

Marcela de Oliveira Nogueira

**Características microbiológicas, físico- químicas e
índice de caseinomacropéptido em leite de cabra
refrigerado por até sete dias e fraudado com soro de
queijo**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado em Produção Animal Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Produção Animal.

Área de Concentração: Produção Animal

Orientador: Cláudia Freire de Andrade Morais Penna

Coorientadores:

Anna Christina de Almeida

Leorges Moraes da Fonseca

MONTES CLAROS

2019

FICHA CATALOGRÁFICA

N778c
2019 Nogueira, Marcela de Oliveira.

Características microbiológicas, físico-químicas e índice de caseinomacropetídeo em leite de cabra refrigerado por até sete dias e fraudado com soro de queijo/ Marcela de Oliveira Nogueira. Montes Claros, 2019.

89 f.: il.

Dissertação (Mestrado) - Área de concentração em Produção Animal, Universidade Federal de Minas Gerais / Instituto de Ciências Agrárias.

Orientador (a): Cláudia Freire de Andrade Morais Penna.

Banca examinadora: Anna Christina de Almeida, Eduardo Robson, Patrícia Vilhena Dias Andrade, Cláudia Freire de Andrade Morais Penna.

Inclui referências.

I. Caprino -- criação. 2. Soro do leite. 3. Leite -- proteínas. 4. Alimentos -- qualidade. I. Penna, Cláudia Freire de Andrade Morais. II. Universidade Federal de Minas Gerais. Instituto de Ciências Agrárias. III. Título.

CDU: 636.39

ELABORADA PELA BIBLIOTECA UNIVERSITÁRIA DO ICA/UFMG

Rachel Bragança de Carvalho Mota / CRB-6/2838

Marcela de Oliveira Nogueira

**Características microbiológicas, físico- químicas e
índice de caseinomacropéptido em leite de cabra
refrigerado por até sete dias e fraudado com soro de
queijo**

Dissertação apresentada ao Curso de
Mestrado em Produção Animal da
Universidade Federal de Minas Gerais,
como requisito parcial para a obtenção
do título de Mestre em Produção Animal

Área de Concentração: Produção Animal

Linha de Pesquisa: Ciência e Tecnologia
de Alimentos

Orientador: Cláudia Freire de Andrade
Morais Penna

Instituto de Ciências Agrárias da UFMG

Aprovado pela banca examinadora constituída pelos professores:

Profa. Anna Christina de Almeida

UFMG/ICA

Prof. Eduardo Robson

UFMG/ICA

Dra. Patrícia Vilhena Dias Andrade

Caseum Queijo e CIA

Prof. Cláudia Freire de Andrade

Morais Penna

EV/UFMG

Montes Claros, 21 de fevereiro de 2019

Dedico essa conquista a minha família que me apoiou e que sonhou comigo essa realização.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Deus, por nunca me deixar desistir diante das dificuldades dessa caminhada e da vida.

À Professora, orientadora Cláudia, por ter me acolhido e acreditado no meu potencial, por ter estado do meu lado nos momentos difíceis e ajudado a enriquecer meus conhecimentos. Obrigada por tudo!

À Professora Anna, ao professor Max, à Stephanie e a todos os outros que me ajudaram a resgatar o tempo perdido e chegar até aqui.

À minha avó Beatriz e aos meus pais, pela fonte inesgotável de amor e doação, que acompanharam minhas alegrias e sofrimentos, sempre incentivando e me apoiando para tornar esse sonho possível.

As minhas amigas da república óasis que sempre me incentivaram e acreditaram em mim, e as minhas novas amigas do mestrado que tive a oportunidade de conhecer nas dificuldades do dia a dia do laboratório.

A todos os professores do mestrado, alunos e amigos que cultivei ao longo desses dois anos.

Aos servidores Edvaldo e Marco que sempre me ofereceram todo o suporte necessário.

Aos, produtores de leite de cabra da região metropolitana e da Zona da Mata e a todos envolvidos direta e indiretamente a todo processo do experimento tornando possível sua execução.

A todos os autores citados neste trabalho.

À Universidade Federal de Minas Gerais, em especial a Escola de Veterinária e à coordenação da pós-graduação em produção animal.

A todos, minha eterna gratidão.

“É preciso que eu suporte duas ou três larvas
se quiser conhecer as borboletas”...

O Pequeno príncipe
ANTOINE DE SAINT - EXUPÉRY

RESUMO

O consumo do leite caprino no Brasil está em expansão, como forma de suprir a demanda do crescimento da população alérgica ao leite bovino e do consumo de produtos *gourmet*. Minas Gerais, se destaca como maior produtor de derivados lácteos caprino para fins comerciais. As cabras apresentam menor produtividade diária quando comparadas com as vacas, fator que propicia que o leite cru fique mantido sob refrigeração por longos períodos até que a coleta pela indústria beneficiadora se torne economicamente viável. Grande parcela dos produtores de leite caprino o comercializam tanto na forma pasteurizada quanto na forma de queijos especiais, questiona-se assim, a ocorrência da prática de adição do soro de queijo de cabra ao leite cru, com o intuito de aumentar a venda do leite fluído para consumo direto. Esta adição de soro, pode comprometer a qualidade nutricional e a segurança microbiológica do produto final. Objetivando verificar a viabilidade da aplicação do índice caseinomacropéptídeo, proveniente da quebra da caseína durante o processo de fabricação de queijos, como método de detecção para fraude de adição de soro em leite caprino, foram realizados dois experimentos em paralelo. O primeiro consistiu em avaliar as alterações na qualidade físico química e microbiológica de dez amostras de leite cru caprino, nos dias 0, 2, 4 e 7 de estocagem à temperatura média de 4°C, coletados de cinco propriedades da região Metropolitana e da Zona da Mata Mineira e a influência da estocagem sobre o índice caseinomacropéptídeo. No segundo experimento realizado com as mesmas dez amostras, objetivou-se realizar análises cromatográficas no leite de cabra cru adicionado com

0, 2, 5, 10 e 20% de soro de queijo de cabra de forma a quantificar o índice de caseinomacropéptido e avaliar sua aplicação em leite caprino. Para ambos os experimentos as amostras foram avaliadas quanto a sua qualidade microbiológica e físico-química. As amostras estocadas apresentaram contagens elevadas (10^5 , 10^6 e 10^7 UFC/mL) de microrganismos psicrófilos proteolíticos, lipolíticos e mesófilos aeróbios, com pico de crescimento após o quarto dia de estocagem. Contudo, os parâmetros físico-químicos ficaram dentro do preconizado pela legislação. Observou-se durante a estocagem, aumento ($p < 0,05$) do índice de caseinomacropéptido, fator associado ao crescimento dos psicrófilos proteolíticos. Nas amostras fraudadas com concentrações de soro conhecidas, notou-se que pelas análises de rotina físico-químicas e microbiológicas realizadas na rotina da indústria de lácteos, não foi possível detectar a fraude, visto que, apesar de ter ocorrido redução expressiva dos teores de proteína e gordura, grande parte das amostras ainda atenderam os valores limítrofes preconizados pela legislação vigente. Entretanto, observou-se aumento ($p < 0,05$) dos valores de caseinomacropéptido para o leite adicionado de soro, através da técnica de cromatografia líquida de alta eficiência. Portanto, o estudo sugere a viabilidade da utilização do índice de caseinomacropéptido como método para detecção de fraude por adição de soro de queijo em leite caprino. Novos estudos são necessários para determinação dos valores limítrofes do índice estudado.

Palavras-chave: caprinocultura, detecção de soro, proteínas do leite, qualidade.

ABSTRACT

The consumption of goat milk in Brazil is expanding, as a way to supply the demand of the growth of the allergic population to the bovine milk and the consumption of gourmet products. Minas Gerais, is the main producer of goat dairy derivatives for commercial purposes. Goats present lower daily productivity when compared to cows, a factor which favors that the raw milk is kept under refrigeration for long periods until the collection by the processing industry becomes economically viable. Most goat milk producers market it in pasteurized form and in the form of special cheeses, like this, it is questioned the occurrence of the practice of adding whey of goat cheese to raw milk, in order to increase the sale of fluid milk for direct consumption. This addition of serum may compromise the nutritional quality and microbiological safety of the final product. The objective was to verify the possibility of the application of the caseinomacropeptide index, derived from the breakage of casein during the cheesemaking process, as a detection method for fraud of addition of serum in goat milk, for this, two experiments were carried out in parallel. The first consisted of to evaluate the changes in the physical and microbiological quality of ten samples of raw goat milk on days 0, 2, 4 and 7 of storage at a mean temperature of 4 ° C, collected from five properties in the Metropolitan Region and the Zona da Mata Mineira and the influence of storage on the caseinomacropeptide index. In the second experiment carried out with the same ten samples, the objective was to carry out chromatographic analyzes on raw goat's milk added with 0, 2, 5, 10 and 20% of goat cheese serum in order to quantify the caseinomacropeptide index and to evaluate its application in goat milk. For both experiments the samples were evaluated for their microbiological

and physicochemical quality. The stored samples presented high counts (10^5 , 10^6 and 10^7 UFC/ mL) of proteolytic, lipolytic and mesophilic aerobic psychrotrophic microorganisms, with peak growth after the fourth day of storage. However, the physicochemical parameters were within the limits recommended by the legislation. Was observed during storage, an increase ($p < 0.05$) in the caseinomacropeptide index, a factor associated with the growth of proteolytic psychrotrophs. In the fraudulent samples with known concentrations of serum, it was observed that the routine physical-chemical and microbiological analyzes carried out in the routine of the dairy industry, it was not possible to detect the fraud, since, although there was an expressive reduction of protein and fat content, most of the samples still met the limits recommended by the current legislation. However, there was an increase ($p < 0.05$) in caseinomacropeptide values for milk added by serum, using the high efficiency liquid chromatography technique. Therefore, the study suggests the feasibility of the use of the caseinomacropeptide index as a method to detect fraud by addition of cheese serum in goat milk. News studies are needed to determine the borderline values of the index studied.

Keywords: goat breeding, serum detection, milk proteins, quality.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1- Relação da quantidade de ácidos graxos livres com o crescimento de microrganismos lipolíticos encontrados nas amostras de leite caprino armazenados a temperatura média de 4°C durante 7 dias.....	58
FIGURA 2- Relação Caseinomacropéptido x Psicotróficos proteolíticos no leite caprino armazenado a temperatura média de 4°C durante 7 dias.....	59
FIGURA 1- Relação do Caseinomacropéptido (mg/L), proteína (%) e gordura (%) no leite caprino adicionado com 0, 2, 5, 10 e 20% de soro.....	83

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – Comparação dos resultados das análises físico-químicas com a legislação do MAPA.....	48
TABELA 2 – Perfil proteico, e índices de caseinomacropéptido, proteólise e lipólise do leite de cabra estocado por sete dias a temperatura média de 4°C.....	52
TABELA 3- Contagem de microrganismos mesófilos aeróbicos, psicrotróficos proteolíticos e lipolíticos, contagem bacteriana total e contagem de células somáticas em leite de cabra estocado por sete dias em condições laboratoriais.....	55
TABELA 1- Resultados das análises físico-químicas para o leite de cabra adicionado com concentrações conhecidas de soro.....	75
TABELA 2- Resultados médios da contagem de microrganismos mesófilos aeróbios, psicrotróficos lipolíticos e proteolíticos, contagem bacteriana total e contagem de células somáticas em leite de cabra cru adicionado de 0, 2, 5, 10 e 20%.....	79
TABELA 3- Valores médios de caseinomacropéptido obtidos pela análise de cromatografia líquida de alta eficiência para o leite caprino cru adicionado de 0, 2, 5, 10 e 20% de soro de queijo de cabra.....	82

SUMÁRIO

1.Introdução.....	16
2.Objetivos.....	18
2.1.Objetivo geral.....	18
2.2.Objetivos específicos.....	18
3.Revisão de literatura.....	19
3.1.Cenário da produção de leite caprino.....	19
3.2.Composição do leite caprino.....	23
3.3.Alteração do caseínomacropetídeo no leite de cabra durante o período de estocagem.....	28
Agradecimentos.....	33
Referências.....	34
4 Artigo – Alteração da qualidade do leite cru de cabra e influência no índice caseínomacropetídeo durante o período de estocagem de sete dias.....	40
4.1.Introdução.....	42
4.2.Materiais e métodos.....	43
4.2.1.Coleta e preparo das amostras.....	43
4.2.2.Análises microbiológicas.....	44
4.2.2.1.Contagem de microrganismos mesófilos aeróbios.....	44
4.2.2.2.Contagem de microrganismos psicrotróficos proteolíticos e lipolíticos.....	44
4.2.2.3.Contagem bacteriana total.....	45
4.2.2.4.Contagem de células somáticas (CCS).....	45

4.2.3. Análises físico- químicas.....	45
4.2.3.1. Composição centesimal.....	45
4.2.3.2. Índice de proteólise do leite caprino cru.....	46
4.3.3.3. Índice de lipólise do leite caprino cru.....	46
4.3.3.4. Análises estatísticas.....	47
4.3. Resultados e Discussão.....	48
4.3.1. Caracterização das análises físico-químicas das amostras de leite de cabra.....	48
4.3.2. Resultados das análises físico –químicas relacionadas aos componentes proteicos do leite de cabra.....	51
4.3.3. Análises dos parâmetros microbiológicos.....	54
4.3.4. Relação da quantidade de ácidos graxos livres com o crescimento de microrganismos lipolíticos nas amostras de leite de cabra analisadas.....	57
4.3.5. Relação do caseinomacropéptideo em função do crescimento de microrganismos proteolíticos durante a estocagem no leite de cabra.....	59
4.4. Conclusões.....	60
4.5 Considerações finais.....	61
Agradecimentos.....	62
Referências.....	63
5 Artigo – Índice de caseinomacropéptideo como ferramenta para detecção de fraude por adição de soro em leite de cabra.....	68
5.1. Introdução.....	70
5.2. Material e métodos.....	71

5.2.1.Coleta e preparo das amostras.....	71
5.2.2.Preparo do soro e adições ao leite de cabra.....	72
5.2.3.Análises microbiológicas.....	72
5.2.3.1.Contagem de microrganismos mesófilos aeróbios.....	72
5.2.3.2.Contagem de microrganismos psicrotróficos lipolíticos e proteolíticos.....	72
5.2.3.3.Contagem bacteriana total.....	73
5.2.3.4.Contagem de células somáticas.....	73
5.2.4.Análises físico- químicas.....	73
5.2.4.1.Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).....	74
5.2.5.Análises estatísticas.....	74
5.3.Resultados e discussão.....	75
5.3.1.Resultados das análises físico- químicas do leite de cabra cru, adicionado de 0, 2, 5, 10 e 20% de soro de queijo de cabra.....	75
5.3.2.Resultados das análises microbiológicas do leite de cabra cru, adicionado de 0, 2, 5, 10 e 20% de soro de queijo de cabra.....	78
5.3.3.Resultados da cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) para o leite caprino cru adicionado de 0, 2, 5, 10 e 20% de soro de queijo de cabra.....	81
5.4.Conclusões.....	83
Agradecimentos.....	84
Referências.....	85

1 INTRODUÇÃO

De acordo com o senso do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE (2015), a produção nacional de caprinos está em expansão, sendo a região Nordeste o maior responsável pelo total efetivo de rebanho, principalmente no semiárido, com cerca de 92,6% do total. A região sudeste é responsável por cerca de 1,90%, da produção total brasileira, sendo Minas Gerais o maior produtor com 0,91%.

Nos últimos anos observa-se um expressivo crescimento na produção de leite de cabra na região da Zona da Mata Mineira. Podendo ser esta atividade, a principal fonte de renda do produtor ou apenas uma atividade secundária geradora de renda no período de entressafra da agricultura.

Visto que a produção diária de leite de cabra é pequena e as propriedades geralmente são de pequeno porte, o leite fica armazenado nos tanques de refrigeração por vários dias, até que se atinja volume suficiente para o beneficiamento, ou para que a coleta seja economicamente viável por indústrias de beneficiamento. A manutenção do leite caprino não pasteurizado sob refrigeração por longos períodos de tempo pode ocasionar mudanças em relação a sua composição centesimal, propiciar o crescimento microbiano e conseqüentemente comprometer a qualidade do leite e seus derivados. O fato da grande parcela dos produtores de leite caprino comercializarem tanto na forma pasteurizada, quanto na forma de queijos, e também ao fato da necessidade de prolongado tempo de armazenamento do leite em tanques de refrigeração quanto esse é entregue em indústria especializada, propiciam maior oportunidade de que possa ocorrer uma possível adulteração do leite

fluido, destinado ao consumo *in natura*, com objetivo de aumentar o volume líquido final e conseqüentemente o lucro. A adulteração do leite com soro de queijo destinado ao consumo direto pode comprometer a segurança microbiológica do produto final, visto que, não se tem conhecimento da qualidade microbiológica do soro do queijo adicionado. Além disso, reduz o valor nutricional do leite, uma vez que dilui os nutrientes, podendo ocasionar em desnutrição em crianças, idosos e lactantes.

Entretanto, pouco se conhece sobre a pesquisa dessa fraude em leite de cabra, e sobre a adequação do emprego do método oficial empregado para a pesquisa dessa em leite de vaca (índice de caseinomacropéptido ou CMP), para o leite de cabra. Dessa forma, foram conduzidos experimentos para tentar elucidar essas questões.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Avaliar a possível utilização do índice caseinomacropéptido como ferramenta de pesquisa para fraudes por adição de soro de queijo em leite de cabra e a qualidade microbiológica e físico-químicas do leite caprino refrigerado por até sete dias, também com a pesquisa desse índice.

2.2 Objetivos Específicos

- Avaliar a qualidade físico-química e microbiológica do leite de cabra produzido e estocado a temperatura média de 4°C por sete dias em condições laboratoriais.
- Analisar as possíveis alterações do índice CMP (caseinomacropéptido) no leite caprino em função do período de estocagem em condições laboratoriais.
- Analisar as possíveis alterações do índice CMP (caseinomacropéptido) no leite caprino em função dos níveis de adição de soro.
- Verificar a eficiência do índice CMP como método de detecção para adulteração de leite de cabra com soro de queijo.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Cenário da produção de leite caprino

O leite e os seus derivados merecem destaque no que se diz respeito a uma dieta equilibrada, por possuírem elevado valor nutricional, visto que são fontes consideráveis de proteínas de alto valor biológico e possuem valores expressivos de vitaminas e minerais. No Brasil, ainda que se tenha aumentado o consumo de leite nos últimos anos, de acordo com a Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição, o consumo de leite e derivados pelo brasileiro ainda é menor do que o recomendado (SBAN, 2015). A Organização Mundial da Saúde (OMS) preconiza que crianças de até dez anos tomem 400 mL de leite/dia; 700 mL/ dia para os jovens entre 11 e 19 anos e de 600 mL/dia para adultos e idosos (BRASIL, 2016).

O leite mais amplamente utilizado no mundo na alimentação humana é o de vaca, embora existam outros tipos de leites provenientes de pequenos ruminantes como o leite de cabra, que podem ser substitutos ao leite bovino, principalmente quando este é escasso ou causa intolerância ou alergias. Do ponto de vista nutricional, a utilização do leite caprino pode ser mais benéfica em crianças e idosos e em condições extremas de combate a malnutrição (FERNANDES; MARTINS; RODRIGUES, 2013).

