram importantíssimos do ponto de vista de deterioração do leite, uma vez que são capazes de crescerem e se multiplicarem em temperatura de refrigeração, produzindo proteases e lipases termoestáveis (MATTOS et al., 2010; PERRY, 2004). Essas

enzimas causam problemas relacionados à qualidade dos produtos lácteos, como alteração de sabor e odor do leite, perda de consistência, gelatinização e sedimentação ao longo da vida útil do leite UHT (IZIDORO et al., 2013; PINTO; MARTINS; VANETTI, 2006; RAYNAL-LJUTOVAC; GABORIT; LAURET, 2005).

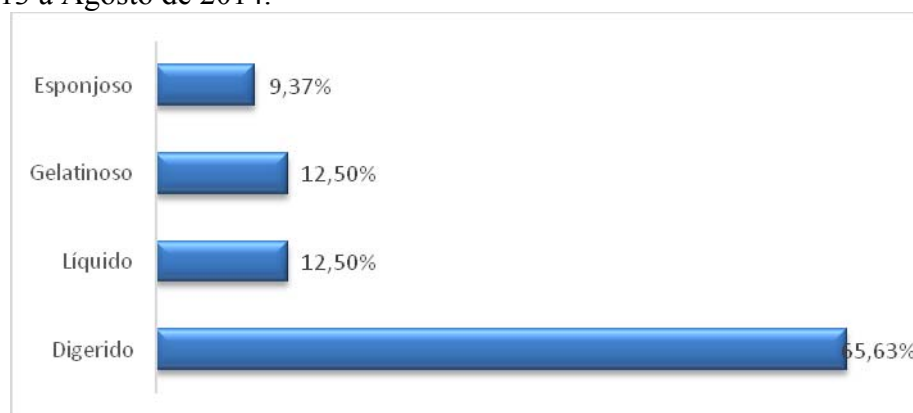
Adams, Barach e Speck (1975) consideraram que quantidades de bactérias psicrotróficas acima de 4,00 log UFC/mL são suficientes para produzir alterações de aroma e sabor do leite, encurtando a vida útil do mesmo. Em nosso estudo 53,13 % das amostras apresentaram valores superiores a 4,00 log UFC/ mL (Tabela 2).

*Pseudomonas* spp. é o micro-organismo psicrotrófico que possui maior atividade proteolítica e lipolítica no leite, na faixa de temperatura de 4°C a 7°C (NÖRNBERG et al., 2010). Em nosso estudo encontramos uma média de 2,43 log UFC/mL de *Pseudomonas* spp., com uma contagem mínima de 1,00 log UFC/mL e uma máxima de 5,57 log UFC/mL (Tabela 1). Kondyli et al. (2012) em estudo com leite cru de cabra na Grécia encontraram valores médios de 3,97 e 4,54 log UFC/mL, valores superiores a este estudo. A principal fonte de contaminação de *Pseudomonas* spp. é a água com tratamento inadequado (FAGUNDES et al., 2006). Devido à grande capacidade de produção de enzimas proteolíticas e lipolíticas, *Pseudomonas* spp é considerada o principal deteriorante do leite cru refrigerado e, mesmo em pequenas quantidades pode comprometer a qualidade do leite, acelerando sua deterioração.

A média das contagens para micro-organismos termodúricos mesófilos foi 2,02 log UFC/mL e para termodúricos psicrotróficos 1,28 log UFC/mL (Tabela 1). Esses micro-organismos são importantes porque são deteriorantes do leite e resistem a pasteurização, constituindo a microbiota remanescente. A vida útil do leite será inversamente proporcional a magnitude desta microbiota. Os termodúricos têm o potencial de afetar negativamente a qualidade e vida de prateleira dos produtos (BUEHNER; ANAND; GARCIA, 2014; THOMAS; PRASAD, 2014). Além de serem micro-organismos deteriorantes de grande importância eles também servem como micro-organismos indicadores, sendo encontrados no solo, no material de cama e na alimentação, e contaminam os tetos que, em casos de procedimentos higiênicos inadequados contaminam o leite cru (GLEESON; O'CONNELL; JORDAN, 2013). Quatro amostras apresentaram contagens superiores a 3,00 log UFC/mL para micro-organismos termodúricos, sendo três para termodúricos mesófilos e uma para termodúrico psicrotrófico (Tabela 2). Contagens acima de 3,00 log/mL de termodúricos são indicativo de problemas de higiene na obtenção de leite (FUQUAY; FOX; MCSWEENEY, 2011). Países como Canadá, Austrália, Nova Zelândia e Noruega utilizam esses limites como bonificação para o pagamento do leite.

