

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

ESCOLA DE VETERINÁRIA

COLEGIADO DE PÓS-GRADUAÇÃO

LEITE DE CABRA: DIAGNÓSTICO DE QUALIDADE NA MESORREGIÃO DA ZONA
DA MATA MINEIRA E ESTUDO DA DAS ALTERAÇÕES DO LEITE ARMAZENADO
POR SETE DIAS EM CONDIÇÕES LABORATORIAIS

NAIARA CHAVES FIGUEIREDO

BELO HORIZONTE – MG

ESCOLA DE VETERINÁRIA DA UFMG

2017

Naiara Chaves Figueiredo

LEITE DE CABRA: DIAGNÓSTICO DE QUALIDADE NA MACRORREGIÃO DA ZONA
DA MATA MINEIRA E ESTUDO DA DEGRADAÇÃO DO LEITE ARMAZENADO POR
SETE DIAS EM CONDIÇÕES LABORATORIAIS

Dissertação apresentada à
Escola de Veterinária da
Universidade Federal de Minas
Gerais – UFMG, como requisito
para obtenção do grau de Mestre
em Ciência Animal.

Área de concentração:
Tecnologia e Inspeção de
Produtos de Origem Animal.

Orientador: Cláudia Freire de
Andrade Morais Penna

Belo Horizonte - MG
Escola de Veterinária da UFMG
2017

F4751 Figueiredo, Naiara Chaves, 1990-
Leite de cabra: diagnóstico de qualidade na macrorregião da Zona da Mata Mineira e estudo da degradação do leite armazenado por sete dias em condições laboratoriais / Naiara Chaves Figueiredo. – 2017.
47 p. : il.

Orientador: Cláudia Freire de Andrade Morais Penna
Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais. Escola de Veterinária
Inclui bibliografia

1. Leite de cabra – Análise – Teses. 2. Leite de cabra – Qualidade – Teses. 3. Leite de cabra – Armazenamento – Teses. 4. Queijo de cabra – Teses. I. Penna, Cláudia Freire de Andrade Morais. II. Universidade Federal de Minas Gerais. Escola de Veterinária. III. Título.

CDD – 637.17

FOLHA DE APROVAÇÃO


NAIARA CHAVES FIGUEIREDO

Dissertação submetida à banca examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em CIÊNCIA ANIMAL, como requisito para obtenção do grau de MESTRE em CIÊNCIA ANIMAL, área de concentração TECNOLOGIA E INSPEÇÃO DE PRODUTOS DE ORIGEM ANIMAL.

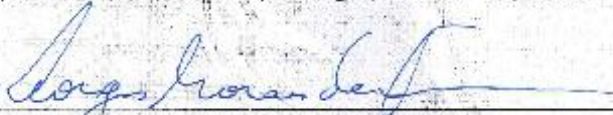
Aprovada em 08 de Fevereiro de 2017, pela banca constituída pelos membros:



Profª. Claudia Frelre de Andrade Murais Penna
Presidente - Orientador



Dra. Maria Izabel Camello Ferreira
Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária- EMBRAPA



Prof. Leorges Moraes da Fonseca
Escola de Veterinária - UFMG



Dra. Patricia Vilhena Dias de Andrade
Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária- EMBRAPA

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus pais por todo o apoio durante a vida e o amor incondicional, e aos meus irmãos Stefan e Ranier por serem exemplos que eu pretendo seguir.

Agradeço à minha orientadora Cláudia pela presença, conhecimento e apoio irrestritos durante minha formação acadêmica.

Aos meus colegas de laboratório que dividem conhecimento e ajudaram a tornar este projeto real. Carla, Felipe, Gabi, Gilson, Giva, Letícia, Ranier, Renata Dias e Renata de Paoli, muito obrigada!

Aos alunos de iniciação científica Amanda, Bárbara, Cecília e Luigi, muito obrigada pela ajuda!

Agradeço ao Zé André, ao Matheus, ao professor Iran Borges e a todo o NEPPER pelo suporte logístico, científico, e de divertimento.

À professora Ângela pelo suporte estatístico oferecido.

Agradeço aos técnicos do DTIPOA, Cosme, Maura, Marco Antônio, César, Márcia e Miltinho.

A todo o corpo docente do DTIPOA, obrigada por me receberem tão bem.

Ao LabUFMG e a todos os trabalhadores que lá estão, agradeço pela simpatia e cordialidade.

À Deborah, Camila, Lara e Jean, pela amizade verdadeira, e por não desistirem de mim quando eu fico cancelando nossos encontros! Obrigada pela compreensão!

Agradeço à comunidade de produtores de leite de cabra da cidade de Santa Margarida – MG, e de Juiz de Fora - MG por terem me recebido tão bem e com tanta simpatia.

Agradeço aos colegas do ICB, por se disporem à trocas de conhecimentos, o que somente nos traz benefícios.

Agradeço à Escola de Veterinária da UFMG, ao CNPq e à CAPES pelo apoio institucional e financeiro.

SUMÁRIO

	RESUMO.....	
	ABSTRACT.....	
1.	INTRODUÇÃO.....	11
2.	OBJETIVOS.....	12
3.	CAPÍTULO I – DIAGNÓSTICO DA QUALIDADE DO LEITE DE CABRA CRU PRODUZIDO E ESTOCADO NA MESORREGIÃO DA ZONA DA MATA MINEIRA.....	13
3.1	REVISÃO DE LITERATURA.....	13
3.1.1	Composição do leite de cabra.....	13
3.1.2	Microbiota mesofílica e psicrotrófica no leite de cabra.....	17
3.2	MATERIAL E MÉTODOS.....	18
3.2.1	Amostragem.....	18
3.2.2	Análises microbiológicas	19
3.2.2.1	Contagem de micro-organismos mesófilos aeróbios.....	19
3.2.2.2	Contagem de micro-organismos psicrotróficos totais, micro-organismos proteolíticos e lipolíticos.....	19
3.2.2.3	Contagem Bacteriana Total.....	19
3.2.3	Análises físico-químicas.....	19
3.2.3.1	Composição centesimal e Contagem de Células Somáticas.....	20
3.2.3.2	Índice de proteólise do leite cru de cabra.....	20
3.2.3.3	Lipólise no leite cru de cabra.....	20
3.2.4	Análise estatística.....	21
3.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	21
3.4	CONCLUSÕES.....	26
3.5	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	26
4.	CAPÍTULO II – ESTUDO DA DEGRADAÇÃO DO LEITE DE CABRA CRU ARMAZENADO A 4°C POR SETE DIAS EM CONDIÇÕES LABORATORIAIS ..	33
4.1	REVISÃO DE LITERATURA.....	32
4.2	MATERIAL E MÉTODOS.....	34
4.2.1	Amostragem.....	34
4.2.2	Análises microbiológicas.....	34
4.2.2.1	Contagem de micro-organismos mesófilos aeróbios.....	34
4.2.2.2	Contagem de micro-organismos psicrotróficos totais, lipolíticos e proteolíticos.....	34
4.2.2.3	Contagem Bacteriana Total.....	35
4.2.3	Análises Físico-químicas.....	35
4.2.3.1	Composição centesimal e Contagem de Células Somáticas.....	35
4.2.3.2	Índice de proteólise do leite de cabra cru.....	35
4.2.3.3	Lipólise no leite de cabra cru.....	35
4.2.3.4	Produção de massa seca de queijo em escala reduzida.....	35
4.2.4	Análise estatística.....	36
4.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	36
4.4	CONCLUSÕES.....	42
4.5	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	42
5.	CONSIDERAÇÕES FINAIS	47

Lista de tabelas

TABELA 1.	Comparação da composição do leite cru de cabra entre a legislação brasileira e a literatura científica	12
TABELA 2.	Média, desvio padrão, coeficiente de variação, valores máximo e mínimo de parâmetros físico-químicos do leite de cabra cru estocado por sete dias em tanques de expansão	19
TABELA 3.	Média, desvio padrão, coeficiente de variação e valores máximo e mínimo do perfil proteico, índice de caseínomacropéptido e índice de proteólise do leite de cabra cru estocado por sete dias em tanques de expansão	21
TABELA 4.	Contagem de micro-organismos mesófilos aeróbios, proteolíticos, lipolíticos, psicrotróficos totais e CBT em leite de cabra cru estocado por sete dias em tanque de expansão	23
TABELA 5.	Médias e intervalo de confiança de 9% das análises microbiológicas do leite estocado por sete dias a 4°C em laboratório	36
TABELA 6.	Equações de regressão linear, valores de p e de R2 para os micro-organismos psicrotróficos totais, lipolíticos e proteolíticos	37
TABELA 7.	Médias e intervalos de confiança de 95% para os parâmetros físico-químicos do leite estocado por sete dias a 4°C em laboratório	37
TABELA 8.	Médias e intervalos de confiança de 95% para os teores de proteína total, caseína, NNP, índice de proteólise e índice de CMP do leite estocado por sete dias a 4°C em laboratório	38

Lista de Figuras

FIGURA 1	Contagem média de psicrotróficos totais, proteolíticos e lipolíticos, em relação aos dias de estocagem a 4°C do leite cru de cabra	35
FIGURA 2	Contagens de micro-organismos psicrotróficos proteolíticos e índice de CMP observados durante os sete dias de estocagem do leite cru de cabra à 4°C	39
FIGURA 3	Valores médios do rendimento de queijo de cabra feito em escala reduzida durante os períodos de armazenamento do leite a 4°C	40

Lista de Abreviaturas

α	Alfa
β	Beta
κ	Kapa
$^{\circ}\text{D}$	Graus Dornic
$^{\circ}\text{H}$	Graus Horvert
AGL	Ácido graxo livre
AOAC	Association of Official Agricultural Chemists
B.O.D.	Demanda bioquímica de oxigênio
CBT	Contagem Bacteriana Total
CCS	Contagem de Células Somáticas
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
CMP	Caseínomacropéptido
CMT	California Mastitis Test
DTIPOA	Departamento de Tecnologia e Inspeção de Produtos de Origem Animal
ESD	Extrato seco desengordurado
EST	Extrato seco total
EUA	Estados Unidos da América
EV	Escola de Veterinária
FAO	Food and Agriculture Organization
FDA	Food and Drug Administration
LPL	Lipoproteína lipase
mg	Miligramas
mL	Mililitros
PCA	Plate Count Agar
RBQL	Rede Brasileira de Qualidade do Leite
UFC	Unidade Formadora de Colônia
UFMG	Universidade Federal de Minas Gerais

RESUMO

O leite de cabra vem se popularizando no Brasil. O consumo de leite fluido e de queijos finos cresce dentro da população alérgica ao leite de vaca, ou que se interessa pelo seu sabor peculiar. Este aumento do consumo vem associado com a publicação de legislações que regulamentam e estimulam a produção do leite de cabra. Na esfera nacional a Instrução Normativa 37 (2000) determina o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do leite de cabra, e na esfera estadual a lei 19.583 dispõe sobre a manipulação e o beneficiamento artesanal do leite de cabra em Minas Gerais. Tendo em vista o aumento da produção e do consumo de leite caprino é imprescindível que a comunidade tenha conhecimento acerca da qualidade do leite de cabra produzido. Em Minas Gerais a região da zona da mata destaca-se como produtora de leite de cabra, porém, em alguns casos esta produção é a atividade secundária dos produtores que tradicionalmente plantam café. Esta região do estado também é influenciada por uma indústria de beneficiamento de leite de cabra que coleta leite cru semanalmente, fazendo com que o leite fique sob refrigeração por sete dias sem tratamento térmico. Desta forma foram delineados dois experimentos. O primeiro objetivou diagnosticar a qualidade do leite de cabra na mesorregião da zona da mata mineira, procedendo análises físico-químicas e microbiológicas. Os leites estudados apresentaram elevados índices de proteólise e lipólise, bem como contagem de micro-organismos psicrotróficos totais, proteolíticos, lipolíticos e mesófilos aeróbios elevados. Em 92,8% das propriedades estudadas a contagem bacteriana total foi superior ao limite aceito pela legislação. Conclui-se que a qualidade do leite cru de cabra comercializado na zona da mata mineira é baixa e os dados indicam que os derivados desse leite podem apresentar qualidade e sabor duvidosos. O segundo experimento estudou a degradação do leite cru de cabra refrigerado a 4°C em laboratório. Foram avaliadas sete amostras nos dias 0, 2, 4, 6 e 7 de refrigeração. Análises físico-químicas, microbiológicas e de rendimento de queijo em escala reduzida foram feitas. Nenhum parâmetro físico-químico apresentou diferença ($p > 0,05$) entre os tratamentos. Quanto aos micro-organismos, mesófilos aeróbios, psicrotróficos totais e lipolíticos não foi detectado efeito estatístico nos contrastes de interesse. A contagem de psicrotróficos proteolíticos no dia 0 foi diferente do dia 7 ($p = 0,0005$). O rendimento do queijo não apresentou diferença estatística, porém ao serem considerados valores econômicos a perda tornou-se importante.

Palavras-chave: leite de cabra, psicrotróficos, lipólise, proteólise, rendimento de queijo, qualidade do leite

ABSTRACT

Goat's milk has become popular in Brazil. The consumption of fluid milk and fine cheese grows within the population allergic to cow's milk, or that is interested in the peculiar taste of goat's milk. This increase in consumption is associated with the publication of a legislation that regulates and stimulates the production of goat's milk. At national level, IN 37 (2000) determines the RTIQ of goat's milk, and at state level, Law 19.583 provides for the manipulation and artisanal processing of goat's milk. In order to increase the production and consumption of goat milk, it is essential that the community is aware of the quality of goat's milk produced. In Minas Gerais, the region of the zona da mata stands out as a producer of goat's milk, but in some cases this production is the secondary activity of the producers who traditionally grow coffee. This region of the state is also influenced by a goat milk processing industry that collects raw milk weekly, forcing the producers to keep the milk under refrigeration for seven days without heat treatment. In this way two experiments were delineated. The first one was to diagnose the quality of goat's milk in the mesoregion of zona da mata, carrying out physical-chemical and microbiological analyzes. The studied milk presented high levels of proteolysis and lipolysis, as well as counting of total psychrotrophic microorganisms, proteolytic, lipolytic and elevated aerobic mesophiles. In 92.8% of the studied properties the total bacterial count is higher than the limit accepted by the law. It is concluded that the quality of raw and goat milk marketed in the zona da mata area is low and the data indicate that the milk derived from this milk may present dubious quality and flavor. The second experiment studied the degradation of raw goat's milk refrigerated at 4 ° C in the laboratory. Seven samples with 0, 2, 4, 6 and 7 days of refrigeration were evaluated. Physical-chemical, microbiological and cheese yield analyzes were performed. No physical-chemical analysis showed statistical effect among the treatments. As for microorganisms, aerobic mesophiles, total psychrotrophic and lipolytic, no statistical effect was detected in the contrasts of interest. The proteolytic psychrotrophic count at day 0 is different from day 7 ($p = 0.0005$). The yield of the cheese did not show statistical difference, but when considering economic values the loss becomes significant.