De acordo com a *Food and Agriculture Organization- FAO* (2017), os números mundiais de caprinos têm aumentado constantemente nos últimos anos sendo muito mais rapidamente nos países em desenvolvimento como China, Índia, Nigéria e Paquistão, reflexo da característica particular dos

pequenos ruminantes de sobreviver em ambientes difíceis e áridos e produzir alimentos de baixo custo, que podem ser uma renda adicional ou utilizado para a própria subsistência. Contudo, não necessariamente, os países com maiores rebanhos são os que mais se destacam na indústria e comércio de laticínios de cabra. Nas regiões desenvolvidas como Europa e América do Norte, estão concentrados os programas de reprodução, buscando seleção genética de cabras leiteiras que possuam melhores rendimentos e períodos mais longos de lactação. Nas últimas décadas, raças especializadas na produção leiteira foram exportadas para muitos países em desenvolvimento e cruzadas com raças locais em uma tentativa de aumentar a produção, vislumbrando atingir o mercado consumidor. As raças de cabras leiteiras mais comuns no Brasil são Saanen, Anglo-Nubiana, Toggenburg e Alpina (FAO, 2017).

Em âmbito nacional, a produção de leite caprino é regulamentada pela Instrução Normativa 37 do MAPA (BRASIL, 2000), que estabelece as condições de beneficiamento, identidade e os requisitos mínimos de qualidade do leite de cabra destinado ao consumo humano. A *Food and Drug Administration* (FDA), determina nos Estados Unidos da América (EUA) que deve ser aplicado para leite de cabras, ovelhas e bubalinos o mesmo regulamento aplicado ao leite bovino, distinguindo apenas em relação apenas a contagem de células somáticas (CCS) e contagem bacteriana total (CBT) em leite de cabra (FDA, 2017), divergindo da IN 37 do MAPA (BRASIL 2000), que não contempla valores limítrofes de CCS, e tem como limite de CBT 500.000 UFC/mL, enquanto a FDA, regulamenta que leite de uma instalação de produção atenda a um padrão bacteriano de 50.000/mL.

Segundo Jacopini *et al.* (2011), o leite produzido em países em desenvolvimento, como o Brasil, é produzido basicamente pela agricultura familiar, e utilizado em sua maior parte, para a subsistência das famílias e para consumo nas proximidades dos locais de produção, principalmente na região Nordeste (FIGUEIREDO, 2017).

No Brasil, duas regiões apresentam estímulos para produção e mercados distintos, na região Nordeste os governos estaduais e federal estimulam a produção e através do Programa de Aquisição de Alimentos (PAA), onde o governo compra o leite caprino beneficiando agricultores familiares e uma faixa da população em risco alimentar que recebe o produto. No entanto, produtores desta região insatisfeitos com os recorrentes atrasos no pagamento e a baixa cota de leite estipulada por produtor, vem buscando outras alternativas para escoar a produção. Entretanto, na região sudeste, principalmente nos estados de Minas Gerais e Rio de Janeiro, a produção é destinada para um nicho de mercado consumidor especial, que busca produtos diferenciados de valor agregado, “gourmet”, ou mesmo nutracêuticos (ANUALPEC, 2013; EMBRAPA, 2013).

A região da zona da mata em Minas Gerais destaca-se com principal produtora do leite de caprino (FIGUEIREDO, 2017). Como forma de estimular a produção comercial de leite e derivados caprinos, o estado de Minas Gerais publicou, em 2011, a lei número 19.583, que dispõe sobre as condições para a produção artesanal de leite de cabra, ovelha e seus derivados. A lei, determina que produtores que manipulem ou beneficiem até 500 litros de leite diariamente com o intuito de comercializar os produtos, devem realizar o registro no Instituto Mineiro de Agropecuária (IMA).

Para realizar a Industrialização de leite e derivados é necessário que se tenha instalações e equipamentos adequados, a constituição legal de uma Firma e Indústria e por fim o credenciamento aos Serviços de Inspeção Sanitária, podendo ser Federal (SIF), Estadual (SIE no RJ, SISP em SP, IMA em MG) ou Municipal (SIM), quando a cidade tiver Legislação Específica para Produtos de Origem Animal.

A produção do leite caprino está amplamente relacionada à produção de derivados, sendo o queijo, o de maior significância. Segundo dados da FAO (2017), a diversidade de produtos lácteos varia de acordo com as circunstâncias culturais e sociais, hábitos alimentares, tecnologias de processamento de leite, e demanda de mercado dos diferentes países. De forma semelhante ao leite bovino, do leite de cabra pode-se derivar produtos de grande aceitação no mercado, como manteiga, iogurte, ricota e queijos finos (D'ANGINA, 1988). No Brasil, o leite de cabra é consumido principalmente processado na forma de derivados lácteos, elaborados pelas próprias famílias produtoras, visto que ha poucos laticínios operando especificamente para esta finalidade, e capazes de realizar a pasteurização do leite, principalmente devido ao problema da irregularidade na oferta resultando em insatisfação tanto para a indústria quanto para o consumidor (CORDEIRO; CORDEIRO, 2009; EMPRAPA, 2013).

A produção de derivados é limitada devido ao sabor marcante e ainda pouco apreciado no Brasil, principalmente por ser uma atividade industrial relativamente recente no país e por ainda dispor de limitado apoio governamental para o desenvolvimento destas atividades (GOMES, 2016). Contudo, a indústria leiteira caprina está em larga desvantagem em relação

aos produtos bovinos em razão ao grande volume e aos custos de produção do leite de vaca no mercado. Os produtos lácteos caprinos constituem um nicho alternativo na indústria dos laticínios, mesmo nas regiões onde os derivados lácteos bovinos dominam o mercado (CAMPBELL, 1975). A produção e consumo tendem a se expandir devido ao desenvolvimento da agricultura familiar, ao interesse dos profissionais do *gourmet* por queijos finos e iogurte e pela recomendação médica desse leite a alérgicos ao leite bovino (HAENLEIN, 2004).

3.2 Composição do leite caprino

De acordo com MAPA (BRASIL, 2000), o leite de cabra é o produto oriundo da ordenha completa, ininterrupta, em condições apropriadas de higiene, de cabras sadias, bem alimentadas e descansadas. O leite caprino é um líquido branco, puro, de odor e sabor especiais e agradáveis, que possui elevado valor nutritivo por conter os elementos necessários à nutrição humana, como açúcares, proteínas, gorduras, vitaminas, ferro, cálcio, fósforo e outros minerais. A IN 37 do MAPA (BRASIL, 2000) estabelece os padrões mínimos estabelecidos para a composição do leite de cabra destinado ao consumo humano, que são: 2,8% de proteína bruta, mínimo de 4,3% de lactose, 8,20% de extrato seco desengordurado (ESD) e 0,7% de cinzas para todas as variedades (integral, desnatado e semidesnatado). Quando ao teor de gordura, são admitidos valores inferiores a 2,9% para as variedades integral e semidesnatado, mediante comprovação de que o teor médio de gordura de um determinado rebanho não atinge esse nível. Park e Haenlein

(2006) estabelecem que a composição média do leite caprino é de 3,8% de gordura, 3,5% de proteína, 4,1% de lactose e 0,8% de cinzas. Contudo, é comum que estes valores não sejam encontrados em análises de rebanhos.

Almeida *et al.* (2009) encontraram em rebanhos de caprinos nos estados de Minas Gerais e Rio de Janeiro o teor médio de gordura igual a 2,6%. Queiroga *et al.* (2007) encontraram valores inferiores quanto à proteína (2,7%), ESD (7,99%) e lactose (4,1%), ao avaliarem o leite produzido durante o período de lactação das cabras Saanen na região nordeste. Chávári *et al.* (2013) estudaram a composição do leite de cabras da raça Anglo Nubiana e encontraram 4,13% de gordura, 3,36% de proteína, 4,28% e lactose, 12,66% de extrato seco total (EST) e 8,55% de ESD. Dos componentes, a gordura e proteína são os mais importantes influenciadores da qualidade nutricional e tecnológica do leite. Fatores como raça, idade, condições climáticas, estágio de lactação e alimentação podem influenciar a produção, composição e características físico-químicas do leite de cabras (QUEIROGA *et al.*, 2007; JACOPINI *et al.*, 2011.).

Os glóbulos de gordura no leite caprino são caracteristicamente abundantes no diâmetro inferior a 3,5 μm , cerca de 28% dos glóbulos de gordura do leite de cabra possuem diâmetro de 1,5 μm enquanto que no leite bovino, essa percentagem não chega a 10% (D'ANGINA, 1988). Assim, o leite caprino é caracterizado por sua maior digestibilidade quando comparado ao leite bovino, pois possui maior concentração de glóbulos de gordura com menor diâmetro, bem como uma melhor distribuição na emulsão lipídica, promovendo uma maior área superficial para degradação enzimática, conferindo assim, melhor

eficiência na absorção e digestão pelo organismo humano, sendo indicado para crianças e idosos (AMARAL *et al.*, 2011).

Outro fator importante relacionado à gordura do leite é o perfil dos ácidos graxos. O leite caprino possui alto teor de ácidos graxos de cadeia curta e média, que possuem cerca de duas vezes mais ácidos graxos C4-C10 (compostos de 4 a 10 átomos de carbono) do que o leite de vaca. Esses ácidos graxos de cadeia curta possuem metabolismo diferente dos ácidos graxos de cadeia longa, conferindo uma melhor digestibilidade para o leite de cabra (SILVA *et al.*, 2015). Sobretudo os ácidos capróico (C6:0), caprílico (C8:0) e cáprico (C10:0), que são responsáveis pelo *flavour* característico do leite de cabra e seus derivados e que propiciam um melhor aproveitamento do produto pelo organismo, sendo indicados para pacientes com distúrbios intestinais (GOMES; SOUZA, 2012). Loewenstein *et al.* (1980), citados por Bonassi *et al.* (2000), consideram que a membrana do glóbulo de gordura do leite de cabra é menos estável que a do leite de vaca, com isso torna-se mais susceptível às mudanças de aroma e sabor relacionados a lipólise.

A lipólise do leite é proveniente ação de enzimas lipolíticas produzidas principalmente por microrganismos psicotróficos, que degradam os triglicerídeos do leite, liberando ácidos graxos livres, denominado esse processo de rancificação. Devido a baixa atividade hidrolítica das lipases quando seus substratos estão em meio aquoso e ao aumento gradativo de sua ação a medida que se disponibiliza uma maior concentração do substrato, pode-se esperar que quanto maior a porcentagem de gordura nos produtos, maior é a susceptibilidade à ação da enzima lipase (MESSIAS *et al.*, 2011). Moura (1997) observou que as enzimas extracelulares (lipases e proteases)

são resistentes a elevadas temperaturas, permanecendo no leite após a pasteurização.

Outro parâmetro da qualidade, relacionado diretamente aos aspectos sanitários, é a contagem de células somáticas (CCS), muito utilizado no leite bovino como indicador como ferramenta para diagnóstico da mastite. Contudo, para cabras, ainda se estuda a relação entre CCS e mastite. No leite caprino os valores para CCS são relativamente aumentados quando comparados os de vacas, podendo ser influenciados por diversos fatores não relacionados à mastite, como: ciclo reprodutivo, estação do ano, produção de leite, número de partos e dias em lactação (GOMES; SOUZA, 2012).

As proteínas principais do leite caprino podem ser divididas em dois grupos: o primeiro constituído pelas caseínas na forma de micelas, um agrupamento de várias moléculas de caseína ligadas a íons, como o fosfato de cálcio (α 1-caseína, α 2-caseína, e β -caseína - hidrofóbicas e κ -caseína-hidrofílicas), representando, em média, 80% das proteínas, e o segundo grupo se refere às proteínas solúveis do soro, α -lactoalbumina, β -lactoglobulina, albuminas séricas e imunoglobulinas (OLALLA *et al.*, 2009; RONCADA *et al.*, 2012). As proteínas do leite bovino com maior potencial alergênico são a α 1-caseína, α -lactoalbumina, β -lactoglobulina, globulina e albumina sérica (MORAIS *et al.*, 2010). A estabilidade da caseína ao tratamento térmico é essencial para fabricação e qualidade dos derivados lácteos (RECHE, 2013).

Em comparação com o leite de vaca, o leite de cabra é deficiente em α 1-caseína, a principal caseína alergênica do leite de vaca, e contêm uma maior fração de α 2-caseína, tornando esse leite potencialmente menos alergênico, e sendo assim, uma alternativa em casos de alergia ao leite de

vaca (EI-AGAMI, 2007). No geral, os estudos publicados sobre o perfil proteico do leite caprino enfatizam que as proteínas do leite de cabra têm maior digestibilidade do que as do leite de vaca, visto que a ação das proteases do leite no estômago é mais rápida, devido à menor quantidade da fração α 1-caseína em sua composição (HAELEIN, 2004; PARK, 2006; PARK *et al.*, 2007). Semelhante ao leite bovino, o principal carboidrato do leite caprino é a lactose, diferindo apenas quanto a sua concentração, que é aproximadamente 0,2 a 0,5% menor (CENACHI *et al.*, 2011).

Assim, por seu baixo potencial alergênico e boa digestibilidade, o leite de cabra é recomendado como alternativa para o leite bovino. Atualmente, a porcentagem de pessoas que possuem alergia e intolerância ao leite bovino está aumentando, principalmente entre as crianças menores de três anos e idosos e este crescimento está muito associado ao crescimento do uso de fórmula de leite infantil, de acordo com Ford *et al.* (2013). A intolerância é associada à presença insuficiente do organismo em produzir a enzima lactase em quantidade suficiente para digerir completamente o dissacarídeo denominado lactose, o açúcar predominante do leite. A deficiência dessa enzima conduz à má-digestão da lactose e conseqüentemente à intolerância ao leite bovino e seus derivados lácteos (TEO, 2002). E a alergia, consiste em uma reação anormal do sistema de defesa do organismo às proteínas do leite, que desenvolve anticorpos de defesa (IgE) e/ou células inflamatórias contra epítomos (ligações entre aminoácidos) de uma proteína alergênica, podendo acarretar em reações clínicas potencialmente mais graves (BRASIL, 2008; SANTALHA, 2017).

3.3 Alteração do caseinomacropeptídeo no leite de cabra durante o período de estocagem

O índice caseinomacropeptídeo (CMP), também chamado de glicomacropeptídeo quando apresenta porções de carboidrato na sua molécula, é resultante da hidrólise da k-caseína na etapa de coagulação enzimática pela ação da quimosina durante o processo de fabricação de queijo. O CMP é liberado no soro e o restante da k-caseína, a para-k-caseína, precipita junto a coalhada do queijo. Porém, proteases de origem bacteriana, principalmente as proteases termoestáveis oriundas de microrganismos psicotróficos, também podem resultar no aumento do CMP mesmo após o tratamento térmico e ocasionar em resultados falsos positivos (OLIVEIRA *et al.*, 2009), pois, a proteólise de origem bacteriana degrada a caseína, tendo preferência pela fração k-caseína, atuando de forma semelhante a quimosina, resultando assim na formação do Pseudo-CMP (FUKUDA, 2003; NOMBERG, TONDO, BARNDELLI, 2009).

O caseinomacropeptídeo é um peptídeo biologicamente ativo do soro do leite, de grande interesse na tecnologia de alimentos para o desenvolvimento de alimentos funcionais. Atividades biológicas, como a capacidade de ligar enterotoxinas, propiciar o crescimento de bifidobactérias, impedir a adesão bacteriana e viral, suprimir a secreção gástrica, inibir a agregação de plaquetas modular as respostas do sistema imunológico (EL-SALAM, 1996), juntamente com a sua elevada solubilidade e propriedades emulsificantes e geleificantes, conferem ao CMP uma grande funcionalidade tecnológica (GUEDES, 2012).

Contudo, apesar de todas as propriedades benéficas, o CMP é tido como resíduo industrial do processo de fabricação de queijos.

No Brasil, o método de detecção do índice caseinomacropéptido (CMP) em leite bovino é regulamentado pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, MAPA, através da Instrução Normativa Nº 68 de 2006 (BRASIL, 2006) e Instrução Normativa Nº7 de 2010 (BRASIL, 2010). O método de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), está sendo muito utilizado para detecção de CMP em leite bovino por ser uma técnica precisa e regulamentada pelo MAPA. A CLAE detecta diferentes concentrações de caseinomacropéptido nas amostras, porém é necessário realizar a análise das amostras imediatamente após o beneficiamento ou congela-las quando não for possível a análise imediata. Contudo, não se deve analisar por CLAE amostras coletadas no mercado varejista (VILLANOEVA *et al.*, 2014). A Instrução Normativa Nº69, de 2006 do MAPA (BRASIL, 2006), foi instituída com o objetivo de regulamentar limites da adição do soro de queijo ao leite de vaca destinado diretamente ao consumo, utilizando como critério a determinação quantitativa do CMP, que é resultante da ação proteolítica de enzimas sobre a caseína do leite. O leite bovino é considerado inadequado ao abastecimento direto quando a concentração de CMP for de até 30 mg/L (trinta miligramas por litro). Quando a concentração de CMP estiver entre 30mg/L e 75mg/L, o leite poderá ser beneficiado pelo laticínio, desde que o produto final seja destinado à produção de derivados lácteos como leites fermentados e bebidas lácteas.

Apesar da fragmentação do CMP e do Pseudo- CMP ocorrer, respectivamente, entre os aminoácidos 106-107 e 105-106 (MOTTA, 2013), ou

seja, em pontos diferentes o método CLAE de quantificação oficial não consegue diferenciá-los (BRASIL, 2006).

A Instrução Normativa 37 de 2000 (BRASIL, 2000), que regulamenta os parâmetros técnico de identidade e qualidade de leite de cabra, não abrange parâmetros limítrofes de CMP em leite cru ou processado. Segundo a legislação vigente, os parâmetros para que o leite caprino seja considerado fraudado ou falsificado são: adição de água; adição, subtração ou substituição de quaisquer componentes naturais ou estranhos à composição normal do leite de cabra, sem a devida aprovação prévia do Serviço de Inspeção Federal e declaração na rotulagem; adição ou presença de substâncias conservadoras ou inibidoras do crescimento de microrganismos; quando estiver cru e for comercializado como pasteurizado, esterilizado ou UHT; e adição de leite de outras espécies animais.

Em Minas Gerais, a lei estadual de nº19.583 (MINAS GERAIS, 2011), que incentiva a produção comercial no estado, determina para o recebimento do leite de cabra de terceiros a realização testes básicos da matéria-prima, tais como: determinação da acidez titulável; determinação da densidade relativa; características organolépticas (cor, cheiro, sabor e aspecto); temperatura; e lactofiltração. Sendo assim, nenhuma das legislações vigentes sugerem a investigação do CMP no leite caprino como um critério de inspeção, mesmo com a possível necessidade de avaliação do índice para a qualidade e segurança do leite de cabra destinado ao consumo direto.

Segundo Figueiredo (2017), são esperados valores mais elevados de CMP para leite caprino quando comparado ao leite de vaca, uma vez que, sua

proteína possui menor estabilidade quando comparados, portanto, seria mais susceptível à degradação enzimática por microrganismos psicrófilos. Em pesquisa realizada por Santos *et al.* (2016), em Santa Margarida, Minas Gerais, as amostras do leite de cabra cru, estocados à 4°C durante sete dias apresentaram índice de CMP médio de 49,52 mg/L. Comparando com a legislação para leite de vaca que não permite concentração de CMP acima de 30 mg/L, o leite analisado não poderia ser destinado a consumo direto, sugerindo assim, fraude por adição de soro de queijo ou proteólise.