Na prova de lactofermentação (Gráfico 1) 21/32 amostras (65,63%) apresentaram coágulos digeridos, indicativo de predominância de micro-organismos proteolíticos, o que é confirmado pelas altas contagens de micro-organismos proteolíticos obtidas, indicando que o leite resultará em baixo rendimento para a indústria de derivados. Em 4/32 amostras (12,50%) foi observado a formação de coágulo líquido, o que pode sugerir a presença de inibidores de crescimento microbiano (PINTO; MARTINS; VANETTI, 2006). Coágulos líquidos também podem ocorrer devido a baixo número de bactérias, o que não foi observado nesse trabalho (ROBINSON, 2002). Também ocorreu em 4/32 amostras (12,50%) de três propriedades a presença de coágulo gelatinoso, que é um indicativo de predominância de bactérias ácido lácticas que correspondem ao tipo de coágulo desejado pelas indústrias (PINTO; MARTINS; VANETTI, 2006). Em 3/32 amostras (9,37%) foi observado a formação de coágulo esponjoso que é característico da predominância do grupo coliforme, resultado da falta de higiene na ordenha.

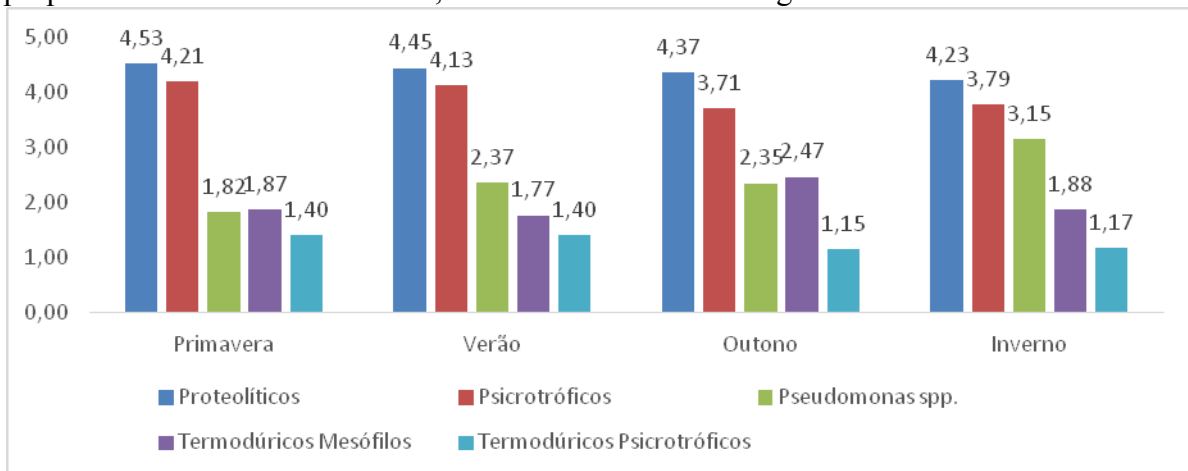
Gráfico 1 – Percentual dos tipos de coágulos formados na prova de lactofermentação, em 32 amostras de leite cru de cabra, coletadas de oito propriedades do estado do Paraná entre Outubro de 2013 a Agosto de 2014.



Fonte: elaborado pelo autor.

Diferença estatística em relação a contagem de micro-organismos relacionados a estação do ano só foi observada nas médias de termodúricos mesófilos (Gráfico 2), que foi maior no outono ( $p < 0,05$ ). Esse resultado está em concordância com outros pesquisadores, que relatam que as contagens de micro-organismos termodúricos têm uma flutuação sazonal, apresentando contagens maiores no verão e no outono (THOMAS et al., 1952). Isso pode estar relacionado ao fato de importantes representantes desse grupo serem bacilos Gram positivos, micro-organismos esporulados frequentes no solo, feno, fezes ressecadas, pó de silagem. O clima seco, frequente no outono e verão, facilitaria a contaminação dos animais e do ambiente de ordenha.

Gráfico 2 - Médias das contagens, nas quatro estações do ano, para micro-organismos deteriorantes (log UFC/mL) pesquisados em 32 amostras de leite cru de cabra de oito propriedades do estado do Paraná, entre outubro de 2013 e agosto de 2014.