Key-words: goat's milk, psychrotrophs, lipolysis, proteolysis, cheese yield, milk quality

1. INTRODUÇÃO

Suspeita-se que a domesticação dos animais se iniciou com uma mudança socioeconômica, de disponibilidade de alimento, e a especialização da caça permitiu que o homem fosse capaz de desenvolver a tecnologia de criação de animais (Flandrin e Montanari, 1998). Cabras e ovelhas foram os primeiros animais a serem domesticados pelo homem. Seu tamanho, fácil manejo e comportamento sociável favoreceram a exploração do leite, carne, couro e lã. A criação de cabras se iniciou na região do Oriente Médio há, aproximadamente, 8000 anos e expandiu-se por toda a Europa, África e Ásia (Hatziminaoglou e Bayazoglu, 2004). Acredita-se que a fermentação natural do leite cru com a coagulação da caseína proporcionou a conservação do leite às sociedades antigas (Fox *et al.*, 2000), bem como possibilitou o consumo de leite para a população majoritariamente intolerante à lactose (Curry, 2013).

O leite de cabra é amplamente ligado à produção de derivados, dentre os quais o queijo é o de maior significância. O Sudão é o país que mais produz queijo de leite de cabra (FAOSTAT, 2014), já a França produz mais de cem diferentes tipos de queijos com leite de cabra, em sua maioria frescos, com ou sem adição de condimentos (FAO, 2013; Harbutt, 2009). Dentre outros produtos derivados do leite de cabra pode-se citar o Tarag, bebida fermentada produzida e consumida diariamente na pela população mongol (Zhang *et al.*, 2009). Ribeiro e Ribeiro (2010) ainda citam a produção de sobremesas como o sorvete, o Chakka, o Shrikand, a cajeta e até a rapadura de leite de cabra.

Haelein *et al.* (2004) apontaram a importância dos leites de cabra e ovelha como fonte de proteína animal e cálcio em países áridos e com déficit alimentar. O leite de cabra é consumido principalmente em países da Ásia e África, onde encontram-se os países menos desenvolvidos, com mais problemas de desigualdade social e onde a fome é ainda um sério problema. Segundo a FAO (2014) de todo o leite de cabra produzido no mundo 67,05% origina-se em países onde existe déficit de ingestão de alimentos. Um estudo feito de 1969 a 2003 comparando o crescimento do rebanho e da produção de leite caprino em países desenvolvidos, países com indústria desenvolvida, países em desenvolvimento, países pobres e pouco desenvolvidos apontou significativo crescimento de rebanho e produção nos países mais pobres, sugerindo que a criação de caprinos pode ser uma ferramenta para o desenvolvimento da população (Bayazoglu *et al.*, 2005).

Percebeu-se significativo crescimento da produção de leite de cabra nas últimas décadas. Em 2001, as cabras produziam 2,1% do leite no mundo, sendo aproximadamente 12,5 milhões de toneladas de leite. Aumento de 72% quando comparado com a produção de 1980 (Park e Haenlein, 2006). Segundo a FAO, em 2014, a população mundial de cabras era de aproximadamente um bilhão de animais que produziam 18,34 milhões de toneladas de leite. A Índia é o maior produtor de leite de cabra do mundo, com uma produção de 5,18 milhões de toneladas (2014), seguida por Bangladesh e do Sudão (FAOSTAT, 2014). Na América do Sul o rebanho ultrapassa os 20,6 milhões de animais, mas a produção leiteira se reduz a 221 mil toneladas (FAOSTAT, 2014). O Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), em 2013, calculou o efetivo rebanho caprino brasileiro em 8,780 milhões de cabeças, das quais larga maioria encontra-se na região nordeste do Brasil. A FAO, em 2014 calculou a produção de 153 mil toneladas de leite de cabra no território brasileiro. As unidades federativas Bahia, Pernambuco, Piauí e Ceará possuem os maiores rebanhos. O estado de Minas Gerais é detentor do maior rebanho caprino na região sudeste estimado em 102 mil cabeças (IBGE, 2013).

A produção de leite de cabra na região da zona da mata mineira está crescendo. Em alguns casos ela se apresenta como principal fonte de renda do produtor, mas em outros compreende apenas uma atividade secundária que fornece renda no período de entressafra da agricultura. A facilidade de manejo, o temperamento dócil, o valor pago pelo litro de leite e o espaço físico reduzido que a criação de caprinos exige atraem os produtores a entrarem no mercado do leite de cabra. Como qualquer mercado em expansão a heterogeneidade dos produtores é percebida, mesmo que a disparidade de acesso à tecnologia não seja tão grande. A larga maioria dos produtores detém ordenhadeira mecânica e tanques de expansão, bem como criam seus animais em confinamento.

No Brasil o produtor de leite de cabra destina sua produção para três principais fins: o consumo próprio, ou a transformação em derivados seguida de comercialização, ou a venda do leite cru fluido para indústrias de beneficiamento. O leite destinado a consumo próprio é mais comum nas regiões norte e nordeste do país, e em propriedades pequenas onde a criação de cabras não é o principal produto de extração. A transformação do leite em derivados exige que o produtor tenha um laticínio e a tecnologia de produção dos derivados, bem como mão de obra treinada. Neste caso é também necessária uma rota de escoamento dos produtos com um mercado consumidor para ser explorado. Todas estas exigências fazem com que o produtor tenha que gerenciar toda a cadeia de produção, beneficiamento e comercialização do leite, elevando custo e dificultando a logística de manutenção da empresa.

A venda do leite fluido para indústrias de beneficiamento gera um problema de logística para a indústria onde a coleta de pequenas quantidades de leite não é viável. Como a produção diária de leite de cabra é pequena e as propriedades geralmente são de pequeno porte, encontra-se a necessidade de adiar a coleta do leite de forma que o volume aumente e a coleta torne-se economicamente viável. Na região da zona da mata mineira, muitos produtores encaixam-se nesta situação, onde sua produção permanece nos tanques de expansão por sete dias, até que a indústria que atua na região faça a coleta. A manutenção do leite de cabra cru sob refrigeração por longos períodos de tempo pode causar mudanças na sua composição centesimal, bem como favorecer o desenvolvimento microbiano e consequentemente comprometer a qualidade do leite e seus derivados.

2. OBJETIVOS

- 2.1. Avaliar a qualidade físico-química e microbiológica do leite de cabra produzido e estocado por sete dias em tanques de expansão na mesorregião da Zona da Mata mineira (Capítulo I).
- 2.2. Avaliar a evolução da composição físico-química e microbiológica do leite cru de cabra refrigerado por sete dias a 4°C em condições laboratoriais. (Capítulo II).

3. CAPÍTULO I – DIAGNÓSTICO DA QUALIDADE DO LEITE DE CABRA CRU PRODUZIDO E ESTOCADO NA MESORREGIÃO DA ZONA DA MATA MINEIRA

3.1. REVISÃO DE LITERATURA

O Brasil publicou o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade (RTIQ) do leite de cabra no ano 2000 (Brasil, 2000), especificando quais são as exigências de produção, beneficiamento e qualidade para o leite caprino. Ainda assim, no citado documento alguns parâmetros não foram contemplados, como por exemplo valores limítrofes de contagem de células somáticas (CCS). O estado de Minas Gerais publicou, em 2011, a lei número 19.583 que dispõe sobre as condições para manipulação e beneficiamento artesanal de leite de cabra, ovelha e seus derivados. Onde determina que, produtores que manipulem ou beneficiem até 500 litros de leite por dia em suas propriedades para fins comerciais, devem registrar-se no Instituto Mineiro de Agropecuária (IMA). Esta lei estimulou a produção de leite de cabra e ovelha no estado. Nos Estados Unidos da América (EUA), a Food and Drug Administration (FDA) determina que o regulamento para leite de vaca também deve ser aplicado para leite de cabras, ovelhas e bubalinos, fazendo distinção dos limites composicionais apenas para a contagem de CCS em leite de cabra (FDA, 2017).

A secreção láctea das cabras é do tipo apócrina, havendo eliminação de parte do citoplasma celular junto com a excreção do leite. Esta característica exige que a glândula mamária renove seu epitélio constantemente, e o tipo de resposta imune das cabras, frente a infecções, causam elevada eliminação de CCS no leite. O leite de cabra apresenta em média, 150 mil corpúsculos citoplasmáticos, que não devem ser contados como células somáticas (Paape *et al.*, 2001). E a CCS de cabras saudáveis pode chegar até 1000×10^3 células/mL, sendo 1 a 6% deste total células epiteliais (Paape *et al.*, 2007).

A qualidade do leite cru é determinante para a qualidade dos derivados que este leite gerará, e a CCS faz parte dos parâmetros usados para avaliar a qualidade do leite cru, como visto no estudo de Sánches-Marcías *et al.* (2013). Ao estudarem queijos oriundos de leite com elevadas contagens de CCS verificaram maiores índices de proteólise e lipólise, tendo sua qualidade afetada (Sánches-Marcías *et al.*, 2013). A contagem de micro-organismos também pode influenciar na qualidade do leite, como estudado por Fonseca *et al.* (2006) que comprovam alterações sensoriais em leites de cabra pasteurizado oriundo de leite cru com elevadas contagens de micro-organismos proteolíticos e lipolíticos.

Tendo visto isso e sabendo que na região da zona da mata mineira é frequente a estocagem prolongada de leite cru de cabra sob refrigeração, fica destacada a necessidade do diagnóstico de qualidade do leite desta região. Tornando, com os dados aqui obtidos, possível a correção de problemas bem como a valorização do esforço dos produtores em manter seu produto no mercado e dentro dos padrões de exigência do mesmo.

3.1.1. Composição do leite de cabra

Segundo Park e Haenlein, (2006) a composição média do leite de cabra é de 3,8% de gordura, 3,5% de proteína, 4,1% de lactose e 0,8% de cinzas. Os teores preconizados pela legislação brasileira (Brasil, 2000) para a composição do leite de cabra estão descritos na tabela 1, bem como os teores reportados por pesquisas feitas no Brasil e em outros países. Percebe-se que comumente estes valores não são encontrados em análises de rebanhos. Queiroga *et al.* (2007), ao avaliarem o leite produzido durante a lactação de cabras Saanen no nordeste brasileiro, encontraram valores inferiores quanto à proteína, ESD e lactose. Fatores como raça, condições climáticas, estágio de lactação e alimentação podem afetar a produção, composição e características físico-químicas do

leite de cabras (Queiroga *et al.*, 2007). Em 2013, Chávvari *et al.* estudaram a composição do leite de cabras Anglo Nubianas e encontraram valores que em sua maioria estão superiores aos limites legais.

Tabela 1: Comparação da composição do leite cru de cabra entre a legislação brasileira e a literatura científica

Componente	Park e Haenlein (2006)	RTIQ (Brasil, 2000)	Queiroga <i>et al.</i> (2007)	Chávvari <i>et al.</i> (2013)
Gordura (%)	3,8			4,13
Proteína (%)	3,5	Mín 2,8	2,7	3,36
Lactose (%)	4,1	Mín 4,3	4,1	4,28
ESD (%)		Min 8,2	7,99	8,55
Minerais (%)	0,8	0,7		
Índice Crioscópico (°H)		-0,550 a -0,585		
Densidade		1,028 a 1,034		
Acidez (°D)		0,13 a 0,18		

Em 2004 Gomes *et al.* estudaram a composição do leite de cabra a medida que a lactação avança e encontraram valores médios de 2,83% de proteína total, 4,10% de gordura, 12,7% de extrato seco total (EST) e 4,33% de lactose. No estado de Minas Gerais, Andrade *et al.* (2008) reportaram leite de cabra fresco refrigerado com 3,0% de proteína, 3,7% de gordura, 4,5 de lactose. Pereira (2016), estudando capris do estado do Rio de Janeiro encontrou 3,5% de gordura, 3,0 de proteína total, 8,24% de extrato seco desengordurado, acidez média de 13° Dornic. Em estudo feito em rebanhos do estado do Rio de Janeiro e Minas Gerais não foi comprovada a associação significativa entre presença de mastite em cabra e os parâmetros físico-químicos do leite (Almeida, 2013).

As proteínas do leite têm, principalmente, composição conjugada, ou seja, são combinadas com substâncias de caráter não proteico que conferem-lhe menor estabilidade (Bobbio e Bobbio, 1989). O perfil de proteínas presente no leite dos mamíferos é diverso, mas sempre subdividido em grandes grupos: caseínas, proteínas do soro e outros compostos nitrogenados.

As caseínas são fosfoproteínas intimamente ligadas ao cálcio. No leite encontram-se na forma de micelas e juntamente com os lipídeos são responsáveis pela coloração branca do leite (Bobbio e Bobbio, 1989). São subdivididas em α s1-caseína, α s2-caseína, β -caseína e k-caseína. Esta divisão é feita pela composição de aminoácidos, fosforilação e corrida em gel de eletroforese (Wong, 1999). As proteínas do soro láctico são assim classificadas pois permanecem diluídas após a coagulação das caseínas. Os tipos de proteínas que compõem este grupo são variados e separados de acordo com a composição de aminoácidos de cada uma. As β -lactoglobulinas, α -lactoglobulinas, albuminas séricas e imunoglobulinas são intituladas como proteínas do soro (Wong, 1999).

As proteínas do leite de diferentes espécies apresentam variações em seu perfil de aminoácidos, nível de fosforilação, extensão da glicosilação, tamanho da cadeia de polímeros e outras características. Cada alteração causa implicações na carga elétrica das proteínas, na formação das micelas de caseína, no equilíbrio entre cálcio e fósforo, no tempo de formação e firmeza do coalho e no rendimento do coalho. Esta diversidade pode advir de diferenças genéticas ou não e são denominadas heterogeneidade das proteínas (Piredda e Pirisi, 2005)

É essencial pontuar o polimorfismo genético das cabras para a produção de baixos níveis de α s1 e α s2 caseína, uma vez que estas proteínas são comumente correlacionadas à alergia ao leite de vaca em humanos (Chatchatee *et al.*, 2001). O perfil proteico do leite de cabra é diferenciado, tendo como principal componente a β -caseína. A β -caseína associada à elevada quantidade de cálcio presente no leite de cabra contribuem para a sua fácil digestão, pois geram a formação de coalhos mais fracos e fáceis de serem quebrados, e melhora a aceitação do mesmo por pessoas alérgicas ao leite bovino. A micela de caseína formada no leite de cabra possui mais cálcio e fósforo, o que reduz a solubilidade das caseínas centrais e torna fácil a perda da β -caseína (Jennes, 1980). A baixa estabilidade da micela de caseína do leite de cabra diminui o rendimento industrial de queijos (Lourenço Neto, 1998) e aproxima a caseína de enzimas proteolíticas presentes no leite caprino. O'Connor e Fox (1973), citados por Park *et al.* (2007) afirmaram que a solubilização da β -caseína do leite de cabra frente à refrigeração é ainda maior do que no leite de vaca.

A plasmina é a enzima proteolítica de origem intrínseca ao leite de maior importância para a proteólise (Le Roux *et al.* 2003). A concentração da plasmina está associada à contagem de células somáticas (Le Roux *et al.* 2003), portanto é de se esperar que elevadas contagens de células somáticas poderão alterar o índice de proteólise do leite (Santos *et al.* 2006). Outro fator importante para a proteólise do leite são as enzimas produzidas por micro-organismos proteolíticos. A literatura científica reporta os micro-organismos psicotróficos como os mais correlacionados com a caseinólise. Moreira *et al.* (2014) estudaram a contaminação do leite de vaca com micro-organismos psicotróficos durante a ordenha e reportaram que 11% dos isolados tinham atividade proteolítica. A proteólise do leite causa alterações de sabor, podendo ser desejável como na maturação de queijos ou indesejável como no leite UHT. A presença de proteases no leite UHT leva à geleificação, e remete à qualidade microbiológica do leite cru que, segundo Champagne *et al.* (1994), deve apresentar contagens mínimas de 10^6 UFC/mL de psicotróficos. Isto se dá, porque, as proteases microbianas são em sua maioria termorresistentes, e permanecem ativas após o tratamento térmico e por toda a vida de prateleira do produto (Samarzija *et al.*, 2012).