De acordo com o Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA), entende-se como “soro de leite”, o produto lácteo líquido extraído da coagulação do leite utilizado no processo de fabricação de queijos, da caseína e de produtos similares (BRASIL, 2017). O soro lácteo é a porção aquosa que se separa da massa durante o processo de fabricação de queijos ou caseína, sendo que cerca de 85-90% do leite utilizado para a fabricação de queijos resultam em soro, que contém em torno de 55% dos nutrientes do leite, rico em proteínas, vitaminas, lactose e minerais (LOBATO, 2014). Das fraudes cometidas com o leite, a adição de soro de queijo ao leite fluido se destaca, por ser subproduto da indústria de queijos, de baixo custo, que se mistura facilmente ao leite fluído, tornando difícil a sua detecção, além de ser determinada por métodos laboratoriais caros (FREITAS *et al.*, 2011), que requerem mão de obra especializada, reagentes poluentes e longo tempo de análise (CARVALHO, 2007).

A adulteração do leite com o soro eleva o volume do leite comercializado e torna a concorrência no mercado desleal, resulta em prejuízos para empresas que atuam de acordo com os critérios da legislação e lesa o direito

do consumidor, pois pode resultar em: redução do valor nutritivo do alimento, diluição dos teores de proteínas e gorduras, e, em casos de consumo a longo prazo principalmente em lactantes, pode gerar desnutrição (OLIVEIRA *et al.*, 2009). Além desses inconvenientes, a adição resulta também na redução do rendimento, alteração da qualidade dos produtos beneficiados e diminuição da vida de prateleira (CORTEZ *et al.*, 2010), caracterizando assim, uma prática abusiva.

Agradecimentos

Este trabalho teve apoio da Capes (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior), do CNPq (Processo 420409/2016-5), do Lab UFMG, da Escola de Veterinária da UFMG e da Pró-reitoria de Pesquisa da Universidade Federal de Minas Gerais.

Referências

ABD EL-SALAM, M. M.; EL-SHIBINY, S.; BUCHEIM, W. Characteristics and potential uses of the casein macropeptide. *International Dairy Journal*, v.6, n.4, p.327- 341,1996.

ALMEIDA, J. F. Avaliação físico-química do leite de cabra *in natura* em alguns rebanhos de Minas Gerais e Rio de Janeiro. CIÊNCIA ANIMAL BRASILEIRA – **Anais** do VIII Congresso Brasileiro de Buiatria, 2009.

AMARAL, D. S. *et al.* Tendências de Consumo de leite de cabra: enfoque para a melhoria da qualidade. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 6, n. 1, p. 39-42, 2011.

ANUÁRIO DA PECUÁRIA BRASILEIRA- ANUALPEC. Rio Grande do Sul. Editora Gazeta. p. 114. 2013.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Instrução Normativa nº 37, de 8 de novembro de 2000. Aprova o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Leite de Cabra. *Diário Oficial da União Federativa do Brasil*, 18 de novembro de 2000.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Instrução Normativa no 68, de 12 de dezembro de 2006. Oficializa os Métodos Analíticos Oficiais Físico-Químicos, para Controle de Leite e Produtos Lácteos, em conformidade com o anexo desta Instrução Normativa, determinando que sejam utilizados nos Laboratórios Nacionais Agropecuários. *Diário Oficial da União Federativa do Brasil*, 14 de dezembro de 2006, seção 1, p.8-30, 2006a.

BRASIL. Instrução Normativa nº 69, de 13 de dezembro de 2006. Institui Critério de Avaliação da Qualidade do Leite *in natura*, Concentrado e em Pó, Reconstituídos, com base no Método Analítico Oficial Físico-Químico denominado “Índice CMP”, de que trata a Instrução Normativa nº 68, de 12 de

dezembro de 2006b. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 15 dez. 2006, seção 1, p.8.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento. Instrução Normativa nº7, de 2 de março de 2010. Oficializa a determinação de CMP em leite, por HPLC, eletroforese capilar e espectrometria de massas em leite, em apresentações integrais, semi-desnatadas e desnatadas, tratados por processos de UHT ou pasteurização. DOU. Brasília, DF, 2 de março de 2010.

BRASIL. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE. Efetivo dos rebanhos de médio porte, segundo as grandes regiões e unidades da federação, 2015. Disponível em: <https://ww2.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/ppm/2015/default_xls_brasil.shtm> Acesso em: 13 de novembro de 2018.

BRASIL. Portal Brasil. 2016. Disponível em: <<http://www.brasil.gov.br/economia-e-emprego/2015/03/ministerio-da-agricultura-quer-aumentar-a-producao-leiteira>>. Acesso em: 04 de dezembro de 2018.

CAMPBELL, J.R., and R.T.MARSHALL. The Science of Providing Milk for Man. **McGraw-Hill Book Co.**, New York, 1975.

CENACHI, D. B.; *et al.* Aspectos composicionais, propriedades funcionais, nutricionais e sensoriais do leite de cabra: Uma revisão. **Revista Instituto Cândido Tostes**. Nº 382, v.66, p. 12-20, 2011.

CARVALHO, B. M. A. **Detecção de soro de queijo em leite por espectrofotometria no infravermelho médio**. 2017. Tese de mestrado – Universidade Federal de Viçosa. 2007.

CORDEIRO, P. C.; CORDEIRO, A. G. P. C. A Produção de leite de Cabra no Brasil e seu mercado. X Encontro de Caprinocultores do Sul de Minas e Media Mogiana, Espírito Santo do Pinhal, 2009. Disponível em: <<http://www.capritec.com.br/pdf/LeitedeCabranoBrasil.pdf>>. Acesso em: 15 de março de 2017.

CORTEZ, M. A.S. *et al.* Características físico-químicas e análise sensorial do leite pasteurizado adicionado de água, soro de queijo, soro fisiológico e soro glicosado. **Revista do Instituto de Laticínios “Cândido Tostes”**, v. 65, n. 376, p.18-25, 2010.

D' ANGINA, R. **Campo e cidade: A cabra e seus Produtos**. Editora Nobel, 1988.

EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Caprinos & Ovinos em Revista**. Sobral: EMBRAPA, 2013.

FERNANDES D.L.E; MARTINS A.P.L.; ROGRIGUES A.M.M.N. **Composição química e propriedades organolépticas do leite de cabra de raça Charnequeira**. 2013. Dissertação de mestrado. Lisboa, 2013.

FIGUEIREDO, N. C. Leite de cabra: **Diagnóstico de qualidade na mesorregião da Zona da Mata Mineira e estudo do leite armazenado por sete dias em condições laboratoriais**. 2017. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Federal de Minas Gerais, 2017.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION. FAO. **Banco de dados FAOSTAT**. Disponível em: <<http://www.fao.org/agriculture/dairy-gateway/portal-lacteo/es/#.WMrrvG8rLIV>>. Acesso em: 16 de maio de 2017.

FORD, L.S. *et al.* Basophil reactivity, wheal size, and immunoglobulin levels distinguish degrees of cow's milk tolerance. **Journal Allergy. Clin. Immunol.**, v.131(1), p.180-6.e1-3, 2013.

FREITAS, J. R. F. *et al.* Ensinando sobre adulteração do leite: Relato de uma experiência utilizando materiais alternativos. **Revista Eletrônica de Extensão**, Florianópolis, v. 8, n. 11, p. 116- 130, 2011.

FUKUDA, S.P. **Estudo da correlação entre o método da ninidrina ácida e a cromatografia líquida de alta eficiência para a dosagem de glicomacropéptidos e caseinomacropéptido em leite**. 2003. Tese (Tecnologia de Alimentos) - Universidade Estadual de Campinas, 2003.

GUEDES P.V. **Caracterização reológica e ultraestrutura de géis produzidos à base de caseinomacropéptido**. 2012. Dissertação (Engenharia de Alimentos)- Universidade Federal do Paraná, 2012.

GOMES L.C.; SOUZA R. Produção de leite de cabra: oportunidades de negócio e qualidade do leite. **Revista mais leite**, v.16, p.36-40, 2012.

GOMES, B.V. Nota Técnica – Nº1: **Conjuntura Trimestral Caprino – Ovinocultura Pernambuco**. Companhia Nacional de Abastecimento, 2016. Disponível em: < <http://docplayer.com.br/26077957-Nota-tecnica-n-1-conjuntura-trimestral-caprino-ovinocultura-pernambuco.html> >. Acesso em: 20 de maio de 2017.

HAENLEIN, G. F. W. Goat milk in human nutrition. **Small Ruminant Res.**, Amsterdam, v. 51, n. 2, p. 155-63, 2004.

JACOPINI, L. A. *et al.* Leite de Cabra: Características e Qualidades. **Revista ACTA Tecnológica** - Revista Científica - ISSN 1982-422X, vol. 6, n. 1, 2011.

LOBATO, P. R. **Pesquisa da adição de soro de queijo ao leite pasteurizado comercializado em Minas Gerais: Determinação de CMP por cromatografia líquida de alta eficiência (CLA) e comparação dos métodos imunquímicos (STICL cGMP e BRW ELISA)**. 2014. Tese de mestrado – Universidade Federal de Minas Gerais, 2014.

MESSIAS, J. M., *et al.* Lipases microbianas: Produção, propriedades e aplicações biotecnológicas. **Semina: Ciências Exatas e Tecnológicas**, v. 32, n. 2, p. 213-234, 2011.

MINAS GERAIS. Lei Estadual nº 19.583, de 17 de agosto de 2011. Dispõe sobre as condições para manipulação e beneficiamento artesanais de leite de cabra e de ovelha e de seus derivados. Disponível em: < <http://www.caprileite.com.br/conteudo/150-II-lei-n-19-583-leite-legal-publicada-em-17-de-agosto-de-2011> >. Acesso em: 12 de abril de 2017.

MORAIS, M. B. *et al.* Alergia à proteína do leite de vaca. **Revista Pediatria Moderna**, v. 46, n. 5, p. 165-182, 2010.

MOTTA, T.M.C. **Implementação de metodologia analítica para avaliação de adulteração de leite bovino por adição de soro de queijo por CLAE - EM/EM.** 2013. Tese (Mestrado em Química)- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2013.

MOURA, C. J. **Efeito do resfriamento do leite sobre o rendimento e lipólise do queijo tipo parmesão.** 1997. 77p. Tese (Mestre em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 1997.

NÖMBERG, M.F.B.L.; TONDO, E.C.; BARNDELLI, A. Bactérias psicrotólicas e atividade proteolítica no leite cru refrigerado. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 37, n. 2, p.157-163, 2009.

OLALLA, M., *et al.* Nitrogen fractions of Andalusian goat milk compared to similar types of commercial milk. **Food Chemistry**, v. 113, p. 835-838, 2009.

OLIVEIRA, G. B.; GATTI, M. D. S.; VALADÃO, R. C.; *et al.* Detecção da adição fraudulenta de soro de queijo em leite: interferência da atividade de proteases bacterianas. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 64, n. 368, p. 56-65, 2009.

PARK Y. W.; HAENLEIN G.W. **Handbook of Milk of Non-Bovine Mammals.** Wiley-Blackwell. 2006.

PARK, Y. W. Minor Species Milk. In: PARK, Y.W., HAENLEIN, G. F. W. **Handbook of Milk of Non-bovine Mammals.** Oxford: Blackwell Publishing Professional, 2006. p. 393-406.

PARK, Y. W., *et al.* Physico-chemical characteristics of goat and sheep milk. **Small Ruminant Research**, v. 68, p. 88-113, 2007.

QUEIROGA, R. C. R. E.; COSTA, R. G.; BISCONTINI, T. M. B.; *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, 2007.

RECHE, N. L. M. **Influência do armazenamento do leite em resfriador por expansão direta sobre a contagem de micro-organismos e estabilidade da caseína.** 2013. 91f. Tese de mestrado -Universidade do Estado de Santa Catarina, 2013.

SANTALHA, M. *et al.* Food allergy in childhood. ***Birth and Growth medical journal***, v. 22, n. 2, p. 75-79, 2017.

SANTOS, A. R. *et al.* Avaliação da qualidade físico-química do leite de cabra cru produzido e estocado durante sete dias em propriedades na região de Santa Margarida – MG. ***XXV Semana de Iniciação Científica da UFMG.*** 2016.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE ALIMENTAÇÃO E NUTRIÇÃO (SBAN). **A importância do consumo de leite no atual cenário nutricional do brasileiro.** 2015. Disponível em: <http://sban.cloudpainei.com.br/source/SBAN_Importancia-do-consumo-de-leite.pdf>. Acesso em: 04 de dezembro de 2018.

TÉO, C. R. P. A. Intolerância à lactose: uma breve revisão para o cuidado nutricional. ***Arquivos de Ciências da Saúde da UNIPAR***, v. 6, n. 3, 2002.

VILLANOEVA, C.N.B.C. *et al.* Caseinomacropéptide index in UHT whole milk stored under different conditions of temperature and time. ***Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia.*** Belo Horizonte, v. 66, n. 1, p. 289-296, 2014.

4 ARTIGO

Alteração da qualidade do leite cru de cabra e influência no índice caseinomacropéptido durante o período de estocagem de sete dias

(Elaborado conforme normas da revista: Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes – Journal of Candido Tostes Dairy Institute)

ALTERAÇÃO DA QUALIDADE DO LEITE CRU DE CABRA E INLUÊNCIA NO ÍNDICE CASEINOMACROPEPTÍDEO DURANTE O PERÍODO DE ESTOCAGEM DE SETE DIAS.

Alteration of goat raw milk quality and influence on caseinomacropetide index during the seven days storage period.

Marcela de Oliveira Nogueira, Cecília Melo Vasconcelos, Amanda Ribeiro Santos, Raphael Rocha Wenceslau, Anna Christina de Almeida, Cláudia Freire de Andrade Moraes Penna

RESUMO

Minas Gerais é a principal produtora do leite caprino com intuito de comercialização no Brasil. Devido a baixa produtividade da cabra, há uma tendência de que a coleta do leite cru ocorra em intervalos maiores do que os observados para o leite de vaca, resultando em um leite cru mantido sob refrigeração por longos períodos. Dessa forma, o experimento consistiu em avaliar a degradação do leite cru caprino refrigerado à temperatura média de 4°C, e a influência no índice caseinomacropetideo. Foram avaliadas dez amostras de leite de cabra nos dias 0, 2, 4 e 7 de estocagem. As amostras analisadas apresentaram contagens elevadas (10^5 , 10^6 e 10^7 UFC/mL) de microrganismos psicrotróficos proteolíticos, lipolíticos e mesófilos aeróbios, com pico de crescimento após o quarto dia de estocagem. Os parâmetros físico químicos de teor de gordura, proteína total, extrato seco desengordurado, acidez titulável e índice crioscópico ficaram dentro do preconizado pela legislação. Contudo, observou-se tendência a redução da gordura durante o armazenamento e aumento ($p < 0,05$) na quantidade de ácidos graxos livres. O índice de proteólise também aumentou ($p < 0,05$) na medida que a proteína total e a caseína tenderam a diminuir. Foi observado elevação ($p < 0,05$) do índice de caseinomacropetideo durante a estocagem, associado ao crescimento dos psicrotróficos proteolíticos. Sugere-se com o estudo, a manutenção do leite cru de cabra refrigerado por mais de quatro dias pode influenciar sua qualidade devido a ocorrência de lipólise e proteólise associada à produção de enzimas extracelulares pelos microrganismos psicrotróficos e que o índice de caseinomacropetideo aumenta durante o período de estocagem de sete dias, uma vez que a proteólise resulta na quebra da caseína formando o Pseudo-CMP, que poderia gerar um falso resultado de fraudes por adição de soro ao leite. Portanto, essa estocagem poderá resultar, em derivados de baixa qualidade ou em menor rendimento industrial.

Palavras-chave: caprinocultura; estocagem prolongada; qualidade; temperatura.

ABSTRACT

Minas Gerais is the main producers of goat milk with the intention of commercialization in Brazil. Due to the low productivity of the goat, there is a tendency of the collection for the processing of the raw milk to occur in larger intervals than those observed for cow's milk, resulting in raw milk kept refrigerated for long periods. This way, the experiment consisted in

evaluating the degradation of raw goat milk refrigerated at average temperature of 4°C, and its influence on the caseinomacropetide index. Ten samples were evaluated on days 0, 2, 4 and 7 of storage. The analyzed samples presented high counts (10^5 , 10^6 and 10^7 UFC/mL) of proteolytic, lipolytic psychrotrophic microorganisms and aerobic mesophiles, with peak after the fourth day of storage. The chemical physical parameters of fat, acidity, total protein, defatted dry extract and cryoscopic index don't exceed the values permitted by the law. It was observed tendency to reduce fat during storage and increase ($p < 0,05$) in the amount of free fatty acids. The proteolysis index also increased ($p < 0,05$) while total protein and casein tended to decrease. It was observed elevation ($p < 0,05$) of caseinomacropetition index during storage, associated to the growth of proteolytic psychrotrophs. It is suggested with the study that the maintenance of cold goat's milk refrigerated for more than four days can influence its quality due to the occurrence of lipolysis and proteolysis associated with the production of extracellular enzymes by the psychrotrophic microorganisms and that the caseinomacropetide index increases during the period of storage of seven days, once, the proteolysis results in the breakdown of casein forming the Pseudo-CMP, which could lead to a false result of frauds by adding whey to milk. Therefore, this storage may react in low quality derivatives or in lower industrial yield.

Keywords: goat breeding; prolonged storage; quality; temperature.

4.1. INTRODUÇÃO

A produção de queijo de cabra no Brasil é bastante limitada devido ao sabor marcante e ainda pouco apreciado, principalmente por ser uma atividade industrial relativamente recente no país e por ainda dispor de limitado apoio governamental para o desenvolvimento destas atividades (GOMES, 2016). A região sudeste é responsável por cerca de 1,90% do total efetivo de rebanho nacional, sendo Minas Gerais o maior responsável com 0,91% (IBGE, 2015). Como forma de incentivar o pequeno produtor a investir na produção para fins comerciais, o estado de Minas Gerais, instituiu a lei N° 19.583, de 17 de agosto de 2011, que dispõe sobre as condições para manipulação e beneficiamento artesanais de leite de cabra e de ovelha e de seus derivados (MINAS GERAIS, 2011). Na região Sudeste, a produção é destinada para um nicho de mercado que busca produtos diferenciados de valor agregado, “gourmet” ou mesmo nutracêuticos (EMBRAPA, 2013) assim, atingem principalmente o público “classe A” (ANUALPEC, 2013).

No estado destaca-se, na região da Zona da Mata, a expansão da produção de leite de cabra destinado a comercialização, podendo ser em alguns casos a principal fonte de renda do produtor, e em outros apenas uma atividade secundária no período de entressafra da agricultura para complementar a renda (FIGUEIREDO, 2017). Figueiredo (2017) constatou

que muitos produtores da região da Zona da Mata mineira armazenam o leite caprino nos tanques de refrigeração por um período de sete dias de forma a tornar a coleta realizada pela indústria beneficiadora economicamente viável. Contudo, o leite constitui meio propício à colonização de bactérias de diferentes origens, devido à capacidade de adaptação dos microrganismos ao ambiente em um determinado período de tempo. Assim, a conservação do leite sob resfriamento nos tanques de refrigeração durante longos períodos pode propiciar o crescimento de microrganismos psicotróficos. As proteases de origem bacteriana, principalmente as proteases termoestáveis produzidas por microrganismos psicotróficos, também podem resultar no aumento do índice caseínomacropéptideo - CMP, e mesmo após o tratamento térmico, ocasionar em resultados falsos positivos quanto a fraudes por adição de soro de leite em leite cru (OLIVEIRA *et al.*, 2009), visto que, a proteólise de origem bacteriana sobre a k-caseína resulta na formação do Pseudo-CMP (FUKUDA, 2003). Considerando que a proteína do leite de cabra possui menor estabilidade, sugere-se que este seria mais susceptível à degradação enzimática por microrganismos psicotróficos e que, portanto, são esperados valores mais elevados de CMP para leite de cabra do que para o leite bovino.