Fonte: elaborado pelo autor.

#### 4.6 CONCLUSÃO

O leite da maioria das propriedades estudadas apresentaram altas contagens de micro-organismos psicrotróficos e proteolíticos, resultando em uma matéria prima que tenderá à rápida deterioração, e como consequência curta vida útil do leite fluido, baixo rendimento na fabricação de derivados e defeitos tecnológicos como a geleificação do leite UHT.

A maioria das propriedades apresentou contagens aceitáveis de micro-organismos termodúricos, indicando que a deterioração do produto terá como causa principal as enzimas proteolíticas e lipolíticas produzidas por micro-organismos psicrotróficos e proteolíticos no leite cru, como a pseudomonas.

São necessários outros estudos que determinem a origem dos microrganismos deteriorantes e permitam o desenvolvimento de práticas que controlem a contaminação do leite por estes microrganismos, melhorando sua qualidade e aumentando sua vida útil.

#### 4.7 REFERÊNCIAS

ADAMS, D. M.; BARACH, J. T.; SPECK, M. L. Heat resistant proteases produced in milk by psychrotrophic bacteria of dairy origin. **Journal of dairy science**, v. 58, n. 6, p. 828–34, jun. 1975.

BEHMER, M. L. A. **Tecnologia do Leite**. 13. ed. São Paulo: Nobel, 1999. p. 324.

- BENDICHO, S. et al. Determination of proteolytic activity in different milk systems. **Food Chemistry**, v. 79, n. 2, p. 245–249, nov. 2002.
- BUEHNER, K. P.; ANAND, S.; GARCIA, A. Prevalence of thermophilic bacteria and spores on 10 Midwest dairy farms. **Journal of Dairy Science**, p. 1–8, set. 2014.
- FAGUNDES, C. M. et al. Presença de *Pseudomonas* spp em função de diferentes etapas da ordenha com distintos manejos higiênicos e no leite refrigerado. **Ciência Rural**, v. 36, n. 2, p. 568–572, abr. 2006.
- FAOSTAT. **Food and Agriculture Organization of The United Nations**, 2010. Disponível em: <<http://faostat3.fao.org/faostat-gateway/go/to/home/E>>. Acesso em: 2 set. 2014.
- FONSECA, C. R. DA et al. Qualidade do leite de cabra in natura e do produto pasteurizado armazenados por diferentes períodos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n. 4, p. 944–949, dez. 2006.
- FUQUAY, J.; FOX, P.; MCSWEENEY, P. **Encyclopedia of Dairy Sciences**. 2. ed. New York: Elsevier, 2011. p. 4170.
- GLEESON, D.; O'CONNELL, A.; JORDAN, K. Review of potential sources and control of thermophilic bacteria in bulk-tank milk. **Irish Journal of Agricultural and Food Research**, v. 52, n. 2, p. 217–227, 2013.
- GRAM, L. et al. Food spoilage--interactions between food spoilage bacteria. **International journal of food microbiology**, v. 78, n. 1-2, p. 79–97, 15 set. 2002.
- ISO. ISO 11059 – **Milk and milk products** - Method for the enumeration of *Pseudomonas* spp. Geneva: International Standardization Organization, 2009.
- IVY, R. A et al. Identification and characterization of psychrotolerant sporeformers associated with fluid milk production and processing. **Applied and environmental microbiology**, v. 78, n. 6, p. 1853–64, mar. 2012.
- IZIDORO, T. B. et al. Atividade proteolítica de bactérias psicrófilas em leites estocados em diferentes temperaturas. **Revista Ceres**, v. 60, n. 4, p. 452–457, ago. 2013.
- KONDYLI, E. et al. Chemical composition and microbiological quality of ewe and goat milk of native Greek breeds. **Small Ruminant Research**, v. 103, n. 2-3, p. 194–199, abr. 2012.
- MACHADO, S. G.; BAZZOLLI, D. M. S.; VANETTI, M. C. D. Development of a PCR method for detecting proteolytic psychrotrophic bacteria in raw milk. **International Dairy Journal**, v. 29, n. 1, p. 8–14, mar. 2013.
- MARCHAND, S. et al. Heterogeneity of heat-resistant proteases from milk *Pseudomonas* species. **International journal of food microbiology**, v. 133, n. 1-2, p. 68–77, 31 jul. 2009.
- MATTOS, M. R. DE et al. Qualidade do leite cru produzido na região do agreste de Pernambuco, Brasil. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 31, n. 1, p. 173, 30 abr. 2010.