A k-caseína quando clivada por enzimas proteolíticas, divide-se em dois peptídeos: a para-k-caseína formada pelos aminoácidos 1 a 105 e o caseínomacropeptídeo (CMP), composto pelos aminoácidos 106 em diante (Park e Haenlein, 2006). Na produção do queijo ocorre esta clivagem e grande parte do CMP, por ser mais solúvel, é liberada no soro. No Brasil, o índice de CMP é utilizado para fiscalizar a fraude por adição de soro de queijo no leite fluido. A Instrução Normativa n° 69, de 13 de dezembro de 2006 institui que leites com índice de CMP superiores a 75mg/L não são próprios para o consumo humano. Porém não existe legislação que especifique limites para o CMP no leite de cabra, deixando a população e os produtores à mercê de incertezas acerca da qualidade do leite caprino.

A degradação natural do leite também gera a formação de CMP, e esta característica causa dúvidas quanto à segurança da detecção de fraude por adição de soro de queijo. Porém, a redução da qualidade do leite quando altos índices de CMP são detectados é inegável. Vilanoeva *et al.* (2014) avaliaram o índice de CMP em leite UHT armazenado por até 120 dias e concluíram que a metodologia para fiscalização de fraude só aplica-se em leites recentemente embalados. Fiedrich *et al.* (2010) detectaram altos índices de CMP em leite cru e em leite UHT armazenado sob refrigeração por mais de quatro dias.

É esperado que, quando em sua origem, o leite que tenha elevadas contagens de micro-organismos psicotróficos e mesófilos aeróbios, tenha também seu índice de CMP alto. Este índice tenderá a aumentar mesmo após o beneficiamento do leite, e o crescimento é mais acelerado em produtos

originados de leites ordenhados em condições de baixa higiene e de propriedades que mantêm o rebanho com índices de mastite clínica e/ou subclínica elevados.

Nas últimas décadas o estudo das propriedades funcionais do CMP e peptídeos derivados, assim como metodologias de isolamento e purificação têm sido abundantes na literatura (Thomä-Worringer *et al.*, 2006). Estes estudos envolvem CMP oriundos de leite de diversas espécies, sua aplicação em dietas (Fanaro e Vigi, 2002; Abd El-Salam, 1996), em tecnologia de fabricação de produtos lácteos (Martin-Diana *et al.*, 2004) e como prebiótico para micro-organismos (Janer *et al.*, 2004).

É perceptível que pesquisas acerca da fraude por adição de soro de queijo em leite fluido de vaca são abundantes na literatura, comprovando a alteração nutricional do leite fraudado e/ou a baixa qualidade do leite cru e comprometendo a produção de derivados lácteos. Portanto, é sabido que elevados índices de CMP no leite afetam o produtor, o industrial e o consumidor.

A estrutura do glóbulo de gordura no leite de cabra é menor quando comparada ao glóbulo de gordura do leite bovino, conferindo ao leite de cabra maior homogeneidade, difícil formação de creme e também facilitando a digestão do leite fluido de cabra (Chandan *et al.*, 1992). Possui maiores concentrações de ácidos graxos de cadeia curta e média, tendo os ácidos graxos capríco (C6:0), caprílico (C8:0) e cáprico (C10:0) como os responsáveis pelo *flavor* característico do leite de cabra e seus derivados. Costa *et al.* (2008), no estado da Paraíba, relataram médias de 1,28% de ácido capríco, 2,06% de ácido caprílico e 7,17% de ácido cáprico em cabras Moxotó alimentadas com diferentes proporções de silagem de maniçoba. Já Queiroga *et al.* (2007) estudaram o manejo do rebanho, higiene da ordenha e fases da lactação em cabras Saanen na Paraíba e reportaram médias de 3,65, 4,08 e 9,39% dos ácidos graxos capríco, caprílico e cáprico respectivamente. No mesmo trabalho, apenas a fase de lactação gerou diferença estatística na quantificação dos ácidos graxos citados.

A lipólise do leite acontece devido a ação de enzimas lipolíticas produzidas principalmente por micro-organismos psicotróficos, que quebram os triglicerídeos do leite e liberam ácidos graxos livres. Ao defeito causado pela lipólise do leite dá-se o nome de ranço. Segundo Messias *et al.* (2011), as lipases apresentam baixa atividade hidrolítica quando seus substratos estão em meio aquoso e aumentam gradativamente sua ação a medida que a concentração do substrato aumenta. Portanto, é de se esperar que produtos derivados do leite que apresentam maiores concentrações de gordura sejam mais susceptíveis à ação da lipase. Outra característica das lipases citada pelos autores é a resistência à elevação da temperatura. Adicionalmente a literatura científica permite perceber que muitas lipases têm sua ação máxima a temperaturas elevadas, outras apresentam melhores respostas em temperaturas reduzidas. É esperado que lipases oriundas de bactérias termofílicas mantenham-se ativas em elevadas temperaturas, bem como a resposta parecida para enzimas oriundas de colônias psicofílicas (Jhoseph *et al.*, 2008).

A lipoproteína lipase (LPL) é uma glicoproteína presente no plasma responsável pelo metabolismo dos triglicerídeos (Badaoui *et al.*, 2007). Ela também está presente no leite, e especialmente a LPL caprina tem maior afinidade pelos glóbulos de gordura e menor ligação à micela de caseína, isso faz com que o leite de cabra seja mais susceptível à lipólise espontânea quando comparado ao leite bovino (Chilliand *et al.*, 2003). A atividade da LPL caprina varia de acordo com a raça, os genótipos, a dieta e é menor no início e no final da lactação (Chilliand *et al.*, 2003). Silva *et al.* (2009) estudou a lipólise espontânea no leite de cabra e reportou diferença no teor de ácido graxo livre (AGL) no leite pasteurizado imediatamente após a ordenha e no leite que permaneceu vinte e quatro horas sob refrigeração antes do tratamento térmico. Ao estudar a

influência do genótipo para α 1-caseína e o período de lactação na lipólise espontânea do leite de cabra, Silva *et al.* (2009) não encontrou diferença estatística.

A quebra dos triglicerídeos altera características sensoriais do leite e seus derivados, podendo causar repúdio do consumidor. Como por exemplo, a hidrólise do ácido butírico, capríco e caprílico geram sabor forte e picante, enquanto a quebra do ácido cáprico gera sabor “de sabão” no leite (Chen *et al.*, 2003). Ao avaliar a lipólise do leite de cabra cru armazenado por até 6 dias e em seguida pasteurizado Fonseca (2006) comprovou o aumento da lipólise e o aparecimento de ranço em análise sensorial mesmo após o tratamento térmico. Moreira *et al.* (2014) estudaram a contaminação do leite de vaca durante a ordenha com micro-organismos lipolíticos e proteolíticos e perceberam que teteiras, tanque de resfriamento, tetos das vacas e mãos dos ordenadores são responsáveis. A higiene de ordenha foi apontada como fator determinante da diminuição da contaminação do leite por micro-organismos produtores de enzimas proteolíticas e lipolíticas. Em tanques coletivos de resfriamento de leite de vaca, no estado de Minas Gerais, encontrou-se 28% de psicrotróficos com atividade lipolítica e 34% produtores de proteases (Marques *et al.*, 2012).

3.1.2. Microbiota mesofílica e psicrotrófica no leite de cabra

Samarzija *et al.* (2012) dizem que a microbiota predominante mesofílica do leite recém ordenhado é substituída por micro-organismos psicrotróficos Gram positivo e negativo devido à refrigeração. Há correlação de 69% entre contagem de psicrotróficos e CBT (Cempírková *et al.*, 2002). Entre os psicrotróficos, as espécies predominantes são *Pseudomonas* sp., *Aeromonas* sp., *Bacillus* sp. e *Acinetobacter* sp. (Zacharov *et al.*, 2007). Estas espécies são conhecidas por produzirem enzimas proteolíticas e lipolíticas capazes de permanecer em atividade sob grande faixa de temperatura, inclusive superiores aos tradicionais binômios tempo/temperatura utilizados para tratamento térmico do leite. Em pesquisa feita com leite de vaca colônias dos gêneros *Pseudomonas* sp. e *Microbacter* sp. apresentaram destacada atividade proteolítica e lipolítica (Zacharov *et al.*, 2007).

Marques *et al.* (2012) estudaram psicrotróficos na superfície de tanques coletivos e encontraram médias de até $4,3 \times 10^8$ UFC/mL. Fonseca *et al.* (2006), em São Paulo, estudaram o leite de cabra cru armazenado por até seis dias sob refrigeração de 4 e 10°C. Reportaram contagens de $7,37 \times 10^8$, $2,53 \times 10^8$ e $3,69 \times 10^8$ UFC/ mL de micro-organismos psicrotróficos totais, lipolíticos e proteolíticos em leite armazenado a 4°C respectivamente (Fonseca *et al.*, 2006). Em estudo feito no Brasil para avaliar a presença de *Pseudomonas* sp. em leite de cabra foram encontradas contagens médias de $1,0 \times 10^4$ UFC/mL, em contagens a partir de $2,6 \times 10^3$ UFC/mL apresentavam atividade proteolítica (Scatamburlo *et al.*, 2015). Buffa *et al.* (2001) reportaram contagens de $7,0 \times 10^5$ UFC/mL de psicrotróficos e $8,1 \times 10^5$ UFC/ mL de contagem bacteriana total em leite fresco de cabra. Na região de Muriaé (MG), Yamazi *et al.* (2013) avaliaram o perfil microbiológico de 12 propriedades e reportaram uma na qual a contagem de mesófilos aeróbios passou de $5,7 \times 10^6$ UFC/mL. No mesmo estudo também foram reportadas contagem de psicrotróficos totais superiores a $1,0 \times 10^5$ e psicrotróficos proteolíticos de aproximadamente $2,1 \times 10^5$ (Yamazi *et al.*, 2013).

No sudeste brasileiro os Estados de Minas gerais e Rio de Janeiro são os mais importantes com relação à criação de caprinos leiteiros. Nesta região o leite produzido destina-se principalmente para a indústria de beneficiamento onde faz-se a pasteurização e a produção de leite UHT, leite em pó e queijos finos. A região sudeste não possui o maio rebanho caprino do país, mas responde por aproximadamente 21% da produção nacional (Borges, 2003). O tipo de criação mais comum na região sudeste é o intensivo, em apriscos com piso ripado e com raças especializadas (principalmente Saanen e Alpina).

Considerando que a região da Zona da Mata mineira é fortemente produtora de leite de cabra, e que boa parte deste tem sido comercializado cru para indústrias, é necessário que se reconheça a situação da qualidade microbiológica e físico-química desse leite. Especialmente na região de Santa Margarida, tradicionalmente cafeeira, e que atualmente tem na produção de caprinos leiteiros uma segunda alternativa de renda, sem grandes empregos de tecnologia, esse diagnóstico pode contribuir para a adoção de medidas corretivas que melhorem a qualidade e o aproveitamento do leite de cabra para a fabricação de derivados lácteos, ou até mesmo a lucratividade para o produtor rural, quando se pensa em pagamento diferenciado por sistema de bonificação.

Ponderando que a literatura que estuda a qualidade do leite de cabra no sudeste brasileiro estuda o leite fresco, a situação prática de armazenamento do leite cru por sete dias não é caracterizada. Esta realidade presente hoje no estado de Minas Gerais afeta a qualidade do leite comercializado e portanto deve ser considerada para ponderação da qualidade do leite caprino no sudeste brasileiro.

Este experimento objetiva proceder a contagem de micro-organismos mesófilos aeróbios, psicrotróficos totais, micro-organismos proteolíticos e lipolíticos, determinar a composição centesimal, acidez, densidade, índice de proteólise, lipólise e caseínomacropéptido no leite de cabra cru produzido e estocado sob refrigeração por 7 dias na mesorregião da Zona da Mata mineira. Bem como gerar dados atualizados acerca da qualidade do leite de cabra comercializado na já citada mesorregião.

3.2. MATERIAL E MÉTODOS

3.2.1. Amostragem

As amostras de leite cru de cabra foram coletadas em propriedades produtoras com sistema de criação em apriscos, com oferta de água à vontade e alimentação baseada em silagem de milho, capim picado e cana-de-açúcar. O concentrado fornecido é composto aproximadamente por 60% de milho, 40% de soja e 3% de composto mineral comercial. São realizadas quatro refeições diárias, sendo duas delas após as duas ordenhas. Todas as propriedades encontram-se no estado de Minas Gerais, e na mesorregião da Zona da Mata, nas microrregiões de Juiz de Fora e Manhuaçu (município de Santa Margarida) (Estado..., 2017). As propriedades apresentam situação comum de acúmulo do leite produzido diariamente por sete dias em seus respectivos tanques de expansão. Esta situação ocorre entre os fornecedores de leite de uma indústria de beneficiamento de leite caprino que tem esquema logístico de coleta semanal em caminhão graneleiro. A indústria exige acidez máxima de 18° Dornic (°D) para a coleta do leite e envia amostras regularmente para análise nos laboratórios da Rede Brasileira de Qualidade do Leite (RBQL), usando estes dados para pagamento diferencial com base na qualidade do leite.

Coletaram-se quatorze amostras de leite cru de cabra acondicionado por sete dias em tanque de expansão de quatorze diferentes propriedades. Do total de amostras coletadas, 10 propriedades encontram-se no município de Santa Margarida e 4 no município de Juiz de Fora. As análises foram feitas entre junho e setembro de 2016. A coleta foi realizada com o auxílio de uma concha higienizada, enchendo frascos previamente esterilizados de 500 mL. Os frascos foram fechados imediatamente após a coleta e mantidos sob refrigeração até chegarem nas dependências do DTIPOA – EV/UFMG. As análises aconteceram imediatamente após a chegada das amostras no laboratório supracitado.

3.2.2. Análises microbiológicas

As amostras foram homogeneizadas e uma alíquota de 25 mL foi transferida para um frasco contendo 225 mL de salina peptonada 0,1% estéril, originando a primeira diluição decimal. Seguiram-se as diluições seriadas em tubos contendo 9 mL de salina peptonada 0,1% (Brasil, 2003). Procedeu-se a contagem de micro-organismos mesófilos aeróbios, psicrotróficos totais, micro-organismos proteolíticos e micro-organismos lipolíticos de acordo com o Anexo IV da Instrução Normativa número 62, de 26 de agosto de 2003 (Brasil, 2003).

3.2.2.1. Contagem de micro-organismos mesófilos aeróbios

A contagem de micro-organismos mesófilos aeróbios seguiu a Instrução Normativa número 62, de 26 de agosto de 2003. Alíquotas de um mililitro das diluições 10⁻¹, 10⁻², 10⁻³, 10⁻⁴, 10⁻⁵ e 10⁻⁶ foram espalhadas em placas de petri estéreis e cerca de 15 a 20 mL de Plate Count Ágar (PCA) fundido e mantido em banho-maria a 46°C foi vertido em cada placa. As placas foram homogeneizadas e mantidas em superfície plana para que o ágar solidificasse. A incubação foi por 48 horas a 36°C, com as placas invertidas.