Portanto, foi conduzido este estudo, visando avaliar a degradação do leite cru de cabra da região Metropolitana e da Zona da Mata em Minas Gerais, durante o período de estocagem de sete dias à temperatura média de 4°C.

4.2. MATERIAL E MÉTODOS

4.2.1. Coleta e preparo das amostras

Foram coletadas dez amostras de leite de cabra cru recém ordenhado das raças Saanen e Alpina, obtido de cinco propriedades localizadas na região Metropolitana e da Zona da Mata Mineira, em Minas Gerais. Foram realizadas duas visitas em cada propriedade, em intervalo de tempo superior uma semana para coleta das amostras, entre os meses de março à agosto de 2018. Cada amostra correspondeu a dois litros de leite. As amostras foram acondicionadas em recipiente isotérmico e encaminhadas ao Laboratório de Cromatografia e aos Laboratórios de Microbiologia de Alimentos e de Físico Química I, do Departamento de Tecnologia e Inspeção de Produtos de Origem Animal (DTIPOA) da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais (EV- UFMG), onde foram processadas.

O experimento consistiu em avaliar a qualidade microbiológica e físico-química do leite de cabra cru fresco (dia 0) e nos dias 2, 4 e 7 de estocagem à 4°C. Para isso, cada amostra foi subdividida assepticamente em quatro alíquotas de 50mL e armazenada, em recipiente estéril, sob refrigeração em temperatura média de 4°C, até o momento das análises.

4.2.2. Análises microbiológicas

Todas as 10 amostras de leite de cabra foram submetidas às contagens de microrganismos mesófilos aeróbios, psicrotróficos proteolíticos e psicrotróficos lipolíticos, de acordo com a metodologia descrita pela Instrução Normativa nº 62, de 26 de agosto de 2003 (BRASIL, 2003) nos dias 0, 2, 4 e 7 de estocagem. Para isso, as amostras de leite de cabra foram homogeneizadas e uma alíquota de 25 mL foi transferida para um frasco contendo 225 mL de salina peptonada 0,1% estéril, resultando na primeira diluição decimal. Seguiram-se as diluições seriadas em tubos identificados contendo 9 mL de salina peptonada 0,1% (BRASIL, 2003).

4.2.2.1. Contagem de microrganismos mesófilos aeróbios

Foram espalhadas alíquotas de um mililitro das diluições seriadas de 10^{-2} até 10^{-7} em placas de petri estéreis. Posteriormente, foram vertidos em cada placa cerca de 15 a 20 mL de Plate Count Ágar (PCA) fundido e mantido em banho-maria a 46°C. As placas foram homogeneizadas e mantidas em superfície plana para a solidificação do ágar. A seguir, foram incubadas por 48 horas a 36°C, com as placas invertidas (BRASIL, 2003).

4.2.2.2. Contagem de microrganismos psicrotróficos proteolíticos e lipolíticos

Para a quantificação dos microrganismos psicrotróficos utilizou-se as diluições 10^{-3} à 10^{-7} . Para a quantificação dos psicrotróficos proteolíticos, alíquotas de 0,1 mililitro de cada diluição foram semeadas, pela técnica de *spread-plate*, na superfície de placas de petri com ágar PCA (*Acumedia*) adicionado de 10% (v/v) de leite desnatado reconstituído (10% m/v) e autoclavado. As placas foram invertidas e incubadas em estufa B.O.D a 22°C por 72 horas. Antes de iniciar a contagem das colônias o ágar foi coberto por solução de ácido acético 10% (v/v) por um minuto, o excesso foi descartado e a placa encaminhada para o procedimento de contagem de colônias que apresentassem halos transparentes (BRASIL, 1993). A contagem

dos psicotróficos lipolíticos foi realizada em ágar Tributirina (*Merck*) adicionado de 1% (v/v) de azeite de oliva extra virgem (*Galo*®), por técnica de *spread-plate*. As alíquotas com as respectivas diluições foram invertidas e incubadas em estufa B.O.D a 22°C por cinco dias. Apenas as colônias formadoras de halo foram contadas como lipolíticas (BRASIL, 1993).

4.2.2.3. Contagem bacteriana total

As amostras, após a incubação do leite cru por cada período experimental, foram adicionadas de Azidiol® e mantidas sob refrigeração até o momento da análise. A contagem Bacteriana total foi determinada eletronicamente pelo equipamento IBC BactoCount (*Bentley Instruments Incorporated*®, Chaska, Minnesota, Estados Unidos) (BENTLEY..., 2002), pertencente ao LabUFMG, pela técnica de citometria de fluxo (International..., 2000).

4.2.2.4. Contagem de células somáticas (CCS)

As amostras de leite cru recém ordenhado e refrigerado foram acondicionadas em frascos com conservante Bronopol® e encaminhadas para o LabUFMG para determinação da CCS por equipamento eletrônico Bentley CombiSystem 2300® (BENTLEY...,1998) pela metodologia de citometria de fluxo.

4.2.3. Análises Físico-químicas

As análises físico-químicas foram realizadas em triplicata, exceto a análise de cromatografia. As amostras para análise cromatográfica foram armazenadas congeladas. O índice de caseínomacropéptídeo foi determinado conforme a Instrução Normativa nº 68 de 12 de dezembro de 2006 em sistema de CLAE, realizado em cromatógrafo Shimadzu Class 6.1, equipado com coluna de separação em gel Zorbax GF 250 (*Agilent*) (BRASIL, 2006). A mesma instrução normativa regeu as metodologias de determinação da acidez titulável e índice crioscópico (BRASIL, 2006).

4.2.3.1. Composição centesimal

Alíquotas de 50 mL de leite de cada propriedade foram acondicionadas em frascos com conservante Bronopol® e encaminhadas para o LabUFMG para determinação de teores

percentuais de gordura, lactose, extrato seco total e extrato seco desengordurado por equipamento eletrônico Bentley CombiSystem 2300® (BENTLEY...,1998), utilizando a metodologia de espectroscopia na região do infravermelho médio acoplada a FTIR (*Fourier Transform Infrared Spectroscopy*) (International..., 2000).

4.2.3.2. Índice de proteólise do leite caprino cru

O índice de proteólise foi determinado por meio do índice caseína: proteína verdadeira obtido pelo método de Kjeldahl (AOAC, 2012), sendo que todas as metodologias da *Association of Official Agricultural Chemists* (AOAC) foram adaptadas para micro-Kjeldahl. A quantificação do nitrogênio caseinoso foi obtida pela metodologia indireta número 998.07 da AOAC (2012). O nitrogênio não proteico foi obtido através da coagulação das proteínas do leite com solução de ácido tricloroacético (10% m/v) e acetato de sódio (1 Molar). A solução foi filtrada e 10 mL do filtrado foram pesados em tubo de Kjeldahl. A caseína precipitada foi retirada por filtração e o filtrado (10 mL) representa o nitrogênio não caseinoso, que seguiu para digestão e destilação (AOAC, 2012). O teor de proteína verdadeira foi apurado pela metodologia número 991.23 da AOAC (2012). O nitrogênio total foi obtido segundo Brasil (2006).

Foram utilizadas as seguintes equações para determinação da proteólise no leite:

Índice de proteólise = Teor de caseína / Teor de proteína verdadeira

Teor de caseína = (Nitrogênio total – Nitrogênio não caseinoso) * 6,38

Proteína total = (Nitrogênio total – Nitrogênio não proteico) * 6,38

4.2.3.3. Índice de lipólise do leite caprino cru

O índice de lipólise foi realizado de acordo com a metodologia de Deeth *et al.* (1975) a partir da titulação dos ácidos graxos livres (AGL). Para isso, foram pipetados 3 mL das amostras em um tubo de ensaio, misturados com 10 mL de solução de isopropanol, éter petróleo e ácido sulfúrico (40:10:1 v/v), 6 mL de éter petróleo P.A., 4 mL de água destilada e duas gotas de solução de azul de metileno. Posteriormente, a amostra foi agitada e ficou em repouso por 5 minutos. O sobrenadante foi pipetado e o volume anotado. Em um erlenmeyer adicionaram-se, ao sobrenadante, 2 gotas de solução metanólica de fenolftaleína (1% m/v) e

procedeu-se a titulação dos ácidos graxos livres com solução metanólica de KOH (0,02 N). O teor de AGL foi expresso em μ equivalente/mL de leite e calculado pela equação:

$$\text{AGL } (\mu \text{ equiv./ mL}) = (T \cdot N / P \cdot V) \cdot 1000$$

Onde:

T = volume titulado

N= normalidade da solução da metanólica de KOH

P = volume do sobrenadante retirado

V = volume da amostra de leite

4.2.3.4. Análises estatísticas

As variáveis microbiológicas e físico químicas foram testadas quanto à normalidade e homocedasticidade da distribuição dos resíduos por meio dos testes de *Shapiro-Wilk* e *Bartlett*. Para as variáveis que cumpriram as premissas da análise de variância, com seus valores originais ou após transformação logarítmica, o efeito do período de estocagem foi avaliado por meio do teste de F após ajuste de modelo misto que considerou a associação entre as medidas repetidas de uma mesma amostra ao longo do tempo. A matriz de covariância assumida foi a autoregressiva de primeira ordem. Teste de T foi utilizado para comparação de médias.

Para as variáveis que não apresentavam distribuição normal ou homogeneidade de variância dos resíduos foi realizado o teste de Friedman para avaliação do efeito de tempo de estocagem, e, em caso de efeito significativo, o teste de Wilcoxon foi utilizado para comparação dos tempos dois a dois. Análises de regressão linear mistas considerando a correlação entre os resíduos por meio de matriz de covariância autoregressiva de primeira ordem foram ajustadas para as variáveis em que o efeito de tempo se mostrou presente. Para as avaliações foi considerado o nível de significância de 5%. Todas as análises foram realizadas utilizando o software SAS University Edition (SAS Institute Inc, 2018).

4.3.RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.3.1. Caracterização das análises físico-químicas das amostras de leite de cabra

A TABELA 1 apresenta a comparação dos resultados das análises físico- químicas do leite de cabra armazenado à temperatura média de 4°C, com os valores preconizados pela Instrução Normativa nº 37 do MAPA, de 8 de novembro de 2000, que regulamenta os padrões de Identidade e Qualidade do Leite de Cabra.

TABELA 1 – Comparação dos resultados das análises físico- químicas com a legislação do MAPA

Análises	Parâmetros MAPA 2000	Período de estocagem				P-valor total
		Dia 0	Dia 2	Dia 4	Dia 7	
Gordura % ¹	Leite integral- Teor Original	3,41	3,36	3,48	3,43	0,1191
Acidez% ²	13 a 18°D	15,9c (0,8055)	17,08b (0,8055)	17,54b (0,8223)	18,75a (0,8361)	0,0005*
Proteína Total% ²	Mínimo 2,8	3,22 (0,1134)	3,21 (0,1134)	3,14 (0,1134)	3,13 (0,1134)	0,2192
Lactose % ²	Mínimo 4,3	4,26 (0,04343)	4,19 (0,04343)	4,25 (0,04751)	4,26 (0,04834)	0,4045
ESD % ²	Mínimo 8,20	8,30 (0,1035)	8,22 (0,1035)	8,30 (0,1100)	8,40 (0,1130)	0,4154
Índice Crioscópico ¹	-0,550 a 0,585 °H	-0,563	-0,563	-0,557	-0,562	0,0582

¹mediana / ²média dos quadrados mínimos (erro padrão).

* efeito de tempo significativo ao teste de F (p < 5%); letras distintas nas linhas referem-se a médias significativamente diferentes sob o teste de T (p<0,05).

FONTE: do autor.

Os resultados dos teores de gordura, proteína total, acidez titulável, ESD e índice crioscópico mantiveram-se dentro dos valores preconizados pela legislação (BRASIL, 2000) durante os 7 dias de estocagem em condições laboratoriais (**TABELA 1**). A acidez dentro dos valores aceitos pela legislação durante o armazenamento sugere que a temperatura média de estocagem, 4°C, foi eficiente na prevenção do crescimento de microrganismos produtores de ácido láctico, embora tenha sido observada elevação significativa da acidez ($p < 0,05$) durante os dias de armazenamento. Esses resultados corroboram com os obtidos por Dutra *et al.* (2014), que relataram valores médios de acidez de 18°D para o leite caprino refrigerado por 8 dias e com Figueiredo (2017), que observou média de 16,55°D para o leite estocado por 7 dias em condições laboratoriais. O aumento da acidez, pode estar associada a contagem de microrganismos mesófilos aeróbios, que foi crescente durante o período de estocagem, visto que, vários mesófilos são ácido- lácticos.

Os teores de gordura não apresentaram alterações significativas durante todo o período de estocagem, tendo permanecido superiores ao mínimo de 2,9% admitido pela legislação vigente (BRASIL, 2000), durante todo o período de estocagem (**TABELA 1**). Contudo, a raça é um fator que influencia diretamente no percentual de gordura, sendo até contemplado esse fator na legislação ao delimitar o teor aceitável de gordura no leite de cabra (BRASIL, 2000). Na região onde o leite foi coletado, as raças mais comuns são Saanen e Alpina e/ou cruzamento entre estas duas raças. Observa-se que a mediana do teor de gordura encontrado nesse experimento (3,39%), é condizente com outros estudos feitos no Brasil compreendendo estas duas raças. Pereira (2016) reportou 3,5% e Figueiredo (2017) 3,72%. Entretanto, os resultados desse experimento, foram maiores do que o percentual de gordura encontrado por Madureira *et al.* (2017) em São Paulo, que foi de 2,65%. O teor de gordura é um parâmetro da qualidade muito utilizado para o pagamento do leite por qualidade na cadeia láctea bovina há bastante tempo e começa a ser empregado na indústria de leite caprino, devido a sua importância nutricional e ao seu impacto tecnológico, uma vez que influencia no aroma e sabor dos derivados lácteos caprinos (PARK *et al.*, 2007). O pagamento do leite por qualidade estimula o produtor a melhorar a qualidade do leite para aumentar a renda. Contudo, existe uma contradição entre a melhora da qualidade e o armazenamento prolongado para a viabilidade da coleta do leite pela indústria beneficiadora, visto que a estocagem durante um período médio de sete dias, como visto neste estudo, pode alterar a qualidade do leite.

Apesar de não ter sido observada diferença durante a estocagem, sobre os teores de proteína ($p = 0,2192$) e caseína ($p = 0,6164$), registra-se um comportamento direcionado para a

redução desses componentes durante o armazenamento. Esse comportamento pode estar associado ao crescimento dos microrganismos psicrotróficos proteolíticos, que podem promover a proteólise das principais proteínas lácteas, e à instabilidade das caseínas, associadas à sua composição. A redução dos teores de proteína total e caseína durante a estocagem podem prejudicar o rendimento dos derivados lácteos, principalmente do queijo.

Os teores de extrato seco desengordurado ($p=0,4154$, erro padrão= 0,053) e de extrato seco total ($p=0,5134$, erro padrão= 0,139), não sofreram alterações significativas durante todo o período estocagem a temperatura média de 4°C. O valor médio para o ESD (8,27%) verificado neste estudo, foi semelhante aquele obtido por Almeida *et al.* (2009), que avaliaram rebanhos de caprinos nos estados de Minas Gerais e Rio de Janeiro, e superior ao constatado por Queiroga *et al.* (2007), de 7,99%, ao avaliarem o leite produzido durante o período de lactação das cabras Saanen na região nordeste. A média de 11,75% para sólidos totais, foi superior a de 11,65% observado por Figueiredo (2017), em Minas Gerais, durante estocagem de 7 dias a 4°C, e semelhante aos 11,80% obtido por Dutra *et al.* (2014), em amostras refrigeradas a 6°C durante 8 dias.

O índice crioscópico, não variou durante o período de armazenagem a frio por 7 dias em condições laboratoriais ($p<0,05$), visto que, a refrigeração desacelera a decomposição do leite. A mediana encontrada de $-0,562^{\circ}\text{H}$ está dentro dos parâmetros legais (BRASIL, 2000), contudo, os valores máximos de $-0,502^{\circ}\text{H}$, sugerem que pode ter ocorrido adição de água, em algumas amostras. 20% das amostras frescas estavam fora do preconizado pela legislação, o que pode alterar outros parâmetros físico-químicos como a acidez, e os teores de proteína e de sólidos não gordurosos (AGNESE, 2002), e prejudicar o rendimento industrial.

Semelhante ao leite bovino, o principal carboidrato do leite caprino é a lactose, diferindo apenas quanto a sua concentração, que é aproximadamente 0,2 a 0,5% menor (CENACHI *et al.*, 2011). Os teores de lactose iniciais encontrados nas amostras deste estudo, demonstrados na **TABELA 1**, estão ligeiramente fora do valor mínimo aceito pela legislação e não tiveram variações ($p=0,4045$) durante todo o período de estocagem, à semelhança do que foi relatado por Figueiredo (2017) e Dutra *et al.*, (2014). O teor de lactose pode ser influenciado pela quantidade de concentrado disponibilizado na dieta (QUEIROGA *et al.*, 2007) e alimentação desbalanceada, percebidos em algumas propriedades da mesorregião da zona da mata mineira por Figueiredo (2017). Fatores genéticos também não podem ser descartados para os teores inferiores de lactose, uma vez que animais de uma mesma região podem apresentar graus de

parentesco. O fato de muitos estudos reportados na literatura demonstrarem valores inferiores quanto ao teor de lactose nos permite questionar o limite imposto pela legislação brasileira vigente, uma vez que a alimentação, raça e estágio de lactação das cabras podem influenciar na produção de lactose.

4.3.2. Resultados das análises físico-químicas relacionadas aos componentes proteicos do leite de cabra

O índice caseína do leite caprino, não sofreu variações ($p=0,6164$) durante o período de armazenamento sob refrigeração (**TABELA 2**). Contudo, observa-se um comportamento de redução deste com o passar dos dias de estocagem. A média de percentual de caseína mostrou-se superior ao reportado (2,33%) no estudo de Figueiredo (2017). Em pesquisa realizada por Inglinstad *et al.* (2016) em leite de cabras norueguesas, a caseína apresentou média de 2,54%. O teor de caseína, constituinte principal dos queijos, também está associado a raça dos animais e estágio de lactação, assim como grande parte dos constituintes do leite. Devido à importância na produção de queijos e derivados lácteos, é essencial a estabilidade da caseína ao tratamento térmico (RECHE, 2013). Essa redução dos valores de caseína durante a estocagem é esperada à medida que o leite sofre decomposição, uma vez que, por ser a fração proteica de maior abundância no leite (cerca de 80% do total das proteínas) é também a parte mais degradada pelas enzimas proteolíticas presentes.