- NÖRNBERG, M. F. B. L. et al. Proteolytic activity among psychrotrophic bacteria isolated from refrigerated raw milk. **International Journal of Dairy Technology**, v. 63, n. 1, p. 41–46, fev. 2010.
- PELLEGRINI, L. G. DE et al. Características físico-químicas e cor instrumental de ricota fresca de leite de cabra. **Synergismus scyentifica UTFPR**, v. 07, n. 1, 2012.
- PERRY, K. S. P. Queijos: aspectos químicos, bioquímicos e microbiológicos. **Química Nova**, v. 27, n. 2, p. 293–300, abr. 2004.
- PINTO, C. L. DE O.; MARTINS, M. L.; VANETTI, M. C. D. Qualidade microbiológica de leite cru refrigerado e isolamento de bactérias psicrotróficas proteolíticas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n. 3, p. 645–651, set. 2006.
- RAYNAL-LJUTOVAC, K.; GABORIT, P.; LAURET, A. The relationship between quality criteria of goat milk, its technological properties and the quality of the final products. **Small Ruminant Research**, v. 60, n. 1-2, p. 167–177, out. 2005.
- ROBINSON, R. K. **Dairy Microbiology Handbook: The Microbiology of Milk and Milk Products**. 3. ed. New York: John Wiley and Sons, 2002. p. 784.
- SAMARŽIJA, D.; ZAMBERLIN, Š.; POGAČIĆ, T. Psychrotrophic bacteria and milk and dairy products quality. **Mljekarstvo**, v. 62, n. 2, p. 77–95, 2012.
- SØRHAUG, T.; STEPANIAK, L. Psychrotrophs and their enzymes in milk and dairy products: Quality aspects. **Trends in Food Science & Technology**, v. 8, n. 2, p. 35–41, fev. 1997.
- TEH, K. H. et al. Thermo-resistant enzyme-producing bacteria isolated from the internal surfaces of raw milk tankers. **International Dairy Journal**, v. 21, n. 10, p. 742–747, out. 2011.
- THOMAS, A.; PRASAD, V. Thermotolerant Bacteria in Milk- A Review. v. 3, n. 6, p. 2438–2442, 2014.
- THOMAS, S. B. et al. The Seasonal Incidence of Thermotolerant Organisms. **International Journal of Dairy Technology**, v. 5, n. 4, p. 267–271, jul. 1952.
- WEHR, H. M.; FRANK, J. F. **Standard Methods for the Examination of Dairy Products**. 17. ed. Washington: American Public Health Association, 2004. p. 570.
- YAMAZI, A. K. et al. Long cold storage influences the microbiological quality of raw goat milk. **Small Ruminant Research**, v. 113, n. 1, p. 205–210, jun. 2013.
- ZENI, M. P. et al. Influência dos microrganismos psicrotróficos sobre a qualidade do leite refrigerado para produção de UHT. **Unoesc e Ciência**, v. 4, n. 1, p. 61–70, 2013.

## 5 CONCLUSÃO

O leite cru de cabra produzido no Paraná apresenta limites de aeróbios mesófilos dentro dos padrões legais. Apesar disso, as altas contagens de coliformes indicam higiene precária na ordenha.

Micro-organismos proteolíticos predominam na microbiota das amostras de leite de cabra estudadas, determinando uma rápida deterioração do produto, além de baixo rendimento na fabricação de derivados como o queijo e possíveis defeitos sensoriais.

A maioria das propriedades apresentou contagens aceitáveis de micro-organismos termodúricos, indicando que a deterioração do produto terá como causa principal as enzimas proteolíticas e lipolíticas produzidas por micro-organismos psicotróficos e proteolíticos no leite cru, como a *pseudomonas* spp.. No entanto, os dados sobre micro-organismos deteriorantes em leite de cabra ainda são escassos, necessitando de mais estudos para determinar quais os principais gêneros e espécies deteriorantes e a origem da contaminação.

A qualidade físico-química manteve-se dentro dos padrões determinados pela legislação. Porém, foi observado variações circunstanciais entre as amostras quanto à lactose, proteína, gordura, demonstrando a necessidade de mais estudos sobre a normalidade da composição físico-química do leite de cabra.