3.2.2.2. Contagem de micro-organismos psicrotróficos totais, micro-organismos proteolíticos e lipolíticos

A contagem de micro-organismos psicrotróficos totais seguiu a Portaria número 101, de 11 de agosto de 1993 do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) (Brasil, 1993). As diluições utilizadas foram 10⁻³, 10⁻⁴, 10⁻⁵ e 10⁻⁶.

Aliquotas de 0,1 mL das diluições 10⁻², 10⁻³, 10⁻⁴, 10⁻⁵ e 10⁻⁶ foram semeadas 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 de micro-organismos lipolíticos foi feita em ágar Tributirina (*Merck*) adicionado de 1% (v/v) de azeite de oliva extra virgem (*Galo*), por técnica de *spread-plate*. Nesta análise alíquotas das diluições 10⁻¹, 10⁻², 10⁻³, 10⁻⁴ e 10⁻⁵ foram espalhadas na superfície do ágar com o auxílio de alças de Drigalski até a completa absorção, 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).

3.2.2.3. Contagem Bacteriana Total

A contagem Bacteriana total foi realizada por equipamento eletrônico IBC BactoCount IBC (*Bentley Instruments Incorporated*®, Chaska, Minnesota, Estados Unidos) (Bentley..., 2002), pertencente ao LabUFMG. A amostra foi conservada com azidiol em frasco estéril e sob refrigeração até o momento da análise.

3.2.3. Análises físico-químicas

As análises físico-químicas foram realizadas em triplicata, com exceção da técnica cromatográfica. O índice de caseínomacropéptideo foi determinado por separação físico-química em sistema de CLAE, realizado em cromatógrafo Shimadzu Class 6.1, equipado com coluna de separação em gel Zorbax GF 250 (*Agilent*). Metodologia esta que é determinada pela Instrução

Normativa nº 68 de 12 de dezembro de 2006 (Brasil, 2006). A mesma instrução normativa regeu as metodologias de determinação da acidez titulável, proteína total, densidade a 15 °C e índice crioscópico (Brasil, 2006).

3.2.3.1. Composição centesimal e Contagem de Células Somáticas

Alíquotas de 50 ml de leite de cada propriedade foram acondicionadas em frascos com conservante Bronopol® e foram encaminhadas para o LabUFMG para determinação de teores percentuais de gordura, lactose, estrato seco total e estrato seco desengordurado por equipamento eletrônico CombiScope™ (Delta Instruments) pela metodologia de absorção do comprimento de onda na região do infravermelho (International..., 2000). E no mesmo equipamento, utilizando a metodologia de citometria de fluxo, foi determinada a contagem de células somáticas do leite de cabra (International..., 1995). Os equipamentos supracitados foram calibrados com padrões de leite bovino.

3.2.3.2. Índice de proteólise do leite cru de cabra

O teor de proteólise do leite de cabra foi quantificado por meio do índice caseína: proteína verdadeira obtido pelo método de Kjeldal (AOAC, 2012). Todas as metodologias da Association of Official Agricultural Chemists (AOAC) foram adaptadas para micro-kjeldahl.

A quantificação do nitrogênio caseinoso no leite de cabra foi obtida pela metodologia indireta número 998.07 da 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). As equações utilizadas para determinação da proteólise no leite foram:

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

O nitrogênio não proteico foi obtido através da coagulação das proteínas do leite com solução recém preparada de ácido tricloroacético (15% m/v). A solução foi filtrada e 10 mL do filtrado foram pesados em tubo de Kjeldahl. Posteriormente o processo de digestão e destilação de micro-kjeldahl foram feitos (AOAC, 2012). A metodologia número 998.05 da AOAC (2012) determina que a caseína do leite deve ser coagulada pela redução do pH com solução de ácido acético (10% v/v) e acetato de sódio (1 Molar). A caseína precipitada é retirada por filtração e o filtrado (10 mL) é o nitrogênio não caseinoso, que deve seguir para digestão e destilação.

3.2.3.3. Lipólise no leite cru de cabra

Deeth *et al.* (1975) desenvolveram a metodologia para a determinação da lipólise no leite através da titulação dos ácidos graxos livres nele presentes. Em um tubo de ensaio 3 mL do leite foram 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. Em seguida a amostra foi agitada e ficou em repouso por 5 minutos. O sobrenadante foi retirado com o auxílio de uma pipeta e seu volume anotado. Em um erlenmeyer adicionaram-se o 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 é dado em μ equivalente/mL de leite e calculado pela seguinte equação:

AGL (μ equiv./ mL) = (T*N/ P *V) *1000

Onde:

T = volume titulado

N= normalidade da solução da metanólica de KOH

P = volume do sobrenadante retirado

V = volume da amostra de leite

3.2.4. Análise estatística

O Microsoft Office Excel 2016® foi utilizado para análise estatística descritiva aplicada neste estudo.

3.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados de acidez, gordura, lactose, EST, ESD, crioscopia AGL e CCS obtidos no experimento estão descritos na tabela 1. Quando comparados ao RTIQ do leite de cabra observa-se que os valores de acidez, densidade e crioscopia, mantiveram-se dentro da faixa de expectativa, porém os teores de lactose e ESD encontrados foram menores que o mínimo aceito pela legislação.

Tabela 2. Média, desvio padrão, coeficiente de variação, valores máximo e mínimo de parâmetros físico-químicos do leite de cabra cru estocado por sete dias em tanques de expansão e valores de referência do RTIQ de leite de cabra

Análise	Média	Desvio Padrão	C. V.	Valor Máximo	Valor Mínimo	RTIQ
Acidez (°D)	16,55	4,25	25,67	30,5	12,9	13,0 a 18,0
Gordura (g/100g)	3,72	0,50	13,52	4,7	2,8	-
Lactose (g/100g)	4,1	0,26	6,41	4,45	3,39	Mín. 4,3
Sólidos (g/100g)	11,65	0,77	6,64	12,81	10,24	-
ESD (g/100g)	7,9	0,42	5,30	8,33	6,80	Mín. 8,2
Densidade	1,030	0,00067	0,065	1,031	1,029	1,028 a 1,034
Crioscopia (°H)	-0,570	0,047	8,33	-0,446	-0,659	-0,550 a -0,585
AGL (µequiv./mL)	2,19	0,57	26,22	3,66	1,57	-
CCS (x 1000)	1040	520	50,02	1794,0	389,0	-

Silva (2009) também reportou valores (7,82%) inferiores à legislação para ESD. Em Minas Gerais, Andrade (2000) e Feijó (2003) reportaram valores de ESD de 7,9 e 7,8 % respectivamente. Teores inferiores à legislação e similares aos aqui reportados. Ainda no sudeste brasileiro, Silva (1996) reportou ESD de 8,69% em leite de cabras, e Gomes *et al.* (2004), Andrade *et al.*, (2008) e Pereira (2016) reportaram teores de ESD em leite de cabra cru superiores ao mínimo exigido pela legislação (Brasil, 2000). Em estudo feito na Noruega com animais alimentados por concentrado e com trinta dias de lactação a média de lactose encontrada foi de 4,91 (g/100g) (Inglingstad *et al.*, 2016). Leitner *et al.* (2016) estudaram o leite de tanque de 231 propriedades produtoras de leite de cabra em Israel e também reportaram valores elevados de lactose. Na Itália, Nudda *et al* (2013) encontraram valores médios de 4,29% de lactose no leite de rebanho Saanen. No nordeste brasileiro estudos feitos com cabras Moxotó suplementadas com silagem de maniçoba, Saanen e Alpinas apresentaram valores de 4,66, 4,85 e 5,02 % de lactose (Costa *et al.*, 2008; Costa *et al.*, 2014). Keskin *et al.* (2004) reportaram média de 3,6% de lactose na Turquia e

Tabet *et al.* (2016) citaram valores de 4,05% em cabras da raça Baldi em sistema de pastoreio no Líbano. A grande variação de resultados observada na literatura permite questionar o limite imposto pela legislação brasileira, uma vez que a raça pode influenciar na produção de lactose em caprinos. Fatores genéticos também não podem ser descartados, uma vez que é esperado que animais de uma mesma região apresentem certo grau de parentesco e consequentemente os genes associados a produção de leite sejam semelhantes entre a maioria dos animais. Outro fator que pode ser responsável pela variação nos resultados é a metodologia de quantificação utilizada. As metodologias usadas por Costa *et al.* (2008), Costa *et al.* (2014), Kerskin *et al.* (2004) e Tabet *et al.* (2016) foram diferentes das aplicadas neste experimento.

Em todas as análises realizadas neste experimento o coeficiente de variação e os desvios padrão foram maiores do que o comumente reportado em pesquisas científicas. Isso Sugere que o leite da mesorregião da zona da mata mineira é heterogêneo. As propriedades têm manejo de criação e higiene de ordenha muito diferentes entre si e apesar de compartilharem o perfil geográfico, verificam-se divergências profundas na administração diária dos capris. Estas divergências estão sendo retratadas neste diagnóstico da qualidade do leite desta região.

O teor de gordura encontrado está de acordo com Costa *et al.* (2008) e Costa *et al.* (2014). Porém inferiores a estudos feitos por Tabet *et al.* (2016), Keskin *et al.* (2013) e Leitner *et al.* (2016). Em estudo feito na Malásia foram reportados baixíssimos (2,54% e 6,43%) valores de gordura e sólidos (Lai *et al.*, 2016). Silva (2009) reportou média de 3,01% de gordura em leite de cabras Saanen no sul do Brasil, assim como Nudda *et al.* (2013) também publicaram valores inferiores aos reportados por este experimento. O teor de gordura é um fator associado ao pagamento por qualidade e o produtor visa sempre aumentar este índice, porém a alimentação deve estar balanceada, fator não observado em algumas propriedades. A diferença entre os teores de gordura encontrados nos trabalhos brasileiros e estrangeiros é principalmente associada à alimentação, que no Brasil por possuir forrageiras tropicais, de baixa qualidade nutricional e consequentemente baixa conversão em gordura do leite.

Outro fator que influencia no teor de gordura é a raça, este fator é tão importante que é contemplado na legislação ao delimitar o teor aceitável de gordura no leite de cabra (Brasil, 2000). Como na região em que o leite foi coletado as raças mais comuns são Saanen e Alpina ou cruzamento entre estas duas raças, observa-se que o teor de gordura reportado na tabela 1 é condizente com outros estudos feitos no Brasil e compreendendo estas duas raças, 3,7 % encontrado por Andrade *et al.* (2008) e 3,5% reportado por Pereira (2016). É importante lembrar que na região onde a coleta das amostras foi realizada a indústria delimita cotas de coleta, estabelecendo volumes máximos a serem comprados de cada produtor. A cota é delineada com base na produção do ano anterior e no limite econômico que a indústria delimitou. O pagamento do leite por qualidade é, neste caso, importantíssimo para o produtor, pois a cota limita sua produção e a única saída de aumentar a renda é melhorar a qualidade do leite. Porém observa-se um paradoxo onde o produtor deve melhorar a qualidade para aumentar sua renda, porém a indústria só coleta o leite de sete em sete dias o que prejudica a qualidade do leite e reduz o pagamento por qualidade.

Em associação aos teores de gordura é interessante ressaltar a média de ácido graxo livre, que neste experimento foi alta quando comparada a Fonseca (2006) que estudou leite de cabra *in natura* armazenado por até seis dias a 4°C e encontrou 1,59 meq./L. No mesmo estudo a análise sensorial do leite demonstrou significativo sabor de ranço. A ressaltada lipólise é concomitante com a presença de micro-organismos lipolíticos em contagens pronunciadas, como pode ser visto na tabela 3. Provavelmente a lipase produzida por estes micro-organismos estará ativa no leite até

que ele seja consumido. E em caso de industrialização para a elaboração de produtos ricos em gordura, como a manteiga, por exemplo, a percepção de alterações sensoriais pode ser ainda mais destacada. A lipólise ainda pode ser advinda da ação das enzimas endógenas que são mais ativas no leite de cabra, e como comprovado por Silva *et al.* (2009) causam alteração no leite resfriado por 24 horas. A lipólise em leite de cabra pode ser ainda mais prejudicial ao produtor e à indústria, pois este leite já é pejorativamente associado ao sabor “de sebo”, gosto forte, ou gosto de cabra pelos consumidores. O sabor característico do leite de cabra é devido aos ácidos graxos livres de cadeia curta e média que naturalmente o compõem em maiores concentrações, e a lipólise pode acentuar este sabor. A lipólise pode também acrescentar o sabor de ranço ao leite de cabra e fazer com que o consumidor confunda o *flavor* natural do leite de cabra com o ranço. Portanto os elevados teores de AGL no leite de cabra traz prejuízo, aos produtores, indústria e consumidores.

A acidez normal do leite de cabra recém ordenhado é de 12 a 14° Dornic (Park e Haelein, 2006). Era de se esperar que o leite sem tratamento térmico por sete dias tivesse maior produção de ácido láctico, porém a acidez relatada não pode ser considerada elevada. Isso pode ter ocorrido devido à baixa temperatura em que o leite foi mantido desde a ordenha. A refrigeração pode ter retardado a fermentação da lactose e, conseqüente, produção de ácido láctico. Outro fator a ser considerado para o leite de cabra é a presença de elevadas quantidades de ácido graxo de cadeia curta e média, bem como a maior homogeneidade da gordura. Estas características podem afetar o desenvolvimento de bactérias ácido lácticas e assim preservar o desenvolvimento da acidez do leite. Acidez semelhante foi descrita por Keskin *et al.* (2004), Costa *et al.* (2014) e Fonseca (2006) que também reportaram a manutenção de acidez dentro dos limites propostos na legislação em leite de cabra cru armazenado por até seis dias em condições laboratoriais. Este resultado sugere que ao avaliar a acidez do leite de cabra cru como requisito para coleta pela indústria, a probabilidade de o leite ser aceito é grande. Porém deve-se considerar que este não é o único fator que garante a qualidade do leite.

Apesar de a média do índice crioscópico ter permanecido dentro dos valores legais, foram observadas situações em que o valor aproximou-se do 0, sugerindo fraude por adição de água. Valores inferiores ao limite mínimo aceito pela legislação também foram detectados e neste caso a fraude por adição de sólidos ou a dupla fraude podem ser citadas. Em 1998, Prata *et al.* encontraram média de $-0,574^{\circ}\text{H}$, $-0,551^{\circ}\text{H}$ foi a média encontrada por Janstová e associados (2007) e valores de $-0,554^{\circ}\text{H}$ e $-0,551^{\circ}\text{H}$ foram publicados (Hanus *et al.*, 2009; Palomba *et al.*, 2017). Pádua (2013) ao estudar a produção de leite de cabra na região centro-oeste do Brasil reportou média de $-0,558^{\circ}\text{H}$ em amostras de leite de conjunto. No sudeste do Brasil índices crioscópicos de $-0,564$, $-0,553$ e $-0,571$ foram reportados por Feijó (2003). Andrade *et al.*, (2008) e Almeida (2013).