TABELA 2- Perfil proteico, e índices de caseínomacropeptídeo, proteólise e lipólise do leite de cabra cru estocado por sete dias a temperatura média de 4°C

Análises	Média/ Mediana	Valor Máximo	Valor Mínimo	CV	P- valor total
Caseína (%) ²	2,69	3,31	2,17	8,98	0,6164
NNP (%) ²	0,025	0,38	0,019	18,67	0,2379
Proteólise ¹	0,9	1,10	0,88	4,24	0,0092**
Lipólise ($\mu\text{eq/mL}$) ²	0,25	0,35	0,18	17,16	0,0036*
CMP ($\mu\text{g/L}$) ²	237,94	749,93	29,49	86,52	0,0001*

¹mediana/ ²média dos quadrados mínimos.

* efeito de tempo significativo ao teste de F ($p < 0,05\%$); ** efeito de tempo significativo ao teste de Friedman ($p < 0,05\%$);

FONTE: do autor.

Quando comparado ao leite bovino, o leite de cabra apresenta menor teor de caseínas e maior teor de NNP (SILVA *et al.*, 2015). O nitrogênio não proteico do leite de cabra cru analisado neste experimento não oscilou durante o período analisado ($p=0,2379$). A média foi inferior a encontrada por Figueiredo (2017) de 0,039% e por Inglinstad *et al.* (2016), de 0,049% em cabras norueguesas. Era esperado que o conteúdo de NNP, que pode refletir a degradação da proteína, aumentasse durante o armazenamento, contudo, isso não foi observado neste experimento. A estabilidade do NNP provavelmente está associada ao crescimento não significativo de microrganismos psicrotóxicos proteolíticos observado (TABELA 3).

O índice de proteólise apresentou alterações ($p < 0,05$) durante o armazenamento prolongado do leite de cabra, demonstrando baixo coeficiente de variação (CV= 4,24). Essa oscilação pode estar diretamente associada ao crescimento de microrganismos psicrotóxicos durante o período de estocagem do leite cru caprino. A contaminação inicial do leite por microrganismos psicrotóxicos, que resultaria na proteólise do leite de cabra, pode ser originada de acordo com Fukuda (2003), das condições inadequadas de higiene durante a ordenha ou pelos utensílios higienizados incorretamente. A mediana observada neste estudo foi 0,9, valor que quanto maior, significa menor índice de proteólise no leite, por se tratar da relação caseína: proteína verdadeira do leite. Foram reportados índice de proteólise em

experimentos semelhantes, com leite caprino, inferiores ao observado neste estudo, ou seja, com maior índice de proteólise, por Figueiredo (2017), cujo valor médio obtido de 0,76, e por Fonseca (2010), que reportou índice de proteólise de 0,85 com cinco dias de armazenamento. O crescimento não significativo de microrganismos psicrotóxicos proteolíticos durante o armazenamento por 7 dias em condições laboratoriais (**TABELA 3**) foi essencial para se ter bom índice de proteólise quando comparados com outros autores. Fonseca (2010) ressaltou a importância de se controlar a proteólise originada por microrganismos psicrotóxicos para a indústria láctea, visto que pode indicar resultados falso positivo para adição de soro de queijo ao leite cru, uma vez que quebram a k-caseína, atuando de forma semelhante a quimosina, e resultando assim na formação do Pseudo-CMP (FUKUDA, 2003; NOMBERG; TONDO; BARNDELLI, 2009) além de fornecer matéria-prima de baixa qualidade para produção de derivados lácteos.

Não existe na literatura científica e nem na legislação vigente do MAPA que regulamenta os padrões de identidade e qualidade do leite de cabra, um valor de CMP que determine a partir de qual concentração o leite de cabra deve ser rejeitado para o consumo direto humano. Comparando a legislação brasileira para índice de CMP de leite de vaca com o valor médio de 237,94 mg/L obtido neste experimento, este não seria aceitável para o abastecimento direto e nem para a produção de derivados (BRASIL, 2006). Observou-se aumento do índice de CMP entre os dias de estocagem, sendo observada diferença significativa apenas do dia 7 com os demais dias (0, 2 e 4) analisados, o que demonstra que, ao contrário do que ocorre para o leite bovino, que precisa ser analisado fresco de forma a não gerar resultados falso positivo para fraude por adição de soro, o leite de cabra refrigerado em temperatura média de 4°C pode ser analisado até o 4º dia de estocagem, sem alterações significativas de CMP. Contudo, apesar de ter sido notado crescimento do CMP do leite caprino em todas as amostras em função do período de armazenamento, ocorreu uma grande variação inicial entre as dez amostras analisadas sendo que apenas uma amostra inicial que se enquadraria ao abastecimento direto. 60% das amostras de leite caprino cru analisadas se enquadrariam apenas para alimentação animal (índice superior a 75 mg/L). Figueiredo (2017) reportou valor médio de CMP de 53,10 mg/mL em leite de cabra armazenado sem tratamento térmico por 7 dias a 4°C. Silva-Hernández *et al.* (2002) reportaram 79mg/L de CMP oriundo de leite fresco de cabra em estudo sobre o CMP do soro de leite. Santos *et al.* (2016) encontraram, em Minas Gerais, CMP médio de 49,52 mg/L em leite de cabra. De acordo com Furlanetti e Prata (2003), o leite de vaca normal possui quantidades variáveis de CMP-livre,

que podem oscilar de acordo com o estágio de lactação dos animais e presença de mastite clínica e subclínica. Assim, é notório que a legislação para leite bovino que regulamenta os índices de CMP (BRASIL, 2006) não poderia ser aplicada com confiança para o leite caprino. Segundo Figueiredo (2017), são esperados valores mais elevados de CMP para leite caprino quando comparado ao leite de vaca, uma vez que, sua proteína possui menor estabilidade, portanto, seria mais susceptível à degradação enzimática por microrganismos psicrotóxicos.

A lipólise do leite é proveniente da ação de enzimas lipolíticas produzidas principalmente por microrganismos psicrotóxicos lipolíticos quando presentes em altas contagens, como pode ser visto na **TABELA 3**, que degradam os triglicerídeos do leite, liberando ácidos graxos livres, sendo esse processo denominado de rancificação. Assim, quanto maior o percentual de gordura maior a susceptibilidade à ação da enzima lipase (MESSIAS *et al.*, 2011). Nesse estudo, o valor da mediana para a concentração de ácido graxos livres (AGL), foi inferior ao encontrado na literatura (**TABELA 3**). Figueiredo (2017) observou concentração de AGL de 2,19 μ eq/mL para o leite armazenado por 7 dias a 4°C na região da Zona da Mata Mineira. Fonseca *et al.* (2006) reportaram 1,59 μ eq/L no leite de cabra *in natura* armazenado por até seis dias a 4°C, e sabor de ranço significativo durante a análise sensorial. Comparando com os demais estudos, foi encontrada baixa concentração de ácidos graxos livres para o leite estocado neste presente estudo.

4.3.3. Análises dos parâmetros microbiológicos

A média dos quadrados mínimos da contagem bacteriana total nesse estudo foi de $3,8 \times 10^5$ UFC/mL. Observou-se elevação nas contagens ($p < 0,05$) durante a estocagem. Apesar da média estar dentro do limite de $5,0 \times 10^5$ UFC/mL determinado pelo RTIQ de leite de cabra (BRASIL, 2000), foram observadas amostras com valores superiores ao recomendado. De acordo com o teste de comparação de médias, foi reportado que não houve diferença de crescimento entre o dia 0 e 2 ($p = 0,2132$) e nem do dia 4 para o dia 7 ($p = 0,1111$), contudo, ocorreu um pico de crescimento entre os dias 2 e 4, o que nos permite concluir que o leite poderia ser transportado após 48 horas da ordenha para a indústria mantendo a sua qualidade. Reche (2013), em estudo com estocagem refrigerada do leite bovino por até 36 horas após a ordenha, não encontrou diferenças ($p < 0,05$), corroborando com os resultados obtidos neste estudo. Gomes e Souza (2012), afirmaram que elevados valores de CBT estão associados ao

leite velho, refrigeração inadequada, sanidade do rebanho e ausência de boas práticas durante a obtenção do leite e no beneficiamento.

A contagem de mesófilos aeróbios foi crescente mesmo com a refrigeração do leite sendo utilizada. Contudo, a média do leite fresco, de $5,7 \times 10^7$ UFC/mL obtido neste estudo, reporta que elevadas contagens foram observadas mesmo antes do armazenamento das amostras. Fator que pode estar associado, assim como o CBT, pelas falhas de adoção de boas práticas durante a ordenha e à saúde das cabras em lactação. O valor médio de mesófilos durante a estocagem nas amostras analisadas supera aos obtidos por Fonseca (2006), Fonseca (2010) e Figueiredo (2017). É importante ressaltar que foi observado um sistema precário de ações de higiene durante a ordenha em algumas propriedades, justificando as elevadas contagens obtidas. Além disso, a grande amplitude entre os valores máximo e mínimo na contagem de microrganismos mesófilos aeróbios (**TABELA 3**) reflete a heterogeneidade dos cuidados de higiene de ordenha observados durante a coleta das amostras de leite de cabra da região Metropolitana e da Zona da Mata mineira.

TABELA 3. Contagem de microrganismos mesófilos aeróbios, psicrotróficos proteolíticos e lipolíticos, contagem bacteriana total e contagem de células somáticas em leite de cabra cru estocado por sete dias em condições laboratoriais

Análises	Média/ mediana	CV	Desvio padrão	Valor máximo	Valor mínimo	P- valor total
CBT (UFC/mL) ²	$3,8 \times 10^5$	154,39	996,91	$1,8 \times 10^8$	$3,1 \times 10^6$	0,0123*
Mesófilos aeróbios (UFC/mL) ²	$1,2 \times 10^8$	363,23	75029642,33	$2,7 \times 10^9$	$1,8 \times 10^5$	0,0094*
Psicrotróficos proteolíticos (UFC/mL) ¹	$6,4 \times 10^7$	272,60	16780154,89	$4,3 \times 10^8$	$2,5 \times 10^5$	0,0818
Psicrotróficos Lipolíticos (UFC/mL) ¹	$5,2 \times 10^7$	253,31	14277019,84	$4,1 \times 10^8$	$2,5 \times 10^5$	0,0120**
CCS (céls./mL) ¹	$1,3 \times 10^5$	61,56	141,83	$4,2 \times 10^7$	$4,3 \times 10^5$	0,5407

¹mediana/ ²média dos quadrados mínimos.

* efeito de tempo significativo ao teste de F ($p < 0,05$); ** efeito de tempo significativo ao teste de Friedman ($p < 0,05$);

FONTE: do autor.

Samarzija *et al.* (2012), relataram que a microbiota predominante de mesófilos do leite recém ordenhado é substituída por microrganismos psicotróficos durante à refrigeração. Segundo Cempírková *et al.* (2002) há relação de 69% entre contagem de psicotróficos e a contagem bacteriana total. No presente estudo, não foi observada diferença significativa ($p=0,0818$) nos dias 0, 2, 4 e 7 para o crescimento de microrganismos psicotróficos proteolíticos no leite de cabra, contudo, foi observado um comportamento de aumento desse grupo com o passar dos dias de armazenamento (**TABELA 3**). A mediana elevada dos tratamentos de $6,4 \times 10^7$ UFC/mL, pode alterar o valor de CMP resultando em resultados falso positivo para adição de soro. Resultados melhores foram reportados por outros autores. No estudo de Fonseca (2010), os psicotróficos proteolíticos atingiram contagem máxima de $6,0 \times 10^6$ UFC/mL, Fonseca *et al.* (2006), relataram contagens de proteolíticos e lipolíticos que ultrapassassem 10^6 UFC/mL somente no sexto dia de estocagem à 4°C .

A mediana da contagem dos psicotróficos lipolíticos neste trabalho também foi elevada, ($5,2 \times 10^7$ UFC/mL), apresentando crescimento significativo em função do tempo de estocagem. Fonseca (2010) encontrou contagem máxima de $2,1 \times 10^6$ UFC/mL para psicotróficos lipolíticos. Contudo, as contagens de microrganismos lipolíticos e proteolíticos encontradas na região da Zona da Mata mineira por Figueiredo (2017), em estudo da qualidade do leite de cabra armazenado sem tratamento térmico superaram este limite, assim como no presente estudo.

Champagne *et al.* (1994) relataram que para se ter alterações perceptíveis no aroma e sabor, é preciso que se tenha contagem acima de $1,0 \times 10^6$ UFC/mL de microrganismos psicotróficos, o que foi observado nas amostras de leite caprino cru deste estudo, armazenadas sob refrigeração durante 7 dias. Assim, pode-se constatar a baixa qualidade microbiológica do leite de cabra da região metropolitana e da Zona da Mata mineiro, que irá resultar em derivados com qualidade reduzida, visto que, de acordo com Fonseca *et al.* (2006), as enzimas provenientes dos microrganismos psicotróficos são termorresistentes e atuam na degradação do leite mesmo após a pasteurização.

Outro parâmetro da qualidade, relacionado diretamente aos aspectos sanitários, é a contagem de células somáticas (CCS). A mediana para os níveis de CCS observados nesse estudo foi de $1,3 \times 10^5$ células/mL, não sendo observadas oscilações ($p=0,5407$) nesse nível durante a estocagem e com alto coeficiente de variação (CV= 61,56). Na literatura foram reportados valores superiores para CCS para o leite caprino. Dutra *et al.* (2014), registraram

CCS de $2,5 \times 10^6$ células/mL em leite de cabra armazenado por 8 dias à 6°C. Figueiredo (2017), observou $1,0 \times 10^6$ células/mL para leite de cabra estocado por 7 dias à 4°C. Apesar da CCS ser um parâmetro associado a diagnósticos de mastite em leite de vaca, para cabras, ainda se estuda essa relação. A CCS no leite caprino pode ser influenciada por diversos fatores não relacionados à mastite, como: ciclo estral, estação do ano, produção de leite, número de partos e dias em lactação (GOMES; SOUZA, 2012). De acordo com Madureira *et al.* (2010), a forma como o leite é secretado nas cabras resulta em intensa descamação do epitélio glandular e, por consequência, eleva a quantidade de células somáticas, gerando um padrão de CCS diferente do leite da espécie bovina.

4.3.4. Relação da quantidade de ácidos graxos livres com o crescimento de microrganismos lipolíticos nas amostras de leite de cabra analisadas

O teor de AGL provenientes da lipólise aumentou em função ao tempo de armazenamento ($p < 0,05$), em todos o período analisado. A curva de regressão teve como valor estimado inicial para AGL de $0,22 \mu \text{ eq/mL}$, aumentando $0,0072$ a cada dia de estocagem. Contudo, na análise de regressão linear, o coeficiente de determinação, que explica a relação entre o percentual de lipólise em função ao período de estocagem foi baixo ($r^2 = 19,61\%$). Possivelmente isso se deve ao fato que há na literatura vários relatos sobre lipólise espontânea do leite caprino, associada a presença de enzimas lipolíticas naturais do leite e à maior fragilidade da membrana de seus glóbulos de gordura. Loewenstein *et al.* (1980), citados por Bonassi *et al.* (2000), consideram que a membrana do glóbulo de gordura do leite de cabra é menos estável que a do leite de vaca, com isso torna-se mais susceptível às mudanças de aroma e sabor relacionados a lipólise. Além disso, o aumento da lipólise também pode estar associado ao crescimento de microrganismos psicrotróficos lipolíticos, que se mostrou mais acentuado a partir do 4º dia de estocagem a 4°C.

Os microrganismos psicrotróficos lipolíticos apresentaram alta contagem microbiana durante todos os dias de armazenamento, sendo observado crescimento exponencial após o quarto dia de armazenamento. De acordo com Guinot Thomas *et al.* (1995), o desenvolvimento dos psicrotróficos demora aproximadamente de 6 a 8 horas de geração, fazendo esses microrganismos saírem da fase lag do crescimento com aproximadamente dois dias de estocagem, e a partir desse momento entrarem em crescimento exponencial. O crescimento exponencial de lipolíticos após o segundo dia foi observado por Figueiredo (2017), contudo, neste experimento, só foi observado crescimento acelerado após o 4º dia de

estocagem (**FIGURA 1**). Fonseca (2010), também observou atividades lipolíticas relativamente mais intensas após o quinto dia de estocagem a 4°C.

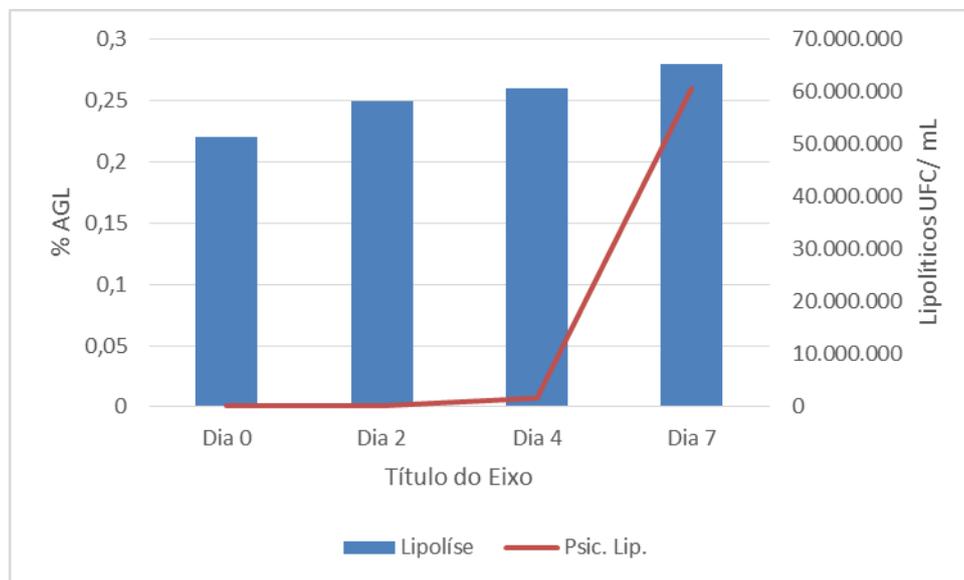


FIGURA 1 – Relação da quantidade de ácidos graxos livres com o crescimento de microrganismos psicotróficos lipolíticos encontrada nas amostras de leite caprino armazenadas a temperatura média de 4°C durante 7 dias.

O desenvolvimento desse grupo microbiano acompanhou a taxa de lipólise do leite, corroborando com o observado por Figueiredo (2017) e Fonseca *et al.* (2006), em estudos sobre a qualidade do leite de cabra estocado sob refrigeração. Gomes *et al.* (2004), citaram que valores de 1,3 μ eq./ mL de AGL em creme de leite tornaram o produto inaceitável e Fonseca (2006), relatou que valores médios de AGL superiores a 1,6 μ eq/mL resultaram diferenças no odor e sabor no leite caprino.

Os valores crescentes de ácidos graxos livres durante o período de estocagem devido a degradação enzimática promovida pelos microrganismos psicotróficos lipolíticos também corroboram com a tendência a redução dos teores de proteína e caseína promovidos pela ação dos microrganismos proteolíticos. Além disso, de acordo com Messias *et al.* (2011), o elevado percentual de gordura nas amostras deste experimento, pode ter aumentado a susceptibilidade do leite à ação da enzima lipase.