## **APÊNDICES**

## APÊNDICE A

Contagens de micro-organismos aeróbios mesófilos, coliformes totais, *Escherichia coli*, termodúricos mesófilos, termodúricos psicrotróficos, psicrotróficos, *Staphylococcus* coagulase positiva, *Pseudomonas* spp., proteolíticos e a prova de lactofermentação em leite cru de cabra, de oito propriedades do estado do Paraná, entre o período de Outubro de 2013 a Agosto de 2014.

Tabela 1 - Contagens de micro-organismos aeróbios mesófilos, coliformes totais, *Escherichia coli*, termodúricos mesófilos, termodúricos psicrotróficos, psicrotróficos, *Staphylococcus* coagulase positiva, *Pseudomonas* spp., proteolíticos e a prova de lactofermentação em leite cru de cabra, de oito propriedades do estado do Paraná na primavera.

Amostra	Aeróbios Mesófilos	Coliformes Totais	<i>E.coli</i>	Lactofermentação	Termodúrico Mesófilo	Termodúrico Psicrotrófico	Psicrotrófico	<i>Staphylococcus</i> coagulase positiva	<i>Pseudomonas</i> spp.	Proteolíticos
A	490.000	70	70	Digerido	795	10	44.500	10	<10	420.000
B	3.900	10	10	Digerido	50	<10	2.500	55	<10	3.650
C	580.000	2.500	2.500	Digerido	240	<10	2.050	3.050	5	25.500
D	1.700	2.040	580	Digerido	60	<10	8.200	45	<10	19.500
E	25.300	4	<1	Digerido	<10	590	1.100	70	<10	6.500
F	54.000	3.800	<1	Digerido	195	30	179.000	400	<10	90.000
G	20.000	1.400	<1	Esponjoso	70	50	260.000	44.000	3.833	315.000
H	31.900	840	<1	Digerido	<10	<10	21.600	10	15.840	5.000

Tabela 1 - Contagens de micro-organismos aeróbios mesófilos, coliformes totais, *Escherichia coli*, termodúricos mesófilos, termodúricos psicrotróficos, psicrotróficos, *Staphylococcus* coagulase positiva, *Pseudomonas* spp., proteolíticos e a prova de lactofermentação em leite cru de cabra, de oito propriedades do estado do Paraná no verão.

Amostra	Aeróbios Mesófilos	Coliformes Totais	<i>E.coli</i>	Lactofermentação	Termodúrico Mesófilo	Termodúrico Psicrotrófico	Psicrotrófico	<i>Staphylococcus</i> coagulase positiva	<i>Pseudomonas</i> spp.	Proteolíticos
A	110.000	21.000	<1	Digerido	50	<10	43.500	10	<10	90.000
B	20.000	1.720	120	Digerido	75	<10	38.500	200	4.729	45.000
C	16.400	5.000	5.000	Líquido	40	<10	300	64.000	<10	19.500
D	13.000	41	<1	Digerido	160	115	18.500	10	48	46.000
E	14.000	360	<1	Digerido	75	15	3.650	450	26	27.000
F	13.100	2	<1	Digerido	30	<10	1.300	10	<10	1.200
G	2.200.000	58.000	200	Digerido	970	2.230	6.300.000	1.000	373.800	1.000.000
H	420.000	12.700	<1	Digerido	15	<10	480.000	10	97.500	100.000

Tabela 2 - Contagens de micro-organismos aeróbios mesófilos, coliformes totais, *Escherichia coli*, termodúricos mesófilos, termodúricos psicrotróficos, psicrotróficos, *Staphylococcus* coagulase positiva, *Pseudomonas* spp., proteolíticos e a prova de lactofermentação em leite cru de cabra, de oito propriedades do estado do Paraná no outono.

Amostra	Aeróbios Mesófilos	Coliformes Totais	<i>E.coli</i>	Lactofermentação	Termodúrico Mesófilo	Termodúrico Psicrotrófico	Psicrotrófico	<i>Staphylococcus coagulase positiva</i>	<i>Pseudomonas</i> spp.	Proteolíticos
A	230.000	2.270	210	Digerido	2.305	<10	5.900	10.500	<10	500.000
B	140.000	5.000	<1	Digerido	120	80	100.500	300	5.600	135.000
C	110.000	8	<1	Gelatinoso	1.355	<10	950	661.000	<10	15.500
D	10.000	8	<1	Gelatinoso	1.000	10	17.400	45	1	5.500
E	1.700	13	<1	Líquido	50	15	400	<10	10	1.600
F	11.300	1.300	<1	Líquido	490	<10	40.000	<10	5.428	8.500
G	250.000	360	<1	Gelatinoso	70	25	300	2.300	11.929	110.000
H	9.500	1.240	<1	Digerido	90	5	10.950	60	3.500	11.000

Fonte: elaborado pelo autor.