Tabela 3. Média, desvio padrão, coeficiente de variação e valores máximo e mínimo do perfil proteico, índice de caseínomacropéptido e índice de proteólise do leite de cabra cru estocado por sete dias em tanques de expansão

Análise	Média	Desvio Padrão	C. V.	Valor Máximo	Valor Mínimo
Proteína total (%)	3,33	0,55	16,45	4,3	2,29
Caseína (%)	2,33	0,59	25,36	3,52	1,42
NNP (%)	0,039	0,009	23,95	0,054	0,018
Proteólise	0,769	0,11	14,84	0,870	0,466
CMP ($\mu\text{g/L}$)	53,10	31,45	59,22	134,90	22,63

A média de proteína total presente no leite de cabra cru estocado por sete dias foi de 3,33% (Tabela 2), muito superior ao mínimo exigido pela legislação. Porém deve-se frisar a existência de amostras com valores inferiores ao legislado (0,6% a menos). A média reportada neste experimento é condizente com a literatura (Keskin *et al.*, 2004; Costa *et al.*, 2014; Inglingstad *et al.*, 2016). A literatura também reporta valores inferiores, como 2,31, 2,7 e 2,91% citados por Lai *et al.* (2016), Queiroga *et al.* (2007) e Nudda *et al.* (2013) respectivamente. Também há citação de teores mais elevados de proteína total (Costa *et al.*, 2008; Leitner *et al.*, 2016; Tabet *et al.*, 2016). Quando comparados os coeficientes de variação obtidos neste experimento e nas pesquisas citadas acima, é perceptível a diferença. O coeficiente de variação deste experimento é elevado e justifica-se pela grande amplitude entre os valores máximo e mínimo observados, ficando explícito a dessemelhança entre as propriedades que participaram do experimento.

O teor normal de caseína no leite de cabra é de 2,33 a 2,38% (Díaz-Carrillo *et al.*, 1993; Mens *et al.*, 1991). Segundo Inglingstad *et al.* (2016) o conteúdo médio de caseína e NNP em cabras norueguesas é de 2,54 e 0,049%. Porcentagens mais elevadas que as encontradas no presente experimento, porém deve-se considerar que o referido autor estudou leite fresco. É esperado que o conteúdo de caseína reduza à medida que o leite decompõe, uma vez que, por ser a proteína de maior abundância no leite é também a mais atingida pelas enzimas proteolíticas presentes. A quebra da caseína gera duas principais macromoléculas a para- κ -caseína e o caseínomacropeptídeo. Não existe na literatura científica acerca do leite de cabra um valor de CMP que determine em qual momento o leite de cabra deve ser rejeitado para o consumo humano. Portanto em comparação com a legislação brasileira para índice de CMP de leite de vaca o valor médio obtido neste experimento é aceitável apenas para produção de derivados lácteos, mas não para o abastecimento direto (Brasil, 2006). Porém a variação entre as amostras foi grande tendo três situações em que se enquadravam apenas para alimentação animal (índice superior a 75 mg/L). No caso do leite de cabra ainda cabe o questionamento sobre possíveis fraudes com adição de soro de leite de vaca para aumentar o volume. Até onde o índice detectado pode representar degradação, ou fraude, é debate mesmo para pesquisas em leite de vaca.

Silva-Hernández *et al.* (2002), em estudo sobre o CMP do soro de leite de cabra reportaram 79 μ g/L de CMP em soro oriundo de leite fresco. A possibilidade de o leite de cabra apresentar valores normais de CMP mais elevados que o leite de vaca é grande. Isso porque o leite de cabra tem micela de caseína menor e mais frágil, portanto mais susceptível à ação de enzimas proteolíticas dispersas no leite.

O índice de proteólise é um indicativo da qualidade do leite de cabra armazenado por sete dias e pode também sugerir a perda de rendimento de queijos que possam ser feitos com este leite. O valor médio obtido foi de 0,76, valor este que, quanto maior, significa menos proteólise do leite, por se tratar da relação caseína: proteína verdadeira do leite. Em estudo sobre o armazenamento do leite de cabra *in natura* reportou-se índice de proteólise de 0,85 com cinco dias de armazenamento (Fonseca, 2010). É perceptível a diferença nos índices de proteólise encontrados na mesorregião da zona da mata mineira quando comparado ao experimento de Fonseca (2010). Porém é importante ressaltar que o estudo conduzido pelo citado autor foi sob condições laboratoriais onde alterações de temperatura e a adição de leite recém ordenhado não existiam. Ainda é digno de observação que o leite estudado neste experimento provavelmente será encaminhado à indústria e dará origem a derivados lácteos, que possivelmente terão sabor alterado, menor rendimento, e prejuízo financeiro para a indústria.

No leite de vaca, a proteólise apresentou-se mais acentuada quando possuía alta contagem de células somáticas, comparado com o leite com baixa CCS (Santos *et al.*, 2006). Na mesma

pesquisa a microfiltração para a retirada de células somáticas não reduziu a proteólise. Ainda em leite de vaca, já foi relatada diferença estatística na proteólise de leites com CCS na grandeza de 10^4 para 10^6 (LeRoux *et al.*, 2003). Sanches-Marcías *et al.* (2013) estudaram a proteólise e lipólise de queijos de cabra feitos com leite cru e pasteurizado de baixa, média e alta contagem de células somáticas e concluíram que a qualidade dos queijos feitos a partir de leite com elevada contagem de células somáticas é afetada. Concluíram também que a proteólise afeta porções diferentes da caseína de acordo com o tratamento prévio aplicado ao leite e a lipólise é dependente da CCS. A contagem de células somáticas média no presente experimento foi de $1,04 \times 10^6$, que para leite de cabra é aceitável, segundo o valor máximo aceito pelo FDA, que é de $1,0 \times 10^6$.

Tabela 4. Contagem de micro-organismos mesófilos aeróbios, proteolíticos, lipolíticos, psicrotróficos totais e CBT em leite de cabra cru estocado por sete dias em tanque de expansão.

Análise	Mediana	Desvio Padrão	C. V.	Valor Máximo	Valor Mínimo
CBT (UFC/mL)	$2,57 \times 10^6$	1148114,6	47,31	$4,0 \times 10^6$	$4,0 \times 10^4$
Mesófilos aeróbios	$1,2 \times 10^7$	69973893,38	175,19	$2,5 \times 10^8$	$2,5 \times 10^4$
Micro-organismos proteolíticos (UFC/mL)	$2,5 \times 10^6$	16940600,0	124,59	$5,7 \times 10^7$	$1,95 \times 10^5$
Micro-organismos lipolíticos (UFC/mL)	$6,5 \times 10^5$	73721238,21	338,54	$2,67 \times 10^8$	$1,0 \times 10^2$
Psicrotróficos totais (UFC/mL)	$2,9 \times 10^7$	1702970049,0	225,51	$6,6 \times 10^7$	$2,5 \times 10^5$

As contagens de micro-organismos apresentadas na tabela 3 são preocupantes. Foram observadas contagens bacterianas totais que superam o limite máximo de $5,0 \times 10^5$ UFC/mL (92,85 %) determinado pelo RTIQ de leite de cabra (Brasil, 2000). A contagem de mesófilos aeróbios mantém-se elevada mesmo com a refrigeração do leite sendo utilizada. Os valores de mesófilos aeróbios superam os reportados por Fonseca (2006), Pádua (2013) e Fonseca (2010). Chambers (2002) afirmou que contagens de micro-organismos mesófilos aeróbios superiores a 10^5 UFC/mL indicam problemas higiênicos na obtenção, conservação e transporte do leite. A precariedade de ações de higiene durante a ordenha foi um fator observado em algumas propriedades, justificando as contagens obtidas. É interessante ressaltar a disparidade entre os valores máximo e mínimo na contagem de mesófilos aeróbios. Esta amplitude retrata a heterogeneidade dos cuidados de higiene de ordenha observados na mesorregião da Zona da Mata mineira.

Champagne *et al.* (1994) afirmam que contagens de psicrotróficos totais superiores a 10^6 UFC/mL já são passíveis de causar defeitos em leite pasteurizado e UHT. As contagens de *micro-organismos* lipolíticos e proteolíticos encontradas na região da Zona da Mata mineira superam este limite. A contagem de micro-organismos proteolíticos aqui reportada é superior à encontrada por Fonseca (2010), porém Fonseca *et al.* (2006) reportaram contagens superiores, bem como comprovaram alterações sensoriais. A contagem de psicrotróficos totais foi superior à publicada por Pádua (2013), assim como as contagens de micro-organismos lipolíticos e psicrotróficos totais também foram maiores que as relatadas por Fonseca (2010), sendo inferiores às citadas por Fonseca (2006). Portanto, é lógico supor que a qualidade microbiológica do leite estocado por sete dias sem tratamento térmico é ruim, bem como este leite provavelmente irá gerar produtos de igual desqualificação.

3.4. CONCLUSÕES

Apesar de o leite de cabra cru estocado por sete dias nas propriedades adequar-se quanto maioria dos índices físico-químicos estabelecidos pela legislação e à literatura, são perceptíveis a baixa qualidade microbiológica e os elevados índices de lipólise e proteólise nos leites estudados. O leite estudado apresenta baixa qualidade e por consequência gerará derivados de duvidosa qualidade e sabor.

Das propriedades estudadas, 57,14% não se adequaram à legislação quanto ao teor de lactose, 71,42% não se adequaram quanto ao teor de ESD e 92,85% tinham CBT superior ao limite máximo aceito. Desta forma fica eminente o prejuízo para a indústria e para o consumidor quando há a prática de estocagem do leite cru por longos períodos.

3.5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABD EL-SALAM, M.H., ELSHIBINY, S., BUCHHEIM, W. Characteristics and potential uses of the casein macropeptide. *International Dairy Journal*. v. 6, p. 327–341. 1996.

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

ALMEIDA, J. F.; AQUINO, M. H. C., MAGALHÃES, H. *et al.* Principais alterações no leite por agentes causadores de mastite no rebanho caprino dos estados de Minas Gerais e Rio de Janeiro. *Arquivos do Instituto Biológico*, v. 80, n. 1, p. 13-18, 2013.

ANDRADE, P. V. D.; *Influência de processamentos térmicos sobre as características físico-químicas e microbiológicas do leite de cabra, avaliado por diferentes métodos*. 2000. 70 f. Dissertação (mestrado). Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2000.

ANDRADE, P. V. D.; SOUZA, M. R., PENNA, C.F.A.M. *et al.* Características microbiológicas e físico-químicas do leite de cabra submetido à pasteurização lenta pós-embalagem e ao congelamento. *Ciência Rural*, v. 38, n. 5, 2008.

BADAoui, B.; SERRADILLA, J. M.; TOMAS, A.; *et al.* Short communication: identification of two polymorphisms in the goat lipoprotein lipase gene and their association with milk production traits. *Journal of Dairy Science*, v. 90, n. 6, p. 3012-3017, 2007.

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 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 2006*. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 15 dez. 2006b, Seção 1, Página 67, 2006b.

BOBBIO, F. O; BOBBIO, P.A. *Introdução à química de alimentos*. 1. ed. São Paulo: Varela, 1989. 225p.

Borges C.H.P. Custos de produção do leite de cabra na região sudeste do Brasil. 2006. Disponível em: <<http://www.farmpoint.com.br/radares-tecnicos/gerenciamento/custos-de-producao-do-leite-de-cabra-na-regiao-sudestedo-brasil-5n.aspx>>. Acesso em: Janeiro 2017.

BUFFA, M.; GUAMIS, B., ROYO, C., *et al.* Microbiological changes throughout ripening of goat cheese made from raw, pasteurized and high-pressure-treated milk. *Food Microbiology*, v. 18, n. 1, p. 45-51, 2001.

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.

COSTA, R. G., MESQUITA, I. V. U., QUEIROGA, R. C. R. E., MEDEIROS, N. A *et al.* Características químicas e sensoriais do leite de cabras Moxotó alimentadas com silagem de maniçoba. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 37, n. 4, p. 694-702, 2008.

COSTA, W. K. A.; SOUZA, E. L., BELTRAO-FILHO, E. M *et al.* Comparative protein composition analysis of goat milk produced by the Alpine and Saanen breeds in northeastern Brazil and related antibacterial activities. *PloS one*, v. 9, n. 3, p. e93361, 2014.

CHAMBERS, J. V. The microbiology of raw milk. em: ROBINSON, R. K. (Ed.). *Dairy Microbiology Handbook*. New York: Wiley-Interscience, p. 39-90,2002.

CHAMPAGNE, C. P.; LAING, R. R.; ROY, D. *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.

CHANDAN, R.C., ATTAIE, R., SHAHANI, K.M. 1992. Nutritional aspects of goat milk and its products. *Proc. V. Intl. Conf. Goats*. New Delhi, India. Vol. II: Part II., p. 399.

CHATCHATEE, P.; JÄRVINEN, K. M., BARDINA, L., *et al.* Identification of IgE-and IgG-binding epitopes on α s1-casein: differences in patients with persistent and transient cow's milk allergy. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, v. 107, n. 2, p. 379-383, 2001

CHEN, L.; DANIEL, R.M.; COOLBEAR, T. Detection and impact of protease and lipase activities in milk and milk powders. *International Dairy Journal*, v.13, p.255-275, 2003.

- CHILLIARD, Y.; FERLAY, A.; ROUEL, J., *et al.* A review of nutritional and physiological factors affecting goat milk lipid synthesis and lipolysis. *Journal of Dairy Science*, v. 86, n. 5, p. 1751-1770, 2003.
- 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.
- DÍAZ-CARRILLO, E.; MUNOZ-SERRANO, A., ALONSO-MORAGA, A. *et al.* Near infrared calibrations for goat's milk components: protein, total casein, α -, β -and k-caseins, fat and lactose. *Journal of Near Infrared Spectroscopy*, v. 1, p. 141-146, 1993.
- ESTADO de Minas Gerais – Mesorregiões do IBGE, 2016. Disponível em: <<https://www.mg.gov.br/governomg/portal/c/governomg/conheca-minas/geografia/5669-localizacao-geografica/69547-mesorregioes-e-microrregioes-ibge/5146/5044>>. Acesso em: 03 de janeiro de 2017.
- FANARO, S.; VIGI, V. Protein quality and quantity in infant formulas. A critical look. *Minerva Pediatrica*, v. 54, n. 3, p. 203-209, 2002.
- FDA, Food and Drug Administration. 2015. Disponível em: <<http://www.fda.gov/Food/GuidanceRegulation/GuidanceDocumentsRegulatoryInformation/Milk/ucm063876.htm>> Acesso, em: 05 de janeiro de 2017.
- FEIJÓ L. D. *Influência da dieta na produção, na composição e nas propriedades físico-químicas do leite de cabra*. 2003. 55 f. Dissertação (mestrado). Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2003.
- FRIEDRICH, M. T.; FRANKEN, R. B. C.; AZEVEDO, M. S. *et al.* Avaliação da estabilidade do leite in natura e UHT quanto ao índice de CMP. *Revista Ciências Exatas Aplicadas e Tecnológicas da Universidade de Passo Fundo*, vol.2, nº 1, p. 21-27, 2010.
- 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 períodos1. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 26, n. 4, p. 944-949, 2006.
- DA FONSECA, C. R. *Armazenamento do leite de cabra cru em diferentes temperaturas por diferentes períodos e influência nas qualidades microbiológica, físico-química e sensorial do produto pasteurizado*. 2006. 87 p. Dissertação (Ciência e tecnologia de Alimentos). Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz, Piracicaba, 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.
- FONSECA, C. R.; BORDIN, K.; NEEFF, D. V.; OLIVEIRA, C. A. F. Effect of Raw Goat Milk Storage Time at 4 C on Goat Milk Powder Quality. *Bulletin of the International Dairy Federation*, n. 1201, p. 70, 2012.
- GOMES, V.; DELLA LIBERA, A. M. M. P., MADUREIRA, K. M., *et al.* Influência do estágio de lactação na composição do leite de cabras (*Capra hircus*). *Brazilian Journal of Veterinary Rresearch and Animal Science*, v. 41, n. 5, p. 339-342, 2004.