4.3.5. Relação do caseinomacropéptido em função do crescimento de microrganismos proteolíticos durante a estocagem no leite de cabra

Foi observado aumento do índice de CMP em função do período de armazenamento ($p=0,0001$), porém, através do teste de comparação de médias, identificou-se que o crescimento nos dias 0, 2 e 4 diferiram significativamente apenas do dia 7. Isso demonstra que o leite poderia ser estocado por quatro dias sem que gere resultados falso positivo para fraude por adição de soro de queijo. Em concordância com isso, o coeficiente de determinação, obtido na análise de regressão linear, que explica a relação entre o CMP em função ao período de estocagem foi baixo ($r^2= 16,37\%$), ou seja, apenas 16,37% da variação do CMP ocorreu em função do dia de estocagem refrigerada. A curva de regressão linear teve como valor estimado inicial para CMP de 149,31 mg/L, aumentando 29,79 mg/L a cada dia de estocagem. Possivelmente a baixa porcentagem do coeficiente de determinação se deve ao fato de que o leite fresco já apresentou elevada variação desse índice. Entretanto, a elevação do CMP parece estar associada ao crescimento de microrganismos psicotróficos proteolíticos. A elevação do CMP ocorreu em sintonia com o aumento da população de proteolíticos (**FIGURA 2**). No trabalho de Figueiredo (2017), não foi observada correlação entre o aumento da população de psicotróficos com a atividade proteolítica nas amostras estudadas. Resultado semelhante foi reportado por Nornberg (2009).

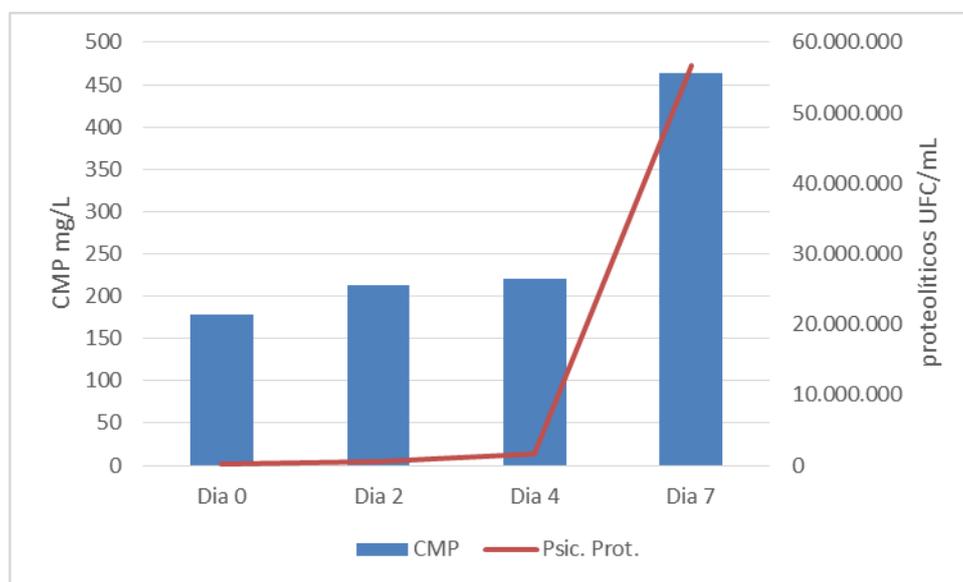


FIGURA 2 – Relação Caseinomacropéptido x psicotróficos proteolíticos no leite caprino armazenado a temperatura média de 4°C durante 7 dias.

O crescimento dos proteolíticos foi intensificado após o 4° dia de estocagem, semelhante ao encontrado por Figueiredo (2017). Fonseca *et al.* (2006) relataram maior crescimento após o 3° dia de estocagem. Foi relatado por Leitner *et al.* (2008), em experimento com leite bovino um aumento progressivo na contagem de microrganismos psicrotróficos nas 48 horas de estocagem. É importante ressaltar que as proteases sintetizadas pelos microrganismos psicrotróficos quebram a caseína de forma semelhante à hidrólise realizada pela quimosina, liberando o Pseudo - CMP (DATTA; DEETH, 2001; FUKUDA, 2003), que pode resultar em falsos resultados positivos para fraude por adição de soro. Além disso, a relação entre microrganismos psicrotróficos lipolíticos e o índice de proteólise não é inesperada, pois muitos microrganismos produtores de lipases são também produtores de proteases. Estas enzimas, podem tornar o leite instável ao tratamento térmico, provocando a coagulação durante a pasteurização e geleificação do leite UAT, além da produção de sabores indesejáveis e redução do rendimento queijeiro (PINTO, 2004).

4.4 CONCLUSÕES

As amostras de leite de cabra cru da região Metropolitana e da Zona da Mata mineira estocadas por sete dias estavam adequadas, aos índices físico-químicos e microbiológicos determinados pela legislação e à literatura. Porém, ainda é perceptível a baixa qualidade microbiológica com crescimento de microrganismos mesófilos, psicrotróficos proteolíticos e lipolíticos, superiores ao reportado em outros experimentos que avaliaram a qualidade do leite de cabra armazenado. As contagens iniciais elevadas dos microrganismos analisados, podem ser consequência de falhas na higiene da ordenha, dos utensílios e dos manipuladores, e da falta de controle da sanidade do rebanho, como foi observado em muitas propriedades durante a coleta das amostras.

Os resultados de CMP sugerem que após o 4° dia de armazenamento do leite de cabra cru mantido a temperatura média de 4°C, pode resultar na clivagem da caseína, formando o Pseudo- CMP, assim, pode influenciar em resultados falsos positivos.

4.5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Vale ressaltar que se o leite não for obtido e armazenado dentro de princípios de higiene, o prejuízo para a indústria e para o consumidor quando há a prática de estocagem do leite de cabra cru por longos períodos, pode ser eminente, uma vez que os parâmetros de qualidade microbiológicos e os índices de lipólise, proteólise e de CMP apresentaram aumento contínuo com o decorrer da estocagem prolongada.

AGRADECIMENTOS

Este trabalho teve apoio da Capes (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior), do CNPq (Processo 420409/2016-5) e do Lab UFMG/ Escola de Veterinária.

REFERÊNCIAS

AGNESE, A.P. Avaliação físico-química do leite cru comercializado informalmente no município de Seropédica, Rio de Janeiro. **Revista Higiene de Alimentos**, v. 17, n. 94, p. 58-61, 2002.

ALMEIDA, J. F. Avaliação físico-química do leite de cabra *in natura* em alguns rebanhos de Minas Gerais e Rio de Janeiro. CIÊNCIA ANIMAL BRASILEIRA– **Anais** do VIII Congresso Brasileiro de Buiatria, 2009.

ANUÁRIO DA PECUÁRIA BRASILEIRA- ANUALPEC. Rio Grande do Sul. Editora Gazeta. p. 114. 2013.

AOAC International. *Official methods of analysis of AOAC*. 19 ed. Arlington, VA: AOAC International, 2012.

BEHMER, M.L.A. **Tecnologia do leite**. 11a ed. São Paulo: Nobel, 1981. 322p.

BENTLEY Instrument INC. Bactocount 150 operator's manual. Chaska: Bentley Instruments Inc.; 2002. 49p.

BENTLEY Instruments INC. Bentley 2000 operator's manual. Chaska: Bentley Instruments Inc.; 1998. 79p.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Portaria nº 101, de 11 de agosto de 1993. Métodos Analíticos para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes – métodos microbiológicos (anexo). *Diário Oficial da União Federativa do Brasil*, 17 de agosto de 1993.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Instrução Normativa nº 37, de 8 de novembro de 2000. Aprova o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Leite de Cabra. *Diário Oficial da União Federativa do Brasil*, 18 de novembro de 2000.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Instrução Normativa nº 62, de 26 de agosto de 2003. Métodos Analíticos Oficiais

Microbiológicos para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de origem Animal e Água. *Diário Oficial da União Federativa do Brasil*, 18 de setembro de 2003.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Instrução Normativa no 68, de 12 de dezembro de 2006. Oficializa os Métodos Analíticos Oficiais Físico-Químicos, para Controle de Leite e Produtos Lácteos, em conformidade com o anexo desta Instrução Normativa, determinando que sejam utilizados nos Laboratórios Nacionais Agropecuários. *Diário Oficial da União Federativa do Brasil*, 14 de dezembro de 2006, seção 1, p.8-30, 2006a.

BRASIL. Instrução Normativa nº 69, de 13 de dezembro de 2006. Institui Critério de Avaliação da Qualidade do Leite in natura, Concentrado e em Pó, Reconstituídos, com base no Método Analítico Oficial Físico-Químico denominado “Índice CMP”, de que trata a Instrução Normativa nº 68, de 12 de dezembro de 2006b. *Diário Oficial da União*, Brasília, DF, 15 dez. 2006, seção 1, p.8.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento. Instrução Normativa nº7, de 2 de março de 2010. Oficializa a determinação de CMP em leite, por HPLC, eletroforese capilar e espectrometria de massas em leite, em apresentações integrais, semi-desnatadas e desnatadas, tratados por processos de UHT ou pasteurização. DOU. Brasília, DF, 2 de março de 2010.

BRASIL. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE. Efetivo dos rebanhos de médio porte, segundo as grandes regiões e unidades da federação, 2015. Disponível em: <https://ww2.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/ppm/2015/default_xls_brasil.shtm> Acesso em: 13 de novembro de 2018.

CEMPÍRKOVÁ, R. *et al.* Contamination of cow's raw milk by psychrotrophic and mesophilic microflora in relation to selected factors. *Czech Journal of Animal Science*, v. 52, n. 11, p. 387, 2007.

CENACHI, D. B.; *et al.* Aspectos composicionais, propriedades funcionais, nutricionais e sensoriais do leite de cabra: Uma revisão. **Revista Instituto Cândido Tostes**. Nº 382, 66: pág. 12-20, 2011.

CHAMPAGNE, C. P.; *et al.* Psychrotrophs in dairy products: their effects and their control. *Critical Reviews in Food Science & Nutrition*, v. 34, n. 1, p. 1-30, 1994.

DATTA N.; DEETH H. C. Age gelation of UHT milk – a review. *Food and Bioprocess Processing*. v.79, p. 197- 210, 2001.

DEETH H.C.; FITZ-GERALD, H.C.; WOOD, A.F.A. A convenient method for determining the extend of lipolysis in milk. *Australian Journal of Dairy Technology*, v.30, p.109-111, 1975.

DUTRA, C. M. C.; *et al.* Parâmetros de qualidade do leite de cabra armazenado sob frio. *Arquivos do Instituto Biológico*. São Paulo. v. 81, n. 1, p. 36-42, 2014.

EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Caprinos & Ovinos em Revista**. Sobral: EMBRAPA, 2013.

FIGUEIREDO, N. C. Leite de cabra: **Diagnóstico de qualidade na mesorregião da Zona da Mata Mineira e estudo do leite armazenado por sete dias em condições laboratoriais**. 2017. Dissertação (Mestrado em Ciências dos Alimentos) – Universidade Federal de Minas Gerais, 2017.

FISCHER, V.; *et al.* Leite instável não ácido: um problema solucionável? **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 13, p.838-849, 2012.

FONSECA, C. R.; PORTO, E.; DIAS, C. T. S., *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, 2006.

FONSECA, C. R. **Efeito do tempo de armazenamento do leite de cabra in natura sobre a qualidade e a estabilidade do leite de cabra em pó**. 2010. 91 f. Tese de Doutorado (Departamento de Engenharia de Alimentos). Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2010.

FUKUDA, S.P. **Estudo da correlação entre o método da ninidrina ácida e a cromatografia líquida de alta eficiência para a dosagem de glicomacropéptídeos e caseinomacropéptídeo em leite**. 2003. Tese (Mestrado em Tecnologia de Alimentos)- Universidade Estadual de Campinas, 2003.

FURLANETTI, A.M.; PRATA, L.F.. Free and total CMP (glycomacropéptide) contents of milk during bovine lactation. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.23, p.121-125, 2003.

GOMES L.C.; SOUZA R. Produção de leite de cabra: oportunidades de negócio e qualidade do leite. **Revista mais leite**, v.16, p.36-40, 2012.

GOMES, B.V. Nota Técnica – Nº1: **Conjuntura Trimestral Caprino** – Ovinocultura Pernambuco. Companhia Nacional de Abastecimento, 2016. Disponível em: < <http://docplayer.com.br/26077957-Nota-tecnica-n-1-conjuntura-trimestral-caprino-ovino-cultura-pernambuco.html> >. Acesso em: 20 de maio de 2017.

GUINOT-THOMAS, P.; AMMOURY, M. A.; ROUX, Y. *et al.* Study of proteolysis of raw milk at 4°C: effect of plasmin and microbial proteinase. **International Dairy Journal**, v. 5. p. 685-697, 1995.

INGLINGSTAD, R. A.; EKANAS, M., BRUNBORG, L. *et al.* Norwegian goat milk composition and cheese quality: The influence of lipid supplemented concentrate and lactation stage. **International Dairy Journal**, v. 56, p. 13-21, 2016.

LEITNER, G.; *et al.* The influence of storage on the farm and in dairy silos on milk quality for cheese production. **International Dairy Journal**, v. 18, p.109-113, 2008.

MESSIAS, J. M., *et al.* Lipases microbianas: Produção, propriedades e aplicações biotecnológicas. **Semina: Ciências Exatas e Tecnológicas**, v. 32, n. 2, p. 213-234, 2011.

MINAS GERAIS. Lei Estadual nº 19.583, de 17 de agosto de 2011. Dispõe sobre as condições para manipulação e beneficiamento artesanais de leite de cabra e de ovelha e de seus derivados. Disponível em: < <http://www.caprileite.com.br/conteudo/150-ii-lei-n-19-583-leite-legal-publicada-em-17-de-agosto-de-2011> >. Acesso em: 12 de abril de 2017.

NÖMBERG, M.F.B.L.; TONDO, E.C.; BARNDELLI, A. Bactérias psicrotóxicas e atividade proteolítica no leite cru refrigerado. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 37, n. 2, p.157-163, 2009.

OLIVEIRA, G. B.; GATTI, M. D. S.; VALADÃO, R. C.; *et al.* Detecção da adição fraudulenta de soro de queijo em leite: interferência da atividade de proteases bacterianas. Revista do **Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 64, n. 368, p. 56-65, 2009.

PARK, Y. W., *et al.* Physico-chemical characteristics of goat and sheep milk. **Small Ruminant Research**, v. 68, p. 88-113, 2007.

PINTO, C. L. O. **Bactérias psicotróficas proteolíticas do leite cru refrigerado granelizado destinado à produção do leite UHT.** 2004. Tese ('Doctor Scientiae') – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2004.

PEREIRA, C. S. **Qualidade do leite de cabra in naturap pela detecção de microrganismos, susceptibilidade antimicrobiana, parâmetros físico-químicos, contagem de células somáticas, contagem total bacteriana e resíduo antimicrobiano.** 2016. 102f. Tese (Doutorado em Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal). Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2016.

QUEIROGA, R. C. R. E.; COSTA, R. G.; BISCONTINI, T. M. B.; *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, 2007.

RECHE, N. L. M. **Influência do armazenamento do leite em resfriador por expansão direta sobre a contagem de micro-organismos e estabilidade da caseína.** 2013. 91f. Tese de mestrado -Universidade do Estado de Santa Catarina, 2013.

SAMARŽIJA, D.; ZAMBERLIN, Š.; POGAČIĆ, T. Psychrotrophic bacteria and milk and dairy products quality. *Mljekarstvo*, v. 62, n. 2, p. 77-95, 2012.

SANTOS, A. R. *et al.* Avaliação da qualidade físico-química do leite de cabra cru produzido e estocado durante sete dias em propriedades na região de Santa Margarida – MG. XXV SEMANA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFMG. 2016.

SAS Institute Inc. 2018. SAS® University Edition Quick Start Guide for Students with Visual Impairments. Cary, NC: SAS Institute Inc.

SILVA-HERNÁNDEZ, E. R.; NAKANO, T.; OZIMEK, L. Isolation And Analysis of κ -Casein Glycomacropeptide from Goat Sweet Whey. *Agricultural and Food Chemistry*, v. 50, p. 2034-2038, 2002.

5 ARTIGO

Índice de caseinomacropéptido como ferramenta para detecção de fraude por adição de soro em leite de cabra

(Elaborado conforme normas da revista: Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes – Journal of Candido Tostes Dairy Institute)

**ÍNDICE DE CASEINOMACROPEPTÍDEO COMO FERRAMENTA PARA
DETECÇÃO DE FRAUDE POR ADIÇÃO DE SORO EM LEITE DE CABRA**
**Caseinomacropeptide index as a tool for fraud detection by adding whey in goat
milk**

*Marcela de Oliveira Nogueira, Cecília Melo Vasconcelos, Amanda Ribeiro Santos,
Raphael Rocha Wenceslau, Leorges Morais da Fonseca, Cláudia Freire de Andrade
Morais Penna*

RESUMO

Grande parcela dos produtores do leite caprino, o comercializam tanto na forma pasteurizada quanto na forma de queijos especiais. Permite-se assim, a discussão, sobre a prática de adição do soro do queijo de cabra ao leite cru, especialmente se parte desse leite ficar armazenado durante longos períodos em tanques de refrigeração, até sua captação pela indústria processadora. A adição de soro que ocorre comumente no leite bovino destinado ao consumo com objetivo de aumentar o volume líquido final e consequentemente o lucro, também pode ocorrer para o leite caprino resultando na alteração da qualidade e da segurança microbiológica do produto final. Contudo, considerando que a quantificação do índice de caseinomacropeptídeo (CMP) é a análise utilizada para a determinação dessa fraude, objetivou-se nesse estudo realizar análises cromatográficas no leite de cabra cru adicionado com 0, 2, 5, 10 e 20% de soro de queijo de cabra de forma a quantificar esse índice e verificar sua efetiva aplicação em leite caprino. Observou-se aumento ($p < 0,05$) dos valores de CMP para leite de cabra cru adicionado com concentrações conhecidas de soro, por meio da técnica de cromatografia líquida de alta eficiência. Notou-se ainda, que pelas análises de rotina físico químicas e microbiológicas de baixo custo, realizadas pela indústria de lácteos, não foi possível detectar as fraudes por adição de soro de queijo, visto que apesar da redução expressiva dos teores de gordura e proteína, eles ainda se encontravam em sua maioria, dentro do preconizado pela legislação vigente. Portanto, o estudo sugere a possível utilização do índice caseinomacropeptídeo como método de detecção para a fraude de adição de soro em leite caprino.

Palavras-chaves: caprinocultura; detecção de soro; proteínas do leite; qualidade.

ABSTRACT

Large share of goat milk producers marketed as pasteurized milk and as special cheeses. This way, it's possible to suppose the practice of adding whey from goat cheese to raw milk, especially in those stored for long periods in refrigerated tanks. The addition of whey that occurs commonly in bovine milk destined for consumption in order to increase the final net volume and consequently the profit, may also occur for goat milk resulting in a change in the quality and microbiological safety of the final product.

However, considering that the quantification of the caseinomacropeptide index (CMP) is the analysis used to determine this fraud, it investigated the chromatographic analysis of raw goat's milk added with 0, 2, 5, 10 and 20% of goat cheese serum, is viable to quantify this index and verify its effective application in goat milk. An increase ($p < 0.05$) in CMP values was observed for raw goat milk added with known concentrations of serum detected by the high performance liquid chromatography technique. It was also observed that, due to the physical, chemical and microbiological analyzes of low cost, carried out by the dairy industry, it was not possible to detect cheats by adding whey, since although there was an expressive reduction of fat and protein contents, they were still mostly found, in accordance with current legislation. Therefore, the study suggests the possible use of the caseinomacropeptide index as a detection method for the addition fraud of goat milk serum.

Keywords: goat breeding; serum detection; milk proteins; quality.