Tabela 3 - Contagens de micro-organismos aeróbios mesófilos, coliformes totais, *Escherichia coli*, termodúricos mesófilos, termodúricos psicrotróficos, psicrotróficos, *Staphylococcus* coagulase positiva, *Pseudomonas* spp., proteolíticos e a prova de lactofermentação em leite cru de cabra, de oito propriedades do estado do Paraná no inverno.

Amostra	Aeróbios Mesófilos	Coliformes Totais	<i>E.coli</i>	Lactofermentação	Termodúrico Mesófilo	Termodúrico Psicrotrófico	Psicrotrófico	<i>Staphylococcus coagulase positiva</i>	<i>Pseudomonas</i> spp.	Proteolíticos
A	290.000	2.000	<1	Esponjoso	45	<10	17.900	<10	1.108	35.000
B	37.100	610	<1	Esponjoso	70	15	57500	<10	1900	550.000
C	9.600	9	<1	Gelatinoso	250	<10	1450	11.500	856	8.000
D	3.500	38	<1	Digerido	30	<10	50	<10	5	700
E	1.300	40	<1	Líquido	5	<10	650	1.800	25	2.500
F	4300000	143000	1000	Digerido	280	160	5400000	11500	100000	2500000
G	23.300	520	10	Digerido	110	<10	10	<10	38.329	150
H	550.000	30.000	<1	Digerido	300	10	78500	650	19.500	70.000

Fonte: elaborado pelo autor

## APÊNDICE B

Características físico-químicas do leite cru de cabra, produzidas por oito propriedades do estado do Paraná no período de outubro de 2013 a agosto de 2014.

Tabela 1 - Características físico-químicas do leite cru de cabra, produzidas por oito propriedades do estado do Paraná na primavera.

N	Acidez Dornic	Densidade	Crioscopia °H	Fosfatase	Peroxidase	pH	Condutividade	Fervura	Gordura (%)	Proteína (%)	Lactose (%)	SNG	Sólidos (%)	CCS (x1000/ml)	Ureia
A	18	1,031	-0,555	Positivo	Positivo	6,57	6,06	Estável	3,72	3,18	4,53	8,71	12,43	1.889	17,33
B	13	1,029	-0,558	Positivo	Positivo	6,64	7,25	Estável	2,95	2,5	4,29	7,7	10,65	877	14,95
C	17	1,029	-0,568	Positivo	Positivo	6,64	7,49	Estável	3,34	2,88	4,22	8,1	11,44	7.240	23,76
D	22	1,036	-0,558	Positivo	Positivo	6,29	5,09	Estável	4,06	4,35	5,1	10,54	14,6	167	13,36
E	17	1,029	-0,556	Positivo	Positivo	6,63	6,63	Estável	3,74	2,98	4,4	8,37	12,11	1.122	16,25
F	15	1,030	-0,559	Positivo	Positivo	6,68	6,95	Estável	3,04	3,18	4,07	8,19	11,23	814	24,12
G	16	1,030	-0,543	Positivo	Positivo	6,78	5,92	Estável	4,56	3,05	4,32	8,38	12,94	1.122	24,5
H	15	1,028	-0,56	Positivo	Positivo	6,67	6,28	Estável	2,96	2,73	4,32	7,99	10,95	726	15,41

Tabela 2 - Características físico-químicas do leite cru de cabra, produzidas por oito propriedades do estado do Paraná no verão.