- HANUŠ, O.; GENČURCOVÁ, V., KUCERA, J. *et al.* Analyse of relationships between freezing point and selected indicators of udder health state among cow, goat and sheep milk. *Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis*, v. 57, n. 5, p. 103-110, 2014.
- INGLINGSTAD, R. A.; EKANÆS, 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.
- JANER, C. PELÁEZ; C., REQUENA, T. Caseinomacropéptide and whey protein concentrate enhance *Bifidobacterium lactis* growth in milk. *Food Chemistry*, v. 86, n. 2, p. 263-267, 2004.
- JANŠTOVÁ, B.; DRACKOVÁ, M., NAVRÁTILOVÁ, P. *et al.* Freezing point of raw and heat-treated goat milk. *Czech Journal of Animal Science*, v. 52, n. 11, p. 394-398, 2007.
- JENNES, R. Composition and characteristics of goat milk: review. *Journal of Dairy Science*, v.63, n. 10, p. 1605 – 1630, 1980.
- JOSEPH, B.; RAMTEKE, P. W.; THOMAS, G. Cold active microbial lipases: Some hot issues and recent developments. *Biotechnology Advances*, New York, v. 26, p. 457-470, 2008.
- KESKIN, M.; AVŞAR, Y. K., BiÇER, O. *et al.* A comparative study on the milk yield and milk composition of two different goat genotypes under the climate of the Eastern Mediterranean. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, v. 28, n. 3, p. 531-536, 2004.
- LAI, C. Y.; FATIMAH, A. B.; MAHYUDIN, N. A *et al.* Physico-chemical and microbiological qualities of locally produced raw goat milk. *International Food Research Journal*, v. 23, n. 2, 2016.
- LE ROUX, Y.; LAURENT, F.; MOUSSAOUI, F. Polymorphonuclear proteolytic activity and milk composition change. *Veterinary Research*, v. 34, n. 5, p. 629-645, 2003.
- LEITNER, G.; LAVON, Y., MATZRAFI, Z. *et al.* Somatic cell counts, chemical composition and coagulation properties of goat and sheep bulk tank milk. *International Dairy Journal*, v. 58, p. 9-13, 2016.
- LOURENÇO NETO, J.P.M. Leite resfriado: matéria-prima da queijaria moderna. *Revista Leite & Derivados*, n.41, p.18-34, 1998.
- MARQUES, S. C.; EVANGELISTA, S. R.; PICCOLI, R. H. Diversidade e resistência a antibióticos de bactérias psicotróficas isoladas de tanques coletivos de resfriamento de leite. *Revista do Instituto Adolfo Lutz*, v. 71, n. 4, p. 670-676, 2012.
- MARTÍN-DIANA, A.; FRAGA, M.; FONTECHA, J. Isolation and characterisation of caseinomacropéptide from bovine, ovine, and caprine cheese whey. *European Food Research and Technology*, v. 214, n. 4, p. 282-286, 2002.
- MESSIAS, J. M.; DA COSTA, B. Z.; DE LIMA, V. M. G., *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 nº 19583 de 17 de agosto de 2011. *Dispõe sobre as condições para manipulação e beneficiamento artesanais de leite de cabra e de ovelha e seus derivados*. Minas gerais, Belo Horizonte, 18 de agosto de 2011.

- MOREIRA, N. V.; MONTANHINI, M. T. M. Contaminação do leite na ordenha por microorganismos proteolíticos e lipolíticos. *Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal*, v. 8, n. 2, p. 29-38, 2014.
- NUDDA, A.; BATTACONE, G., ATZORI, A. S., *et al.* Effect of extruded linseed supplementation on blood metabolic profile and milk performance of Saanen goats. *Animal*, v. 7, n. 09, p. 1464-1471, 2013.
- PÁDUA, F. S. *Qualidade, segurança microbiológica e enumeração da microbiota lática autóctone do leite de cabra produzido na região Centro-Oeste*. 2013. 58 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Animais) - Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Brasília, 2013.
- PARK Y. W.; HAENLEIN G.W. *Handbook of Milk of Non-Bovine Mammals*. Wiley-Blackwell. 2006. 472p.
- PARK, Y.W.; JUÁREZ, M.; RAMOS, M., *et al.* Physico-chemical characteristics of goat and sheep milk. *Small Ruminant Research*, v.68, n.1-2, p.88-113, 2007.
- PALOMBA, R.; FORMISANO, G.; ARRICHIELLO, A. *et al.* Development of a laboratory technique for the evaluation of protease enzymes activity in goat and sheep milk. *Food Chemistry*, v. 221, p. 1637-1641, 2016.
- PEEREIRA, 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.
- PIREDDA, G.; PIRISI, A. Detailed composition of sheep and goat milks and antimicrobial substances. *International Dairy Federation*, Special issue 0501: The Future of the Sheep and Goat Dairy Sectors, pp. 111–116, 2005.
- PRATA, L. F.; RIBEIRO, A. C., REZENDE, K. T. *et al.* Composição, perfil nitrogenado e características do leite caprino (Saanen). Região Sudeste, Brasil. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 18, n. 4, p. 428-432, 1998.
- QUEIROGA, R. C. R. E.; COSTA, R. G.; BARRETO, T. M.; BISCONTINI, A. N., *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.
- SAMARŽIJA, D.; ZAMBERLIN, Š.; POGAČIĆ, T. Psychrotrophic bacteria and milk and dairy products quality. *Mljekarstvo*, v. 62, n. 2, p. 77-95, 2012.
- SÁNCHEZ-MACÍAS, D.; MORALES-DELANUEZ, A., TORRES, A. *et al.* Effects of addition of somatic cells to caprine milk on cheese quality. *International Dairy Journal*, v. 29, n. 2, p. 61-67, 2013.
- SANTOS, M. V.; OLIVEIRA, C.A.F.; LIMA, Y.V.R., *et al.* Remoção de células somáticas pela microfiltração não afeta a composição e a proteólise do leite. *Ciência Rural*, v. 36, n. 5, 2006.

- SCATAMBURLO, T. M.; YAMAZI, A. K., CAVIVICCHIOLI, V. Q. *et al.* Spoilage potential of *Pseudomonas* species isolated from goat milk. *Journal of Dairy Science*, v. 98, n. 2, p. 759-764, 2015.
- SILVA, A. A. *Efeito de sais estabilizantes e do período de estocagem nas características físico-químicas do leite congelado caprino*. 1996. 75 f. Dissertação (mestrado). Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 1996
- SILVA, P. V. *Leite caprino: caracterização físico-química, perfil de ácidos graxos e avaliação biológica (ratos fêmeas Wistar)*. 2009. 151 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Agroindustrial). Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2009.
- SILVA, M. M. C.; TORRES, R. A.; RODRIGUES, M. T.; *et al.* Effect of genotypes for α 1-casein on proteic and lipidic fractions in goat milk. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 61, n. 3, p. 682-690, 2009.
- 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.
- TABET, E.; MANGIA, N. P., MOUANNES, E. *et al.* Characterization of goat milk from Lebanese Baladi breed and his suitability for setting up a ripened cheese using a selected starter culture. *Small Ruminant Research*, v. 140, p. 13-17, 2016.
- THOMÄ-WORRINGER, C.; SØRENSEN, J. LÓPEZ-FANDIÑO, R. Health effects and technological features of caseinomacropeptide. *International Dairy Journal*, v. 16, n. 11, p. 1324-1333, 2006.
- VILLANOEVA, C.N.B.C. *et al.* Caseinomacropeptide 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, Feb. 2014.
- Wong, N. P., Jenness, R., Marth, E. H., Keeney, M. Fundamentals of dairy chemistry. *Springer Science & Business Media*, 1988.
- YAMAZI, A. K.; MOREIRA, T. S., CAVICCHIOLI, V. Q. *et al.* Long cold storage influences the microbiological quality of raw goat milk. *Small Ruminant Research*, v. 113, n. 1, p. 205-210, 2013.
- ZACHAROV, E. H.; HALPERN, M. Culturable psychrotrophic bacterial communities in raw milk and their proteolytic and lipolytic traits. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 73, n. 22, p. 7162-7168, 2007.

4. CAPÍTULO II – ESTUDO DA DEGRADAÇÃO DO LEITE DE CABRA CRU ARMAZENADO A 4°C POR SETE DIAS EM CONDIÇÕES LABORATORIAIS

4.1. REVISÃO DE LITERATURA

O leite é um produto perecível. Esta característica básica influenciou pesquisadores de todo o mundo a estudar, compreender e combater os fatores que levam à sua decomposição. Mesmo após décadas de estudo, tecnologias de controle da degradação do leite (refrigeração e pasteurização) inventadas e popularizadas, a perecibilidade do leite ainda é alvo de estudos científicos. Até que ponto o leite pode ser mantido cru, sem que haja significativa perda de qualidade? Quais as consequências de manter o leite cru sob refrigeração por vários dias? A partir de que momento as perdas econômicas podem ser detectadas? E todos estes questionamentos são aplicáveis para os leites das diferentes espécies.

Atualmente a coleta granelizada do leite em caminhões isotérmicos e o acesso dos produtores à tanques de resfriamento é realidade no Brasil. Isso mudou o perfil de micro-organismos predominantes no leite, e a contagem de psicotróficos ganhou importância. Estes micro-organismos apresentam crescimento às baixas temperaturas (Jay, 2006) e a manutenção do leite sob refrigeração tem promovido o desenvolvimento deste grupo frente aos mesófilos aeróbios (Samarzija *et al.*, 2012). Os psicotróficos podem produzir enzimas proteolíticas e lipolíticas que atuam na degradação do leite e mantêm-se ativas mesmo após o tratamento térmico. A atividade residual das proteases após a pasteurização pode chegar a até 60% e mesmo após a ultra pasteurização a atividade residual pode manter-se em até 20% (Shah, 1994; Muir, 1996). As proteases produzidas pelos psicotróficos atuam principalmente sobre as caseínas, desestabilizando as micelas e podendo levar à coagulação do leite (Chen, 2003). Como a refrigeração favorece a solubilização da β -caseína e a micela do leite de cabra é mais friável devido à sua composição (O'Connor e Fox, 1973; Jenner, 1980), é provável que quando submetido à refrigeração prolongada o leite de cabra seja mais susceptível à proteólise. Artíficos usados para evitar o desenvolvimento de micro-organismos psicotróficos são a termização e a manutenção do leite a temperaturas próximas a 2°C (Pinto, 2004). Porém alterações na fração de caseína em leite mantido a 2°C já foram reportadas por Pinto (2014), e no caso do leite de cabra esta prática pode causar congelamento dos primeiros leites a entrarem no tanque, uma vez que os volumes serão sempre pequenos.

As lipases oriundas dos psicotróficos atuam principalmente nos triglicerídeos do leite e formam ácidos graxos insaturados. As lipases também podem hidrolisar os glóbulos de gordura (Chen, 2003). A atividade residual das lipases varia muito com o tipo de lipase e qual micro-organismo a originou (Messias *et al.*, 2011). O mesmo pode ser dito para a temperatura ótima e o pH ótimo de atividade (Messias *et al.*, 2011). A liberação de ácidos graxos livres pode alterar o sabor do leite gerando ranço, sabor amargo, metálico e oxidado (Cousin, 1982).

O'Connell *et al.* (2016) estudaram o leite de vaca armazenado sem tratamento térmico por até 96 horas, em temperaturas de 2, 4 e 6°C, mas nenhuma temperatura ou tempo afetou o desenvolvimento de micro-organismos lipolíticos ou proteolíticos. Os autores concluíram que leites oriundos de propriedades com cuidados de higiene de ordenha podem ser mantidos sem tratamento térmico por até 96 horas sem afetar a qualidade microbiológica do mesmo (O'Connell *et al.*, 2016).

Outro fator que pode submeter o leite cru de cabra à proteólise é sua contagem de células somáticas. A característica da secreção do leite, o comportamento de renovação celular e o tipo

de resposta imune de cabras causam uma elevada eliminação de CCS no leite. A glândula mamária caprina elimina maior quantidade de células somáticas no leite quando comparada ao leite de vaca e ovelha. A CCS de cabras saudáveis pode chegar até 1000×10^3 células/mL, e 1% a 6% deste total são células epiteliais (Paape *et al.*, 2007). Porém a CCS está associada à concentração da plasmina no leite e essa enzima é proteolítica (LeRoux, 2003). A atuação da plasmina no leite de cabra mantido sob refrigeração pode resultar na perda de qualidade e de rendimento de queijo, mesmo quando o leite for obtido por ordenha higiênica e possui baixas contagens de micro-organismos proteolíticos.

A qualidade do leite influencia no rendimento do queijo que será fabricado e este rendimento é de interesse da indústria pois determina o ganho econômico (Lucey e Kelly, 1994). O rendimento do queijo depende da composição centesimal do leite, do soro, da umidade final do queijo, do uso do cloreto de cálcio, do tipo de coalho usado, da contagem de células somáticas e da contagem de bactérias psicotróficas do leite (Lucey e Kelly, 1994; Furtado, 2005).

Galina *et al.* (1996) demonstraram a redução do rendimento do queijo de cabra após o segundo mês de lactação e o aumento do rendimento nos dois últimos meses de lactação. O mesmo estudo reportou correlação positiva e significativa do rendimento de queijo com a acidez, o pH e o período de lactação e correlação negativa com o Californian Mastitis Test (CMT). Guo *et al.* (2004) concluíram que o total de sólidos, o teor de proteína total, a caseína e o teor de gordura são os componentes do leite de cabra que mais afetam a capacidade de rendimento de queijo, tipo Chèvre de leite de cabra. A raça também pode ser um fator que afeta o rendimento de queijo, porém é importante considerar que a raça afeta a composição do leite e as alterações no rendimento de queijo são consequências da composição do leite. Em estudo feito nos Estados Unidos da América (EUA) com cabras da raça Nubiana e Alpina, o rendimento de queijo tipo Chèvre foi maior em leite produzido por animais da raça Nubiana, assim como a composição centesimal do leite oriundo desta raça (Soyal *et al.*, 2005). A CCS também pode afetar o rendimento do queijo pois está relacionada com a mastite (Barbano, 1991; Rogers e Mitchell, 1994). A mastite afeta a composição do leite e conseqüentemente o rendimento do queijo. Chen *et al.* (2010) não encontraram diferença entre o rendimento de queijo de cabra oriundos de leites com diferentes contagens de células somáticas, mas provaram alteração sensorial na textura de queijos feitos com elevada CCS.

O rendimento do queijo pode ser calculado de várias formas. O cálculo de rendimento teórico leva em consideração a composição do leite e a umidade desejável do queijo (Melili *et al.*, 2002). O rendimento econômico considera o quanto de leite foi gasto para a produção de uma determinada quantidade de queijo e é usado para cálculo de custo de produção do queijo. Já o cálculo de rendimento técnico necessita dos dados composicionais do leite e do soro do queijo para que sejam calculadas as cifras de transição do leite para o queijo (Furtado, 2005). O rendimento de queijo é geralmente expresso em porcentagem e pode ter relação volume/ massa ou massa/ massa (Furtado, 2005).