5.1. INTRODUÇÃO

A produção de leite de cabra no Brasil, de acordo com o último senso do IBGE (2015), está em expansão, embora ainda seja bastante limitada devido ao sabor marcante e ainda pouco apreciado, e por ser uma atividade industrial relativamente recente no país e assim, dispor de limitado apoio governamental para o desenvolvimento destas atividades (GOMES, 2016). A produção do leite caprino no Brasil, está amplamente ligada à produção de derivados, dentre os quais o queijo é o de maior significância. Esse beneficiamento geralmente é realizado pelas próprias famílias produtoras, uma vez que ainda existem poucos laticínios operando especificamente para esta finalidade, principalmente devido ao problema da irregularidade na oferta (CORDEIRO; CORDEIRO, 2009; EMPRAPA, 2013).

De acordo Oliveira *et al.* (2009), a adição do soro de queijo em leite cru bovino é uma das fraudes econômicas mais comumente aplicadas no Brasil. A adição de soro acarreta a prejuízos como a redução do rendimento, redução no valor nutricional, que pode em casos de consumo prolongado, gerar desnutrição, principalmente em lactantes, crianças e idosos, alteração da qualidade dos produtos beneficiados, redução da vida de prateleira, além de poder expor os consumidores a presença de determinadas substâncias potencialmente perigosas (CORTEZ *et al.*, 2010). Para a identificação dessa fraude, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) determina a análise do índice de caseinomacropeptídeo (CMP), de forma a verificar se o soro (rico em CMP),

proveniente do processo de produção de queijos é adicionado ao leite cru de vaca (BRASIL, 2006). Porém no Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Leite de Cabra do MAPA (BRASIL 2000), não estão definidos critérios para análise e nem valores limítrofes de CMP para o leite caprino.

Considerando que em Minas Gerais uma razoável parcela de produtores de leite de cabra o comercializa tanto na forma pasteurizada quanto na forma de queijos especiais (ANUALPEC, 2013), e que de acordo com Aquino *et al.* (2014) as mudanças nas características físico- químicas do leite após adição do soro não são facilmente detectadas pelas análises de rotina, questiona-se se essa prática de adição de soro ao leite de cabra não vem sendo praticada com o intuito de aumentar a rentabilidade da venda do leite cru para consumo direto. Diante do exposto, objetivou-se nesse trabalho, verificar a eficiência da determinação do índice caseinomacropéptido (CMP) como método de detecção para adulteração de leite de cabra com soro de queijo através do método de cromatografia de alta eficiência (CLAE).

5.2. MATERIAL E MÉTODOS

5.2.1. Coleta e preparo das amostras

Foram coletadas dez amostras de leite de cabra cru recém ordenhado das raças Saanen e Alpina, de cinco propriedades localizadas na região Metropolitana e da Zona da Mata Mineira, em Minas Gerais. Foram realizadas duas visitas em cada propriedade, em intervalo de tempo superior a sete dias para coleta das amostras, entre os meses de março à agosto de 2018. Cada amostra correspondeu a dois litros de leite. As amostras foram acondicionadas em recipiente isotérmico e encaminhadas ao Laboratório de Cromatografia e aos Laboratórios de Microbiologia de Alimentos e de Físico Química I, do Departamento de Tecnologia e Inspeção de Produtos de Origem Animal (DTIPOA) da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais (EV- UFMG), onde foram processadas.

O experimento consistiu em avaliar a qualidade microbiológica, físico-química e quantificar o índice de caseinomacropéptido (CMP) do leite de cabra cru fresco e adicionado com 2, 5, 10 e 20% de soro de queijo.

5.2.2. Preparo do soro e adições ao leite de cabra

Para preparo do soro foram adicionados 0,5mL de coalho líquido da marca Ha- La em 250mL de leite cru de cabra e colocado em banho-maria a 32°C, para cada uma das dez amostras coletadas. Após 60 minutos, a massa coagulada foi cortada, agitada e dessorada. O soro coletado em erlenmeyer de 500mL, foi aquecido até o princípio de fervura, visando a inativação da enzima do coalho, de acordo com recomendação do MAPA (BRASIL, 2003).

As amostras, subdivididas em cinco alíquotas, foram adulteradas com os diferentes níveis de soro de queijo (2 a 20%), e analisadas imediatamente quanto a sua qualidade microbiológica e físico- química. Parcelas de 50 mL das alíquotas foram congeladas a -18°C para posterior análise do índice CMP pelo método de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).

5.2.3. Análises microbiológicas

5.2.3.1. Contagem de microrganismos mesófilos aeróbios

Foram espalhadas, alíquotas de um mililitro das diluições seriadas de 10^{-2} até 10^{-5} em placas de petri estéreis. Posteriormente, foram vertidos em cada placa cerca de 15 a 20 mL de Plate Count Ágar (PCA) fundido e mantido em banho-maria a 46°C. As placas foram homogeneizadas e mantidas em superfície plana para a solidificação do ágar. A seguir, foram incubadas por 48 horas a 36°C, com as placas invertidas (BRASIL, 2003).

5.2.3.2. Contagem de microrganismos psicrotróficos lipolíticos e proteolíticos

A contagem de microrganismos psicrotróficos proteolíticos foi realizada pela técnica de *spread-plate*, espalhando-se 0,1 mL das diluições de 10^{-3} a 10^{-7} em placas com PCA (*Acumedia*) adicionado a 10% v/v de leite desnatado reconstituído em água (10% m/v) e autoclavado. As placas foram invertidas e incubadas em estufa B.O.D a 22°C por 72 horas. A atividade proteolítica foi observada pela formação de halos

transparentes ao redor da colônia, que foram revelados ao cobrir o ágar com solução de ácido acético 10% (v/v) por um minuto (BRASIL, 1993). A atividade lipolítica também foi visualizada pela formação de halos transparentes ao redor da colônia, porém esta metodologia requer ágar Tributirina (*Merck*) acrescido de 1% v/v de óleo de oliva extra virgem (Galo®) e emulsionado mecanicamente por cinco minutos (BRASIL, 1993). As placas foram incubadas em estufa B.O.D a 22°C por 5 dias.

5.2.3.3. Contagem bacteriana total

Aproximadamente 50 mL de cada amostra de leite adicionada com concentrações de soro conhecidas, foi vertida em frasco estéril contendo Azidiol®, homogeneizada e encaminhada ao Laboratório de Análise da Qualidade do Leite da UFMG (LabUFMG) para quantificação da CBT por citometria de fluxo em equipamento IBC BactoCount IBC (*Bentley Instruments Incorporated*®, Chaska, Minnesota, Estados Unidos) (BENTLEY..., 2002).

5.2.3.4. Contagem de células somáticas

As alíquotas com 50 mL de leite de cabra cru e fraudadas com o soro, foram acondicionadas em frascos com conservante Bronopol® e foram encaminhadas para o LabUFMG para determinação da CCS por equipamento eletrônico Bentley CombiSystem 2300® (Bentley...,1998) pela metodologia de absorção do comprimento de onda na região do infravermelho (International..., 1995).

5.2.4. Análises físico-químicas

Foram realizadas análises de acidez titulável, teor de proteína total e índice crioscópico segundo a Instrução Normativa número 68, de 12 de dezembro de 2006 (BRASIL, 2006), em triplicata. Os teores de gordura, lactose, extrato seco total, extrato seco desengordurado e caseína foram determinados eletronicamente pelo equipamento Bentley CombiSystem 2300® (Bentley...,1998), através da metodologia de espectroscopia na região do infravermelho médio acoplada a FTIR (*Fourier Transform Infrared Spectroscopy*) (International..., 2000).

5.2.4.1. Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)

Foram preparados padrões de 0, 2, 5, 10 e 20% de soro de queijo adicionado ao leite cru de cabra. As alíquotas foram acrescidas de 10mL de solução de ácido tricloroacético a 24%, sob agitação constante durante 2 minutos, deixado em repouso por 60 minutos em temperatura ambiente e posteriormente filtrado em papel de filtro qualitativo, descartando as primeiras gotas (BRASIL, 2003). Injetou-se 20 μ L de cada filtrado no cromatógrafo (Shimadzu CLASS VP 6.1) com coluna (Zorbax GF 250 Bioséries da Agilent) cujo princípio de separação se baseia na exclusão molecular, com fluxo de fase móvel de 1,5mL por minuto (bombeamento isocrático de solução tampão fosfato pH 6,0) e detecção por ultra- violeta no comprimento de onda de 205nm, onde obtendo-se os resultados de CMP (BRASIL, 2010).

5.2.5. Análises estatísticas

As variáveis microbiológicas e físico químicas foram testadas quanto à normalidade e homocedasticidade da distribuição dos resíduos por meio dos testes de *Shapiro-Wilk* e *Bartlett*. Para as variáveis que cumpriram as premissas da análise de variância, com seus valores originais ou após transformação logarítmica, o efeito da adição de soro foi avaliado por meio do teste de F após ajuste de modelo misto que considerou a associação entre as medidas repetidas de uma amostra. A matriz de covariância assumida foi a autoregressiva de primeira ordem. Teste de T foi utilizado para comparação de médias. Para as variáveis que não apresentavam distribuição normal ou homogeneidade de variância dos resíduos foi realizado o teste de Friedman para avaliação do efeito de adição de soro, e, em caso de efeito significativo, o teste de Wilcoxon foi utilizado para comparação das quantidades de adição duas a duas. Análises de regressão linear mistas considerando a correlação entre os resíduos por meio de matriz de covariância autoregressiva de primeira ordem foram ajustadas para as variáveis em que o efeito de adição de soro se mostrou presente. Para as avaliações foi considerado o nível de significância de 5%. Todas as análises foram realizadas utilizando o software SAS University Edition (SAS Institute Inc, 2018).

5.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.3.1. Resultados das análises físico-químicas dos leites de cabras cru e adicionados de 0, 2, 5, 10 e 20% de soro de queijo de cabra

Os resultados dos teores de gordura, acidez titulável e índice crioscópico mantiveram-se dentro dos valores preconizados pela legislação (BRASIL, 2000) para todos os níveis de soro adicionados (**TABELA 1**).

TABELA 1 - Resultados das análises físico-químicas para o leite de cabra adicionado com concentrações conhecidas de soro

Parâmetros	Níveis de adição de soro					P-valor total
	0%	2%	5%	10%	20%	
Gordura % ¹	3,41a	3,38a	3,32b	3,14c	2,95c	<0,0001**
Acidez (°D) ²	16,02	15,99	15,98	15,91	15,57	0,3926
Índice Crioscópico (°H) ¹	-0,563a	-0,563a	-0,563a	-0,565a	-0,568b	0,0015*
Proteína Total% ²	3,13	3,07	3,04	2,94	2,73 **	<0,0001*
Caseína (%) ²	2,61	2,57	2,51	2,41	2,21	0,0004*
Lactose % ¹	4,27a ***	4,27a ***	4,27b ***	4,28b ***	4,18ab ***	0,0002**
ESD % ¹	8,33a	8,28ab	8,25b	8,15c **	8,0d **	<0,0001*

¹mediana /²média dos quadrados mínimos.

*efeito de tempo significativo ao teste de F (p<0,05); letras distintas nas linhas referem-se a médias significativas diferentes sob o teste de T; **efeito de tempo significativo ao teste de Friedman (p<0,05); letras distintas nas linhas referem-se a medianas significativamente diferentes sob teste de Wilcoxon (p<0,05).

*** parâmetros fora do padrão de acordo com a IN 37 do MAPA de 2000.

FONTE: do autor.

A acidez permaneceu dentro dos valores aceitos pela legislação em todos os tratamentos, apesar de ter ocorrido redução em função do aumento dos níveis de soro

adicionados. O mesmo foi observado para a crioscopia, que manteve-se dentro dos limites estabelecidos pela legislação em todos os tratamentos, porém mostrou ($p < 0,05$) a redução quando os percentuais de soro foram aumentados para 20%, o que pode estar relacionado a composição do soro, que é rico em componentes solúveis, tais como lactose, proteínas solúveis e sais minerais, que reduzem a crioscopia (CARVALHO *et al.*, 2007). Cortez *et al.* (2010), em estudo com leite bovino acrescentado com diferentes níveis de soro, demonstraram que não ocorreram modificações marcantes nos valores da crioscopia, mesmo com adição de 30% de soro e que a acidez tendeu a redução, mas ambos os parâmetros mantiveram-se dentro dos limites da legislação (BRASIL, 2002), corroborando com os resultados deste estudo para leite caprino (**TABELA 1**).

Os teores de gordura, apesar de se manterem dentro dos limites preconizados no regulamento técnico de identidade e qualidade para leite de cabra (BRASIL 2000), reduziram ($p < 0,05$) a medida em que foram aumentados os níveis de soro. O mesmo foi observado para o índice de proteína, estando fora do padrão apenas as amostras com 20% de soro adicionado. Cortez *et al.* (2010) também observaram reduções significativas na quantidade de gordura e proteína em função da adição de soro no leite bovino, onde o teor de gordura ficou abaixo do preconizado pela legislação (BRASIL, 2002), após 15% de adição de soro. Aquino *et al.* (2014) relataram que é possível adicionar até 10% de soro sem extrapolar qualquer parâmetro de composição dependendo do conteúdo inicial de gordura no leite bovino cru. Okiveira, Camera e Noskoski (2011) relataram que a adição de soro interfere principalmente na redução dos teores de proteínas e gorduras. O teor de gordura é um parâmetro da qualidade muito importante na cadeia láctea devido a sua importância nutricional e ao seu impacto tecnológico, uma vez que influencia no aroma e sabor dos derivados lácteos caprinos (PARK *et al.*, 2007). A redução do valor nutritivo do alimento, em função da adição de soro, ocasiona a diluição dos teores de proteínas e gorduras, e, em casos de consumo a longo prazo principalmente em lactantes, pode gerar desnutrição (OLIVEIRA *et al.*, 2009). Portanto, é possível notar que a diluição da concentração de gorduras e proteínas é um fator limitante para a adição de soro.

Assim como ocorreu redução do teor de proteína total, também foi observado redução ($p < 0,05$) dos níveis de caseína em função das porcentagens de soro de queijo adicionados ao leite de cabra fresco (**TABELA 1**). Verificou-se que os níveis de caseína do leite com 0% de soro foram iguais ($p < 0,05$) aos com 2 e 5% de soro adicionado. A

proporção do teor de caseína, constituinte principal dos queijos, também está associada as espécies, animais e estágio de lactação, assim como grande parte dos constituintes do leite. A redução dos níveis de caseína e proteína, neste estudo, são esperadas em função da diluição dos componentes a medida que se aumenta a proporção de soro, resultando em prejuízos durante o processo de beneficiamento, principalmente quanto ao rendimento queijeiro.

Os teores de ESD, apresentaram redução a medida que os níveis de soro foram aumentados ($p < 0,05$), e ficaram abaixo do preconizado pela legislação quando adicionados de 10 e 20% de soro. Agnese (2002) afirmou que a adição de água presente no soro, pode alterar o teor de sólidos não gordurosos. Essa redução de ESD pode, portanto, ser um indicativo para fraudes no leite, contudo, não é um parâmetro conclusivo.

Assim como no leite bovino, o principal carboidrato do leite caprino é a lactose, embora que em concentrações aproximadamente 0,2 a 0,5% menores (CENACHI *et al.*, 2011). Os teores de lactose no leite com 0% de soro adicionado, observados nas amostras deste estudo, já se encontraram ligeiramente fora do valor mínimo aceito pela legislação. Assim, apesar de ter o seu teor reduzido ($p < 0,005$) em função do aumento dos níveis de soro, não poderia ser utilizado como parâmetro para fraude por adição de leite, visto que sem soro adicionado já se encontra fora dos padrões, assim como foi observado nos estudos de Figueiredo (2017) e Dutra *et al.* (2014) com leite caprino. O teor de lactose pode ser influenciado pela quantidade de concentrado disponibilizado na dieta (QUEIROGA *et al.*, 2007) e alimentação desbalanceada, como o percebido em algumas propriedades da mesorregião da zona da mata mineira por Figueiredo (2017). Fatores genéticos também não podem ser descartados para os teores inferiores de lactose, uma vez que animais de uma mesma região podem apresentar graus de parentesco. O fato de vários estudos reportarem valores inferiores quanto ao teor de lactose permite questionar o valor limítrofe imposto pela legislação brasileira vigente, uma vez que a alimentação, raça e estágio de lactação das cabras podem influenciar na produção de lactose.

Para o consumidor do leite bovino a diferença entre o leite puro e o fraudado só é perceptível quando o grau de adição de soro é superior a 20% (Pesquisa..., 2003). No experimento de Cortez *et al.* (2010), os julgadores não detectaram diferença sensorial com 30% de adição de soro de queijo no leite bovino. Contudo, dependendo da

quantidade de soro adicionada, a detecção da fraude por adição de soro de queijo em leite cru pelas análises de rotina, de baixo custo, fica imperceptível, em concordância com o relatado por Aquino *et al.* (2014) que sugeriram que mudanças nas características físico-químicas do leite após a adição de soro de queijo não são evidentes. Motta *et al.* (2014) relataram que a detecção de tal alteração através do teste de controle de qualidade rotineiramente empregado na recepção do leite cru pela indústria de lácteos é um desafio.

5.3.2. Resultado das análises microbiológicas dos leites de cabras cru e adicionados de 0, 2, 5, 10 e 20% de soro de queijo de cabra

De acordo com o observado na **TABELA 2** nenhum dos parâmetros microbiológicos obtiveram diferença ($p < 0,05$) com a adição do soro de queijo preparado em laboratório em ambiente estéril. A média da contagem bacteriana total nesse estudo foi de $4,4 \times 10^5$ UFC/mL. Apesar de estar dentro do limite de $5,0 \times 10^5$ UFC/mL determinado pelo RTIQ de leite de cabra (BRASIL, 2000), foram observadas amostras com valores superiores ao recomendado. Não houve diferença de crescimento em nenhum dos tratamentos de adição de soro ($p > 0,05$). Na análise de regressão linear foi obtido coeficiente de determinação baixo ($r^2 = 2,3\%$), ou seja, o crescimento microbiano desse experimento não pode ser explicado em função da adição de soro, provavelmente por este soro ter sido obtido em condições de higiene e em recipientes estéreis. De acordo com Gomes e Souza (2012), a elevada contagem bacteriana inicial de amostras de leite cru pode estar associada ao leite velho, refrigeração inadequada, problemas de sanidade do rebanho e ausência de boas práticas durante a obtenção do leite e no beneficiamento.

TABELA 2. Resultados médios da contagem de microrganismos mesófilos aeróbios, psicrotróficos proteolíticos e lipolíticos, contagem bacteriana total e contagem de células somáticas em leite de cabra cru e adicionado de 0, 2, 5, 10 e 20%

Parâmetros	CBT (UFC/mL) ²	Mesófilos aeróbios (UFC/mL) ²	Psicrotróficos proteolíticos (UFC/mL) ¹	Psicrotróficos Lipolíticos (UFC/mL) ¹	CCS (Céls/mL) ¹
Média/ Mediana	4,4x10 ⁵	5,9x10 ⁶	3,0x10 ⁵	1,1x10 ⁷	1,5x10 ⁵
P- valor	0,2646	0,5231	0,1868	0,0805	0,1108

¹mediana /²média dos quadrados mínimos.

*efeito de tempo significativo ao teste de F (p<0,05); **efeito de tempo significativo ao teste de Friedman (p<0,05);

FONTE: do autor.