N	Acidez Dornic	Densidade	Crioscopia °H	Fosfatase	Peroxidase	pH	Condutividade	Fervura	Gordura (%)	Proteína (%)	Lactose (%)	SNG	Sólidos (%)	CCS (x1000/ml)	Ureia
A	18	1,029	-0,544	Positivo	Positivo	6,37	6,19	Estável	3,4	3,03	4,18	8,15	11,55	1.563	18,3
B	14	1,024	-0,546	Positivo	Positivo	6,58	7,35	Estável	2,19	3,05	4,23	8,16	10,35	1.792	17,48
C	18	1,029	-0,57	Positivo	Positivo	6,65	7,42	Estável	3,91	3,21	4,03	8,32	12,23	9.500	22,39
D	16	1,029	-0,566	Positivo	Positivo	6,46	6,57	Estável	2,07	3,23	4,54	8,69	10,76	3.903	24,23
E	17	1,032	-0,557	Positivo	Positivo	6,6	6,19	Estável	3,84	3,25	4,55	8,85	12,69	2.579	19,1
F	16	1,030	-0,567	Positivo	Positivo	6,49	7,09	Estável	3,2	3,01	4,14	8,05	11,25	1.043	28,04
G	20	1,032	-0,567	Positivo	Positivo	6,55	6,33	Estável	4,48	3,7	4,24	9,01	13,49	1.893	38,91
H	17	1,030	-0,557	Positivo	Positivo	6,64	7,38	Estável	2,88	3,04	3,9	7,82	10,7	1.402	35,8

Tabela 3 - Características físico-químicas do leite cru de cabra, produzidas por oito propriedades do estado do Paraná no outono.

N	Acidez Dornic	Densidade	Crioscopia °H	Fosfatase	Peroxidase	pH	Condutividade	Fervura	Gordura (%)	Proteína (%)	Lactose (%)	SNG	Sólidos (%)	CCS (x1000/ml)	Ureia
A	21	1,031	-0,57	Positivo	Positivo	6,45	7,32	Estável	4,33	3,58	4,43	9,12	13,45	1.789	21,24
B	16	1,031	-0,568	Positivo	Positivo	6,91	8,15	Estável	3,29	3,54	3,97	8,55	11,84	1.051	38,85
C	22	1,033	-0,573	Positivo	Positivo	6,49	8,64	Estável	3,65	3,43	4,1	8,64	12,29	2.467	22,13
D	22	1,033	-0,562	Negativa*	Positivo	6,7	6,46	Estável	3,39	3,79	4,85	9,72	13,11	468	24,27
E	15	1,031	-0,571	Positivo	Positivo	6,92	7,42	Estável	4,66	4,17	4,12	9,48	14,14	1.888	24,42
F	21	1,031	-0,568	Positivo	Positivo	6,38	6,79	Estável	3,78	3,48	4,21	8,7	12,48	3.410	28,93
G	21	1,032	-0,56	Positivo	Positivo	6,61	6,26	Estável	4,38	4,08	4,21	9,37	13,75	1.861	40,35
H	18	1,030	-0,565	Positivo	Positivo	6,6	6,57	Estável	3,58	3,26	4,28	8,54	12,12	474	38,9

Fonte: elaborado pelo autor.

Tabela 4 - Características físico-químicas do leite cru de cabra, produzidas por oito propriedades do estado do Paraná no inverno.

N	Acidez Dornic	Densidade	Crioscopia °H	Fosfatase	Peroxidase	pH	Condutividade	Fervura	Gordura (%)	Proteína (%)	Lactose (%)	SNG	Sólidos (%)	CCS (x1000/ml)	Ureia
A	19	1,031	-0,562	Positivo	Positivo	6,13	7,02	Estável	4,37	3,44	4,4	8,89	13,26	894	15,85
B	19	1,036	-0,573	Positivo	Positivo	6,3	5,66	Estável	-	-	-	-	-	-	-
C	19	1,029	-0,562	Positivo	Positivo	6,03	8,11	Estável	5,17	3,79	3,91	8,72	13,89	9.500	23,2
D	24	1,028	-0,572	Negativa*	Positivo	6,3	6,74	Estável	5,18	3,78	4,66	9,57	14,75	4.004	17,99
E	25	1,029	-0,573	Positivo	Positivo	6,34	6,23	Estável	5,14	3,78	4,65	9,57	14,71	4.255	17,94
F	20	1,030	-0,572	Positivo	Positivo	6,57	6,1	Estável	-	-	-	-	-	-	-
G	19	1,031	-0,516	Positivo	Positivo	7,39	6,08	Estável	4,9	3,93	4,2	9,21	14,11	3.898	30,04
H	17	1,030	-0,57	Positivo	Positivo	7,37	6,9	Estável	4,9	3,23	4,38	8,63	13,53	407	23,17

Fonte: elaborado pelo autor.