Leal (2014) elaborou queijo tipo Boursin com leite de cabras da raça Alpina alimentadas com diferentes teores de raspas de mandioca e reportou rendimento médio de 6,08 litros de leite para cada quilo de queijo, sem diferença estatística para as diferentes raças. Já Monteiro (2015), produziu queijo tipo minas frescal com leite de cabras Anglo-Nubianas e encontrou rendimento médio de 0,224 quilos de queijo para cada um litro de leite. Em estudo sobre rendimento de queijo pecorino romano com leite de cabra congelado observa-se menor rendimento nos queijos cujo leite sofreu congelamento lento (6,15 g/100g) e maior rendimento (7,05 g/100g) na situação em que o leite não foi congelado (Curi, 2002).

Em consonância com a indústria de beneficiamento de leite caprino, a coleta de leite de pequenas propriedades produtoras não é economicamente viável de ser feita com intervalos pequenos de dias. O volume produzido não será suficiente para que os custos do frete sejam pagos. Desta forma fica identificada a necessidade de apontamento do tempo em que o leite cru de cabra pode ser mantido sob refrigeração sem que as consequências de perda de qualidade sejam notórias, prejudicando a empresa, o produtor e o consumidor. A identificação dos pontos de gargalo na qualidade do leite cru de cabra pode ser a ferramenta de maior valor para a tomada de decisão, sobre a logística de coleta, bem como para a determinação de política de pagamento por qualidade justa.

Este trabalho objetiva averiguar como ocorre a degradação do leite de cabra cru mantido a 4°C por sete dias. Para tal compromisso foi realizada a determinação da composição centesimal, da acidez, densidade, índice de proteólise, lipólise, a contagem de micro-organismos mesófilos aeróbios, psicotróficos totais, proteolíticos e lipolíticos em leite cru de cabra durante cinco períodos de estocagem. O rendimento de queijo em escala reduzida também foi realizado para verificar o reflexo das alterações composicionais e microbiológicas na produção de derivados lácteos.

4.2. MATERIAL E MÉTODOS

4.2.1. Amostragem

Foram coletadas, em frascos estéreis, amostras de leite cru de cabra de tanques de expansão de sete propriedades no estado de Minas Gerais. O leite foi coletado imediatamente após a ordenha, resfriado e encaminhado para os laboratórios do Departamento de Tecnologia e Inspeção de Produtos de Origem Animal (DTIPOA) da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais (EV-UFMG). As coletas foram feitas entre julho e setembro de 2016 e as propriedades encontram-se nas mesorregiões da zona da mata mineira e metropolitana de Belo Horizonte.

Em condições estéreis cada amostra foi dividida em cinco alíquotas, de 500 mL cada, e armazenadas em estufa B.O.D. (demanda bioquímica de Oxigênio) a 4°C. As alíquotas foram submetidas a análise físico-química e microbiológica com 0, 2, 4, 5, 6 e 7 dias de estocagem, totalizando 35 amostras (7 propriedades x 5 tempos de estocagem).

4.2.2. Análises microbiológicas

As alíquotas de leite cru de cabra foram submetidas à contagem de micro-organismos mesófilos aeróbios, psicotróficos totais, psicotróficos proteolíticos, psicotróficos lipolíticos (Brasil, 2003) Paralelamente foi realizada a contagem bacteriana total, em equipamento eletrônico baseado em citometria de fluxo..

4.2.2.1. Contagem de micro-organismos mesófilos aeróbios

O procedimento de contagem de micro-organismos mesófilos foi idêntico ao descrito no item 3.2.2.1 deste documento, exceto pelas diluições que, neste caso, foram de 10^{-3} a 10^{-5} .

4.2.2.2. Contagem de micro-organismos psicotróficos totais, lipolíticos e proteolíticos

A contagem de micro-organismos psicotróficos totais utilizou a técnica de *spread-plate*, espalhando, com auxílio de alças de Drigalski, 0,1 mL das diluições de 10^0 a 10^{-6} em placas com

PCA (*Acumedia*). Após a absorção completa das alíquotas as placas foram invertidas e incubadas em estufa B.O.D a 7°C -10°C por 10 dias (Brasil, 1993).

A técnica de contagem de micro-organismos psicrotróficos lipolíticos e proteolíticos utilizou diluições de 10^0 a 10^{-6} , com metodologia *spread-plate* e alíquotas de 0,1 mL de cada diluição. A incubação foi por 10 dias a 7°C com placas invertidas. Para avaliar a atividade proteolítica das colônias foi adicionado ao PCA fundido, 10% v/v de leite desnatado reconstituído (Piracanjuba®, Laticínios Bela Vista, Bela Vista, Goiás) em água (10% m/v) e autoclavado. 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, Marcy & Pruett, 2001). 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; Choo *et al.*, 1997; Lima *et al.*, 2003).

4.2.2.3. Contagem Bacteriana Total

Aproximadamente 50 mL de cada amostra de leite foi vertida em frasco estéril contendo Azidiol, homogeneizada e encaminhada ao Laboratório de Análise da Qualidade do Leite da UFMG (LabUFMG) para determinação da Contagem Bacteriana Total por citometria de fluxo em equipamento IBC BactoCount IBC (*Bentley Instruments Incorporated*®, Chaska, Minnesota, Estados Unidos) (Bentley..., 2002).

4.2.3. Análises Físico-químicas

As amostras foram submetidas à determinação da acidez titulável, densidade a 15°C, proteína total, índice crioscópico e índice de caseínomacropéptideo segundo a Instrução Normativa número 68, de 12 de dezembro de 2006 (Brasil, 2006). O índice de caseínomacropéptideo foi aferido por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) em cromatógrafo Shimadzu classe 6.1 com coluna Zorbax GF 250 (*Aligent*) em corrida de 15 minutos com tampão de fosfato (pH 6) como fase móvel. Exceto pela CLAE as análises físico-químicas foram realizadas em triplicata.

4.2.3.1. Composição centesimal e Contagem de Células Somáticas

A composição centesimal e a contagem de células somáticas de cada dia de análise foram feitas exatamente como no item 3.2.3.1 deste documento.

4.2.3.2. Índice de proteólise do leite de cabra cru

A proteólise de cada alíquota de leite de cabra cru foi determinada pelo índice caseína: proteína verdadeira, sendo que, quanto menor for, mais degradado estará o leite. As metodologias de coagulação, filtração, digestão e destilação seguiram a AOAC (2012) e as modificações necessárias para a realização das técnicas foram idênticas ao item 3.2.3.2 deste documento.

4.2.3.3. Lipólise no leite de cabra cru

O aumento do AGL indica a elevação da lipólise do leite. Portanto a quantificação dos AGL no leite foi utilizada para aferir a lipólise do mesmo. A técnica de Deeth *et al.* (1975) com as modificações apresentadas no item 3.2.3.3 deste documento foi também aqui aplicada.

4.2.3.4. Produção de massa seca de queijo em escala reduzida

O rendimento do leite na fabricação do queijo foi determinado através da fabricação de queijo em escala reduzida, como proposto por Melilli *et al.* (2002). O cálculo do rendimento de massa seca

foi por meio da divisão entre a massa do gel centrifugado e seco e a massa do leite cru aplicada à fabricação do respectivo queijo.

Rendimento de massa seca = peso da massa seca do gel *100/ peso do leite cru utilizado

4.2.4. Análise estatística

As variáveis relacionadas aos dados físico-químicos e microbiológicos do leite de cabra nos diferentes dias de armazenagem (tratamentos) foram analisados pelo seguinte modelo linear misto:

$$Y_{ij} = \mu + \alpha_i + e_{ij} \quad \text{Eq. (1)}$$

Y_{ij} é a observação medida na j -ésima propriedade no i -ésimo dia de armazenamento (α_i) após a ordenha. Os efeitos fixos na Eq. (1) são a média (μ) e α_i , e o efeito aleatório é o termo de erro usual (e_{ij}) que estima o erro de cada dia de armazenagem entre as propriedades. A Eq. (1) foi ajustada utilizando o procedimento PROC MIXED do SAS (versão 9.4) com máxima verossimilhança como método de estimação. O comando “repeated” utilizado com as observações de cada dia de armazenagem em cada propriedade como unidade experimental. A matriz de variância-covariância foi modelada apenas como componentes de variância. As variáveis foram submetidas ao teste de Shapiro Wilk e quando necessário, transformadas com função logarítmica.

As Hipóteses nulas quanto aos tratamentos, e seus efeitos linear, quadrático e cúbico foram rejeitados quando $p < 0,05$. Para regressões significativas, os intervalos de confiança estimados a 95% (IC 95%) foram apresentados como se segue: \hat{y}_x ($L_{inf}; L_{sup}$); onde \hat{y}_x é a variável dependente predita para um dado dia de armazenagem do leite, x ; L_{inf} e L_{sup} são os limites inferior e superior, respectivamente, do IC de 95%. Para as variáveis que apresentaram ausência de efeitos de tratamento, o IC de 95% para as médias de mínimos quadrados da variável dependente em cada dia de armazenagem (\bar{y}_x) foi fornecido da seguinte forma: \bar{y}_x ($L_{inf}; L_{sup}$).

4.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A contagem de micro-organismos mesófilos aeróbios não apresentou diferença estatística ($p = 0,728$) entre os dias de armazenamento. A média no primeiro dia de estocagem foi de $1,71 \times 10^4$ UFC/mL e no último dia foi de $2,2 \times 10^4$ UFC/mL. A elevação da contagem de micro-organismos mesófilos aeróbios não foi grande e mostrou-se diferente da elevação de $5,2 \times 10^4$ para $2,76 \times 10^6$ UFC/mL em leite de cabra armazenado a 4°C em 0 e 6 dias de armazenamento respectivamente (Fonseca *et al.* 2006). E do aumento de 10^6 para 10^9 UFC/mL encontrado por Cardoso (2006) em leite de vaca armazenado a 10°C por quatro dias. Porém, condiz com as contagens de $3,65 \times 10^5$, $5,5 \times 10^5$ e $6,2 \times 10^5$ UFC/mL nos dias 0, 3 e 4 de armazenamento de leite cru de cabra armazenado a 4°C por Ferreira *et al.* (1992). A estocagem do leite em estufa B.O.D. pode ter sido crucial para a manutenção das contagens de micro-organismos mesófilos aeróbios, pois nesta estufa a temperatura não sofreu bruscas variações. A baixa temperatura favoreceu o desenvolvimento de micro-organismos adaptados às temperaturas mais baixas, causando competição por nutrientes entre estes dois grupos microbianos. A ordenha higiênica das amostras dos leites também é essencial para a baixa contagem inicial de mesófilos. A contagem bacteriana total corrobora para esta conclusão, tendo valor máximo aos sete dias de armazenamento ($1,21 \times 10^5$ UFC/mL) e não

superando o máximo de 5×10^5 UFC/mL permitido por lei (Brasil, 2000), sugerindo que os leites foram obtidos de forma higiênica.

Os psicrotróficos totais apresentaram crescimento significativo ($p = 0,0056$) durante os sete dias, saindo de contagens de $2,41 \times 10^3$ para contagens de $2,83 \times 10^5$ UFC/mL (Figura 1), porém não foi observada diferença estatística entre os contrastes de interesse. O desenvolvimento dos psicrotróficos totais e dos mesófilos aeróbios mostra que com o passar do tempo os psicrotróficos tornam-se os micro-organismos predominantes no leite. Assim como detectado por Cardoso (2006), e reportado por Samarzija *et al.* (2012). O crescimento dos psicrotróficos proteolíticos e lipolíticos acompanhou o desenvolvimento dos psicrotróficos totais, como pode ser visto na Figura 1, e houve correlação ($p < 0,05$) positiva de 85% e 65% respectivamente, entre as variáveis. Houve, também, correlação positiva entre a contagem de psicrotróficos totais e a CBT (63%; $p < 0,05$), fato também reportado por Cempírková *et al.* (2002). Isto pode ser explicado pelo fato de a população de psicrotróficos crescer em porcentagem, quando comparada à CBT. No primeiro dia de análise a contagem de psicrotróficos totais representou 7,5% da CBT e no último dia a contagem de psicrotróficos superou numericamente a CBT (233%).

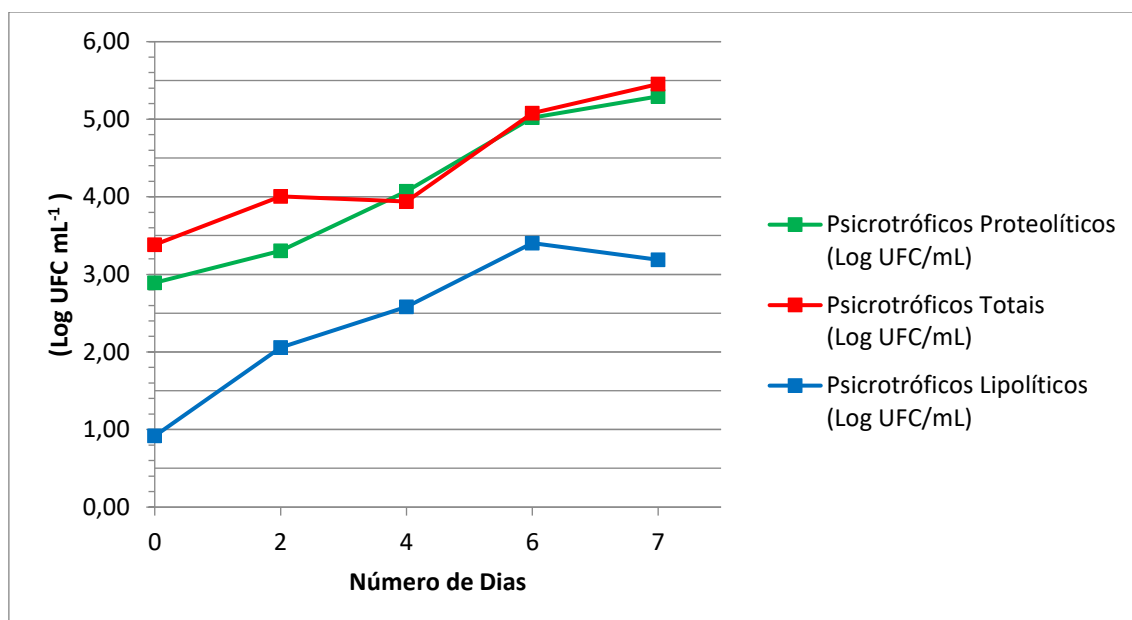


Figura 1: Contagem média de psicrotróficos totais, proteolíticos e lipolíticos, em relação aos dias de estocagem a 4°C do leite cru de cabra

A contagem de psicrotróficos proteolíticos apresentou diferença estatística ($p = 0,0005$) entre o dia 0 e o último dia de análise. A média de $1,96 \times 10^5$ UFC/mL encontrada no último dia de análise para os micro-organismos proteolíticos mantém os leites aqui avaliados dentro do limite para a percepção de alteração de sabor e odor do leite de cabra, em decorrência da proteólise causada por estes micro-organismos (10^6 UFC/mL) (Cimiano e Alvarez, 1983; Champagne *et al.*, 1994). Porém, observa-se na Tabela 4 que os valores inclusos no intervalo de confiança de 95% compreendem contagens de até $2,7 \times 10^6$ UFC/mL, que podem causar alterações sensoriais no leite de cabra.