A mediana elevada observada para a contagem de psicrotróficos proteolíticos (3,0x10⁵ UFC/mL), poderia acarretar na alteração do valor de caseinomacropéptido (CMP) e por consequência resultaria em resultados falsos positivos para adição de soro, visto que, as proteases sintetizadas pelos microrganismos psicrotróficos quebram a caseína de forma semelhante à hidrólise realizada pela quimosina, liberando o pseudo - CMP (DATTA; DEETH, 2001; FUKUDA, 2003). Magalhães (2008) relatou que o método de análise por CLAE não diferenciou, no leite UHT, o CMP proveniente do soro de leite do pseudo- CMP produzido por proteases de *Pseudomonas fluorescens*. Isto se deve à não especificidade das enzimas proteolíticas extracelulares de hidrolisar a caseína em locais parecidos aos locais hidrolisados pela quimosina. A quimosina hidrolisa especificamente a ligação 105- 106 da k- caseína, enquanto as proteinases psicrotróficas hidrolisam a caseína na ligação 105-106 e também clivam nas posições 103-104, 104-105 e 106-107 (MOLLÉ; LÉONIL, 1995; RECIO *et al.*, 2000).

A contagem de psicrotróficos lipolíticos apesar de não ter variado (p>0,05) em relação a adição de soro conhecida, foi bastante elevada, com mediana de 1,1x10⁷UFC/mL. Valor inferior foi encontrado por Figueiredo (2017) para o leite de cabra fresco na região da Zona da Mata Mineira. Champagne *et al.* (1994) relataram alterações perceptíveis no aroma e sabor quando as contagens de microrganismos

psicrotróficos estiveram acima de $1,0 \times 10^6$ UFC/mL. Contaminação que foi observada nas amostras de leite caprino deste estudo. Assim, pode-se afirmar a baixa qualidade microbiológica do leite de cabra da região metropolitana e da Zona da Mata mineiro, que pode resultar em derivados com qualidade reduzida, visto que, de acordo com Fonseca *et al.* (2006) as enzimas provenientes dos psicrotróficos são termorresistentes e atuam na degradação do leite mesmo após a pasteurização.

Os elevados índices de microrganismos mesófilos, psicrotróficos proteolíticos e lipolíticos encontrados nas análises do leite caprino fresco e adicionados com 0, 2, 5, 10 e 20% de soro de queijo de cabra, provavelmente estão associados a um sistema precário de ações de higiene durante a ordenha observado em algumas propriedades durante a coleta. Além disso, a grande amplitude entre os valores máximo e mínimo na contagem de microrganismos do leite cru, sem adição de soro reflete a heterogeneidade dos cuidados de higiene de ordenha observados durante a coleta das amostras na região metropolitana e da Zona da Mata mineira.

Outro parâmetro diretamente relacionado a qualidade e aos aspectos sanitários, é a contagem de células somáticas (CCS). A mediana para os níveis de CCS observados neste estudo foi de $1,5 \times 10^5$ céls/mL, não sendo observadas variações ($p=0,1108$) entre os níveis de soro adicionados e apresentando baixo coeficiente de variação quando comparado com as demais análises microbiológicas (CV= 32,51%). Provavelmente porque as células somáticas têm tropismo pela fração gordurosa do leite, e portanto, não se concentraria no soro do queijo. Assim, a CCS em amostras fraudadas não seria alterada pela adição do soro. A IN 62 do MAPA de 2011 (BRASIL, 2011), que regulamenta os padrões de identidade e qualidade para o leite bovino, estabelece valores de $3,6 \times 10^5$ UFC/mL para CCS, assim, a mediana observada no estudo, estaria dentro dos padrões regulamentados para legislação de leite bovino. Apesar da CCS no leite bovino estar associada ao diagnóstico de mastite, para cabras, essa relação ainda é estudada. A CCS no leite caprino pode ser influenciada por diversos fatores, como: ciclo estral, estação do ano, produção de leite, número de partos e dias em lactação, que não estão relacionados com a mastite (GOMES; SOUZA, 2012). De acordo com Madureira *et al.* (2010), a forma como o leite é secretado nas cabras resulta em intensa descamação do epitélio glandular e, por consequência, eleva a quantidade de células somáticas, gerando um padrão de CCS diferente do leite da espécie bovina.

Ao considerar as análises microbiológicas e físico-químicas pode-se afirmar que a fraude por adição de soro de queijo ao leite fluido de cabra é de difícil detecção quando se considera os parâmetros de rotina normalmente analisados na seleção do leite.

5.3.3. Resultados da cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) para o leite caprino cru adicionado de 0, 2, 5, 10 e 20% de soro de queijo de cabra

Os valores de caseinomacropeptídeo (CMP) apresentaram diferença significativa a 5% em relação aos níveis de soro testados (**TABELA 3**). Foi observado que o leite de cabra fresco se diferiu significativamente dos demais tratamentos (2, 5, 10 e 20% de soro), ou seja, mesmo com o menor percentual de soro adicionado foi possível detectar diferença em relação ao leite de cabra sem adição de soro, pelo método de cromatografia líquida de alta eficiência, demonstrando a eficiência do método também para a pesquisa nesse leite. Contudo, as amostras fraudadas com 2% e 5% de soro foram significativamente iguais. Alves *et al.* (2017) relataram que o CMP aumentou progressivamente no leite bovino cru analisado adicionado com soro de coalho em concentrações conhecidas. Na análise de regressão linear, obteve-se coeficiente de determinação, $r^2=42,76\%$. O valor médio do índice de CMP estimado inicial, de 219,55mg/L, de acordo com a curva, aumentaria 21,78 mg/L para cada nível de soro testado. Sugere-se ainda que o valor médio de 178,43 mg/L obtido para o leite de cabra cru sem adição de soro, poderia variar de acordo com os valores máximo e mínimo observados entre 44,45 mg/L à 312,41 mg/L, sem que o leite caprino seja considerado fraudado por adição de soro de queijo de cabra. O valor inicial mostrou-se superior ao obtido por Figueiredo (2017) que encontrou concentração de CMP de 34,49 mg/L para o leite de cabra fresco sem adição de soro. Contudo, o valor médio inicial para o índice de CMP obtido por Figueiredo (2017) já foi superior ao preconizado pela legislação (BRASIL, 2006) para leite bovino para o leite destinado ao consumo direto.

TABELA 3- Valores médios de caseinomacropéptídeos obtidos pela análise de cromatografia líquida de alta eficiência para o leite caprino cru adicionado de 0, 2, 5, 10 e 20% de soro de queijo de cabra

Tratamento	CMP (mg/L) ¹	Erro padrão	Valor mínimo	Valor máximo	P- valor
0%	178,43d	66,06	44,45	312,41	0,0105*
2%	312,04bc	66,06	178,06	446,02	<0,001*
5%	311,83dc	66,06	177,85	445,81	<0,001*
10%	456,75b	66,06	322,77	590,73	<0,001*
20%	654,54a	66,06	520,56	788,52	<0,001*

¹média dos quadrados mínimos; * efeito de tempo significativo ao teste de F (p < 0,05); letras distintas na coluna referem-se a médias significativamente diferentes sob o teste de T.

FONTE: do autor.

De acordo com a Instrução Normativa N°69 de 2006, do MAPA (BRASIL, 2006), que regulamenta limites da adição do soro de queijo ao leite de vaca destinado diretamente ao consumo, e utiliza como critério a determinação quantitativa do índice caseinomacropéptídeo (CMP), o leite é considerado adequado ao abastecimento direto quando a concentração de CMP for de até 30 mg/L. Assim, de acordo com essa portaria, as amostras de leite de cabra analisadas, mesmo sem adição de soro, teriam que ser destinadas a produção de subprodutos ou descartadas. Contudo, segundo Figueiredo (2017), esses resultados iniciais elevados de CMP em leite de cabra cru podem ocorrer em consequência da menor estabilidade de sua proteína quando comparados ao leite bovino.

Podemos observar na **FIGURA 1** o aumento do índice de CMP em função da adição controlada de soro e a redução dos teores de gordura e proteína. Percebe-se nitidamente a redução dos valores percentuais de gordura e proteína e o aumento do CMP. A diluição dos teores de proteínas e gorduras ocasionam na redução do valor nutricional do alimento, e, em alguns casos de consumo a longo prazo principalmente em lactantes, pode gerar desnutrição (OLIVEIRA *et al.*, 2009). Além desses inconvenientes, a adição resulta também na redução do rendimento, alteração da qualidade dos produtos beneficiados e diminuição da vida de prateleira (CORTEZ *et al.*, 2010), caracterizando assim, uma prática abusiva.

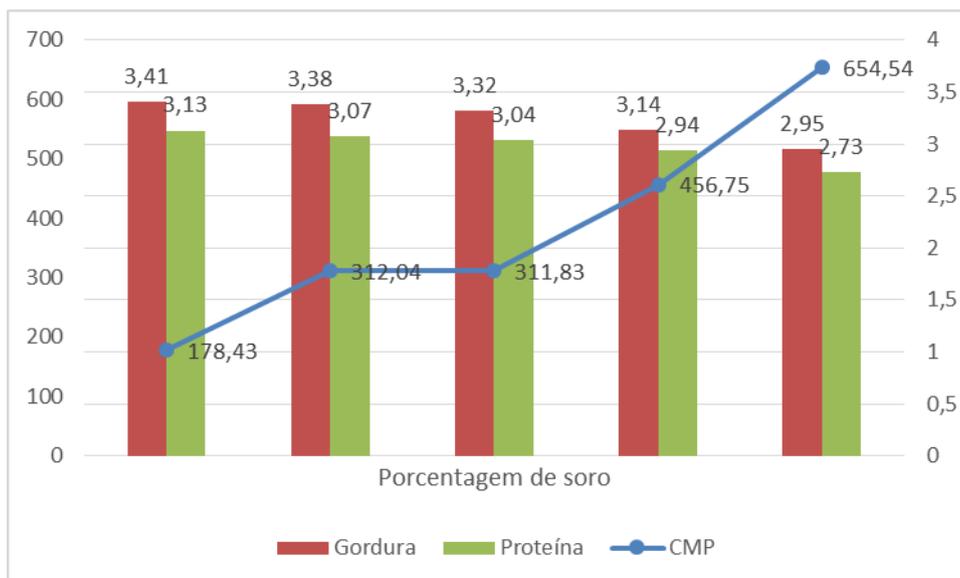


FIGURA 1 – Relação do Caseinomacropeptídeo (mg/L), proteína (%) e gordura (%) no leite caprino adicionado com 0, 2, 5, 10 e 20% de soro.

5.4. CONCLUSÕES

A adição de soro altera a qualidade do leite caprino em vários componentes nutricionais (proteínas, gordura, entre outras). Contudo, as alterações nas propriedades físico-químicas e microbiológicas analisadas isoladamente, nos níveis de adição praticados nesse experimento, não se mostraram determinantes para a definição da fraude. Apenas com adições acima de 15% houve inadequação perceptível em alguns parâmetros.

Evidencia-se a eficiência da utilização do método de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) para análise do índice caseinomacropeptídeo (CMP) em leite caprino cru, com o objetivo de detectar fraude por adição de soro, uma vez que a partir da adição de 2% de soro já foi denotada variação significativa do índice de CMP.

Entretanto, o estabelecimento de parâmetros de normalidade e determinantes de fraude para esse índice em leite de cabra ainda precisam ser melhor investigados, pois foi demonstrada grande variação no leite cru fresco, com valores médios muito superiores aqueles observados no leite bovino cru e fresco.

AGRADECIMENTOS

Este trabalho teve apoio da Capes (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior), do CNPq (Processo 420409/2016-5) e do Lab UFMG/ Escola de Veterinária.

REFERÊNCIAS

- AGNESE, A.P. Avaliação físico-química do leite cru comercializado informalmente no município de Seropédica, Rio de Janeiro. **Revista Higiene de Alimentos**, v. 17, n. 94, p. 58-61, 2002.
- ALVES, E. P.; *et al.* Milk adulteration with acidified rennet whey: a limitation for the caseinomacropetide detection by high-performance liquid chromatography. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2017.
- ANUÁRIO DA PECUÁRIA BRASILEIRA- ANUALPEC. Rio Grande do Sul. Editora Gazeta. p. 114. 2013.
- AQUINO L.F.M.C. *et al.* Identifying cheese whey an adulterant in milk: limited contribution of a sensometric approach. *Food Res Int* v.62, p.233–237, 2014.
- BENTLEY Instrument INC. Bactocount 150 operator's manual. Chaska: Bentley Instruments Inc.; 2002. 49p.
- BENTLEY Instruments INC. Bentley 2000 operator's manual. Chaska: Bentley Instruments Inc.; 1998. 79p.
- BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Portaria nº 101, de 11 de agosto de 1993. Métodos Analíticos para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes – métodos microbiológicos (anexo). *Diário Oficial da União Federativa do Brasil*, 17 de agosto de 1993.
- BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Instrução Normativa nº 37, de 8 de novembro de 2000. Aprova o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Leite de Cabra. *Diário Oficial da União Federativa do Brasil*, 18 de novembro de 2000.
- BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Instrução Normativa nº 62, de 26 de agosto de 2003. Métodos Analíticos Oficiais Microbiológicos para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de

origem Animal e Água. *Diário Oficial da União Federativa do Brasil*, 18 de setembro de 2003.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Instrução Normativa no 68, de 12 de dezembro de 2006. Oficializa os Métodos Analíticos Oficiais Físico-Químicos, para Controle de Leite e Produtos Lácteos, em conformidade com o anexo desta Instrução Normativa, determinando que sejam utilizados nos Laboratórios Nacionais Agropecuários. *Diário Oficial da União Federativa do Brasil*, 14 de dezembro de 2006, seção 1, p.8-30, 2006a.

BRASIL. Instrução Normativa nº 69, de 13 de dezembro de 2006. Institui Critério de Avaliação da Qualidade do Leite in natura, Concentrado e em Pó, Reconstituídos, com base no Método Analítico Oficial Físico-Químico denominado “Índice CMP”, de que trata a Instrução Normativa nº 68, de 12 de dezembro de 2006b. *Diário Oficial da União*, Brasília, DF, 15 dez. 2006, seção 1, p.8.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento. Instrução Normativa nº7, de 2 de março de 2010. Oficializa a determinação de CMP em leite, por HPLC, eletroforese capilar e espectrometria de massas em leite, em apresentações integrais, semi-desnatadas e desnatadas, tratados por processos de UHT ou pasteurização. DOU. Brasília, DF, 2 de março de 2010.

BRASIL. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE. Efetivo dos rebanhos de médio porte, segundo as grandes regiões e unidades da federação, 2015. Disponível em: <https://ww2.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/ppm/2015/default_xls_brasil.shtm> Acesso em: 13 de novembro de 2018.

CARVALHO, A. F.; *et al.* Qualidade físico-química e microbiológica do leite pasteurizado comercializado em Viçosa MG. II CONGRESSO BRASILEIRO DE QUALIDADE DO LEITE, 2007.

CENACHI, D. B.; *et al.* Aspectos composicionais, propriedades funcionais, nutricionais e sensoriais do leite de cabra: Uma revisão. **Revista Instituto Cândido Tostes**. Nº 382, v.66, p. 12-20, 2011.

CORDEIRO, P. C.; CORDEIRO, A. G. P. C. A Produção de leite de Cabra no Brasil e seu mercado. X Encontro de Caprinocultores do Sul de Minas e Média Mogiana, Espírito Santo do Pinhal, 2009.

CORTEZ, M. A. S.; *et al.* Características físico-químicas e análise sensorial do leite pasteurizado adicionado de água, soro de queijo, soro fisiológico e soro glicosado. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 65, n. 376, p. 18-25, 2010.

DATTA N.; DEETH H. C. Age gelation of UHT milk – a review. **Food and Bioproducts Processing**. v.79, p. 197- 210, 2001.

DUTRA, C. M. C.; *et al.* Parâmetros de qualidade do leite de cabra armazenado sob frio. **Arquivos do Instituto Biológico**. São Paulo. v. 81, n. 1, p. 36-42, 2014.

EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Caprinos & Ovinos em Revista**. Sobral: EMBRAPA, 2013.

FIGUEIREDO, N. C. Leite de cabra: **Diagnóstico de qualidade na mesorregião da Zona da Mata Mineira e estudo do leite armazenado por sete dias em condições laboratoriais**. 2017. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Federal de Minas Gerais, 2017.

FONSECA, C. R.; PORTO, E.; DIAS, C. T. S., *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, 2006.

FUKUDA, S.P. **Estudo da correlação entre o método da ninidrina ácida e a cromatografia líquida de alta eficiência para a dosagem de glicomacropéptídeos e caseinomacropéptídeo em leite**. 2003. Tese (Tecnologia de Alimentos) - Universidade Estadual de Campinas, 2003.

GOMES L.C.; SOUZA R. Produção de leite de cabra: oportunidades de negócio e qualidade do leite. **Revista mais leite**, v.16, p.36-40, 2012.

GOMES, B.V. Nota Técnica – Nº1: **Conjuntura Trimestral Caprino** – Ovinocultura Pernambuco. Companhia Nacional de Abastecimento, 2016. Disponível em: <

<http://docplayer.com.br/26077957-Nota-tecnica-n-1-conjuntura-trimestral-caprino-ovinocultura-pernambuco.html> >. Acesso em: 20 de maio de 2017.

MAGALHÃES, M. A. **Determinação de fraude de leite com soro de leite pela análise de CMP e Pseudo- CMP por cromatografia líquida de alta eficiência em fase reversa com detecção por espectrometria de massa.** 2008. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, 2008.

MINAS GERAIS. Lei Estadual nº 19.583, de 17 de agosto de 2011. Dispõe sobre as condições para manipulação e beneficiamento artesanais de leite de cabra e de ovelha e de seus derivados. Disponível em: < <http://www.caprileite.com.br/conteudo/150-ii-lei-n-19-583-leite-legal-publicada-em-17-de-agosto-de-2011> >. Acesso em: 12 de abril de 2017.

MOLLÉ, D.; LÉONIL, J. Quantitative determination of bovine k-casein macropeptide in dairy products by liquid chromatography/ electrospray coupled to tandem mass spectrometry (LC_ESI/MS/MS). *International Dairy Journal*. v.15, p.419-428, 2005.

MOTTA T.C. *et al.* Detection and confirmation of milk adulteration with cheese whey using proteomic-like sample preparation and liquid chromatography- electrospray-tandem mass spectrometry analysis. *Talanta*, v.120, p.498-505, 2014.

OLIVEIRA, G. B.; GATTI, M. D. S.; VALADÃO, R. C.; *et al.* Detecção da adição fraudulenta de soro de queijo em leite: interferência da atividade de proteases bacterianas. *Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes*, v. 64, n. 368, p. 56-65, 2009.

PARK, Y. W., *et al.* Physico-chemical characteristics of goat and sheep milk. *Small Ruminant Research*, v. 68, p. 88-113, 2007.

PINTO, C. L. O. **Bactérias psicrotóxicas proteolíticas do leite cru refrigerado granelizado destinado à produção do leite UHT.** 2004. Tese (‘Doctor Scientiae’) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2004.

SAS Institute Inc. 2018. SAS® University Edition Quick Start Guide for Students with Visual Impairments. Cary, NC: SAS Institute Inc.

QUEIROGA, R. C. R. E.; COSTA, R. G.; BISCONTINI, T. M. B.; *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, 2007.

RECIO, I.; *et al.* Detection of rennet whey solids in UAT milk by capillary electrophoresis. *International Dairy Journal*, v.10, p.333-338, 2000.