Os micro-organismos psicrotróficos lipolíticos apresentaram as menores contagens entre os psicrotróficos e durante todos os dias de armazenamento (Figura 1). A contagem mais elevada foi

observada do sexto dia de armazenamento, e uma queda foi observada no sétimo dia. O desenvolvimento dos psicrotróficos demora aproximadamente de 6 a 8 horas de geração, isso faz com que estes micro-organismos saiam da fase lag do crescimento com aproximadamente dois dias de estocagem, e a partir deste momento entram em crescimento exponencial (Guinot Thomas *et al*, 1995). Isso pode ser observado, neste experimento, a partir do segundo dia de estocagem dos micro-organismos lipolíticos e a partir do quarto dia de estocagem para os demais psicrotróficos (Figura 1). Colins (1982) disse que mesmo em concentrações baixas, as proteases e lipases oriundas dos psicrotróficos podem causar alterações de sabor. Portanto, assegura o conforto de concluir que a baixa contagem de micro-organismos lipolíticos no leite cru de cabra por até sete dias, não garante que não existirão prejuízos em relação às características sensoriais do leite.

Tabela 5. Médias e intervalo de confiança de 95% das análises microbiológicas do leite estocado por sete dias a 4°C em laboratório

Análise	Período				
	0	2	4	6	7
CBT (UFC/mL)	3,2x10 ⁴ (6x10 ³ ; 1,68x10 ⁵)	4,3x10 ⁴ (6x10 ³ ; 2,69x10 ⁵)	3,78x10 ⁴ (6x10 ³ ; 2,13x10 ⁵)	9,2x10 ⁴ (1,5x10 ⁴ ; 5,42x10 ⁵)	1,21x10 ⁵ (1,7x10 ⁴ ; 8,37 x10 ⁵)
Mesófilos aeróbios (UFC/mL)	1,71x10 ⁴ (2,8x10 ³ ; 1,02x10 ⁵)	2,3x10 ⁴ (3,64x10 ³ ; 1,46x10 ⁵)	1,59x10 ⁴ (2,36x10 ³ 1,07x10 ⁵)	7,70x10 ³ (1,0x10 ³ ; 5,54x10 ⁴)	2,23x10 ⁴ (2,9x10 ³ ; 1,71x10 ⁵)
Psicrotróficos proteolíticos (UFC/mL)	7,81x10 ² (72; 8,43x10 ³)	2,02x10 ³ (1,76x10 ² ; 2,32x10 ⁴)	1,17x10 ⁴ (9,63x10 ² ; 1,43x10 ⁵)	1,05x10 ³ (8,05x10 ² ; 1,37x10 ⁶)	1,96x10 ⁵ (1,41x10 ⁴ ; 2,74x10 ⁶)
Psicrotróficos lipolíticos (UFC/mL)	8,26 (0,16; 4,39x10 ²)	1,14x10 ² (1; 6,97x10 ³)	3,83x10 ² (5; 2,7x10 ⁴)	2,532x10 ³ (30; 2,08x10 ⁵)	1,545x10 ³ (16; 1,48x10 ⁵)
Psicrotróficos totais (UFC/mL)	2,41x10 ³ (2,16x10 ² ; 2,69x10 ⁴)	1,01x10 ⁴ (8,51x10 ² ; 1,19x10 ⁵)	8,69x10 ³ (6,88x10 ² ; 1,09x10 ⁵)	1,19x10 ⁵ (8,89x1 ⁻³ ; 1,61x10 ⁶)	2,83x10 ⁵ (1,96x10 ⁴ ; 4,09x10 ⁶)

O desenvolvimento dos micro-organismos lipolíticos acompanhou o desenvolvimento da lipólise do leite. E esta associação apresentou correlação positiva de 48% ($p < 0,05$), um valor baixo quando comparado aos 90% reportados por Fonseca *et al*. (2006). Apesar de a concentração de ácido graxo livre não ter sido estatisticamente significativa ($p > 0,05$), é observada tendência de aumento com o passar do tempo (Tabela 6). Driessen (1984) disse que a maior produção de lipase ocorre durante a fase exponencial do desenvolvimento dos psicrotróficos. E, neste experimento, uma elevação da concentração de lipólise pode ser observada a partir do quarto dia de estocagem, coincidindo com a fase exponencial dos psicrotróficos lipolíticos. Cimiano e Alvarez (1983) reportam que a produção de lipase atinge seu pico em 114 horas de armazenamento do leite, ou seja, aproximadamente cinco dias de armazenamento. Gomes *et al*. (2004) citaram que valores de 1,3 μ eq./ mL de AGL em creme de leite tornaram o produto inaceitável. Fonseca (2006), encontrou valores médios de 1,6 meq/L em leite de cabra cru armazenado a 4°C por 6 dias, além de apresentar diferença no odor cáprico e de ranço em leites pasteurizados que permaneceram por até 6 dias sem tratamento térmico e refrigerados a 4°C. Como as concentrações de AGL aqui reportadas são superiores às encontradas por Fonseca (2006), pode-se supor que alterações de sabor serão observadas nos leites deste experimento.

Foi observado crescimento linear ($p < 0,05$) da população de micro-organismos psicrotróficos totais, lipolíticos e proteolíticos (Tabela 5). Efeito esperado, uma vez que estes micro-organismos

continuam a crescer em temperaturas baixas, como a temperatura utilizada para o armazenamento do leite.

Tabela 6. Equações de regressão linear, valores de p e de R² para os micro-organismos psicrotróficos totais, lipolíticos e proteolíticos

Micro-organismo	Equação	Valor de P	R ² (%)
Psicrotrófico total	$y = 6,99+0,59x$	<0,0001	96,0
Psicrotrófico proteolítico	$y = 6,35+0,81x$	<0,0001	98,0
Psicrotrófico lipolítico	$y = 2,54+0,5957x$	0,0002	96,0

Não foram observadas alterações significativas nos parâmetros de composição, acidez, densidade, CCS e crioscopia ($p < 0,05$). Em consonância com Fonseca (2010). A acidez permaneceu dentro dos valores aceitos pela legislação (Brasil, 2000) até o sétimo dia de armazenamento, isto sugere que a temperatura de estocagem preveniu o crescimento de micro-organismos produtores de ácido láctico, principalmente as bactérias ácido lácticas e os coliformes. Nenhuma das repetições apresentou teor de acidez acima do previsto na normativa, mas observa-se a elevação gradual da acidez com o passar do tempo. Os teores de lactose e ESD foram abaixo dos valores preconizados pela legislação (Brasil, 2000) durante todo o período de estocagem, o que permite concluir que estes são os teores normais produzidos pelas cabras das propriedades que fizeram parte do experimento. Estes teores podem estar reduzidos pelo período de lactação em que os animais se encontram, pela alimentação que recebem ou pela genética dos rebanhos. Os valores de lactose e ESD aqui encontrados foram inferiores aos reportados por Gomes *et al.* (2004), Andrade *et al.* (2008), Almeida *et al.* (2013) e Pereira (2016).

Tabela 7. Médias e intervalos de confiança de 95% para os parâmetros físico-químicos do leite estocado por sete dias a 4°C em laboratório

Análise	Período				
	0	2	4	6	7
Acidez (°D)	12.26 (11.22; 13.31)	12.74 (11.67; 13.81)	13.30 (12.20; 14.39)	13.18 (12.06; 14.31)	13.18 (12.03; 14.33)
Gordura (g/100g)	3.57 (3.04; 4.19)	3.42 (2.90; 4.03)	3.60 (3.04; 4.26)	3.68 (3.09; 4.37)	3.74 (3.13; 4.47)
Lactose (g/100g)	4.08 (3.96; 4.20)	4.08 (3.96; 4.20)	4.10 (3.97; 4.23)	4.07 (3.94; 4.20)	4.06 (3.93; 4.19)
Sólidos (g/100g)	11.18 (10.80; 11.57)	11.08 (10.70; 11.47)	11.21 (10.83; 11.60)	11.21 (10.83; 11.60)	11.25 (10.87; 11.64)
ESD (g/100g)	7.66 (7.47; 7.85)	7.66 (7.46; 7.86)	7.66 (7.46; 7.87)	7.60 (7.40; 7.81)	7.59 (7.38; 7.80)
Densidade (g/mL)	1.03 (1.03; 1.03)	1.03 (1.03; 1.03)	1.03 (1.03; 1.03)	1.03 (1.03; 1.03)	1.03 (1.03; 1.03)
Crioscopia (°H)	-0.564 (-0.570; -0.557)	-0.564 (-0.571; -0.557)	-0.569 (-0.576; -0.561)	-0.564 (-0.571; -0.557)	-0.565 (-0.572; -0.558)
AGL (µequiv./mL)	1.61 (1.25; 1.97)	1.82 (1.45; 2.19)	1.85 (1.46; 2.23)	2.07 (1.67; 2.48)	2.15 (1.73; 2.57)
CCS (x1000)	930.01 (530.01; 1631.90)	898.30 (511.89; 1576.24)	897.76 (511.63; 1575.30)	898.93 (512.29; 1577.35)	861.69 (491.08; 1512.02)

Os teores de densidade e a contagem de células somáticas encontraram-se dentro das médias reportadas pela literatura (Prata *et al.*, 1998; Costa *et al.*, 2008; Costa *et al.*, 2014). O índice

crioscópico encontrou-se aproximadamente 0,01 °H abaixo dos observados por Janstová *et al.* (2007), Andrade *et al.* (2008) e Palomba *et al.* (2017). Porém, ainda dentro do aceitável pela legislação (Brasil, 2000). Não é esperado que o índice crioscópico, a densidade e a CCS alterem significativamente em apenas sete dias no leite que é mantido sob refrigeração, pois a refrigeração desacelera a decomposição do leite.

Tabela 8. Médias e intervalos de confiança de 95% para os teores de proteína total, caseína, NNP, índice de proteólise e índice de CMP do leite estocado por sete dias a 4°C em laboratório

Análise	Período				
	0	2	4	6	7
Proteína total (%)	3.12 (2.82; 3.45)	3.04 (2.75; 3.36)	2.93 (2.65; 3.23)	2.97 (2.69; 3.29)	3.00 (2.71; 3.31)
Caseína (%)	2.15 (1.85; 2.50)	2.11 (1.82; 2.46)	1.89 (1.62; 2.20)	2.05 (1.77; 2.39)	2.05 (1.76; 2.38)
NNP (%)	0.048 (0.040; 0.058)	0.050 (0.042; 0.060)	0.061 (0.051; 0.072)	0.050 (0.042; 0.060)	0.054 (0.045; 0.064)
Índice de proteólise	0.723 (0.668; 0.779)	0.726 (0.671; 0.782)	0.703 (0.648; 0.759)	0.727 (0.671; 0.782)	0.714 (0.659; 0.770)
CMP (µg/L)	34.49 (16.68; 71.34)	31.31 (14.82; 66.17)	33.19 (15.36; 71.73)	44.99 (20.34; 99.48)	65.10 (28.75; 147.40)

Embora não tenham sido identificadas diferenças estatísticas entre a qualidade nos dias de estocagem do leite para os teores de proteína, caseína, NNP e CMP ($p > 0,05$), observa-se uma tendência de redução do teor de proteína total e de caseína, bem como a elevação do NNP. Estas tendências podem ser explicadas pela proteólise do leite, que por sua vez, apresentou ligeira elevação durante o período de estocagem do leite cru de cabra. A elevação da proteólise e do CMP ocorreram em sintonia com o aumento da população dos psicotróficos totais e proteolíticos. Foram observadas correlações significativas ($p < 0,05$) entre o CMP e as contagens de psicotróficos totais, proteolíticos e lipolíticos, sendo 56%, 63,3% e 46,9% respectivamente. A Figura 2 exibe o crescimento da população de micro-organismos proteolíticos e as médias do índice de CMP durante os períodos de análise. Embora neste experimento não tenham sido observadas correlações significativas entre os micro-organismos psicotróficos totais, proteolíticos e lipolíticos, Fonseca (2010) reportou correlações significativas de -0,70, -0,70 e -0,49 para as contagens de mesófilos aeróbios, psicotróficos proteolíticos e lipolíticos em relação ao índice de proteólise do leite de cabra. É importante ressaltar que a correlação entre micro-organismos lipolíticos e o índice de proteólise não é inesperada, pois muitos micro-organismos produtores de lipases são também produtores de proteases.

Em 1996, Galínea *et al.* não encontraram diferença significativa entre o rendimento de queijo e a CCS em leite de cabra, e reportaram média de 7,3 L kg⁻¹ de rendimento. Chen *et al.* (2010) reportaram rendimento médio de queijo feito com leite de cabra com diferentes contagens de CCS e encontraram rendimento de 90,6 g/kg nos leites com baixa CCS. Já Saryal *et al.* (2005) reportaram rendimento de queijo de leite de cabras alpinas e Nubianas sendo 1,69 e 2,71 Kg/10Kg de leite, respectivamente. Os mesmos autores reportaram redução do rendimento de queijo nas duas raças quando as cabras encontravam-se no meio da lactação.

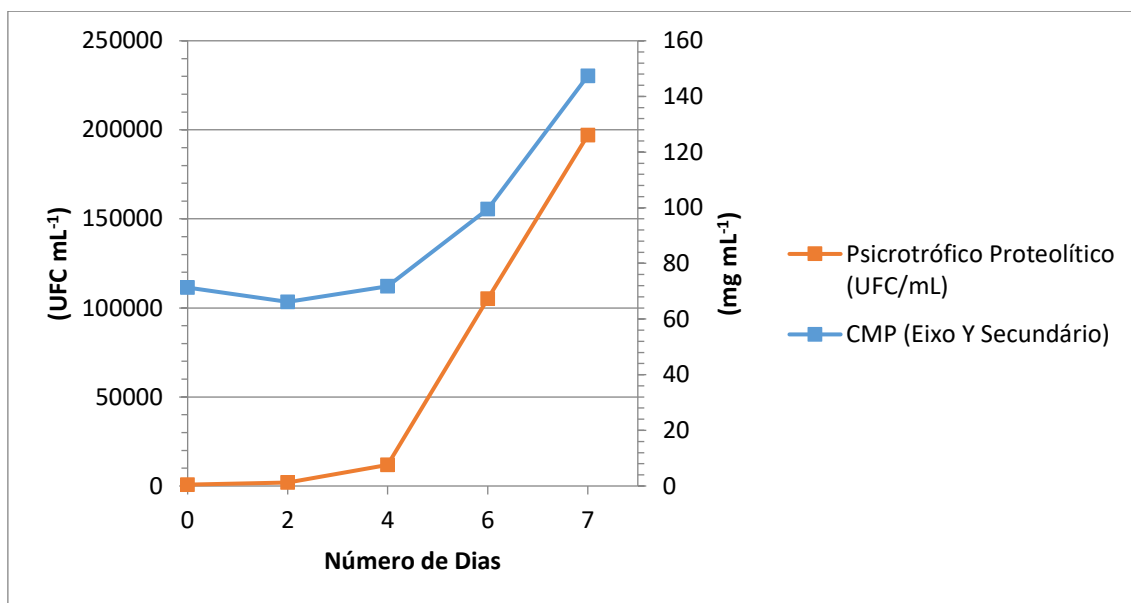


Figura 2. Contagens de micro-organismos psicrotróficos proteolíticos e índice de CMP observados durante os sete dias de estocagem do leite cru de cabra à 4°C.

A figura 3 representa o rendimento de queijo feito com leite cru de cabra até o sexto dia de análise. O sétimo dia foi considerado perdido. O rendimento não apresentou diferença estatística ($p = 0,96$), porém as perdas econômicas ainda podem ser sensíveis. A média de rendimento de queijo feito com leite no dia da ordenha foi de 6,28% e 6,05% foi a observação para o rendimento de queijo feito com leite após seis dias de armazenamento a 4°C. Considerando cem reais o preço médio do quilo de queijo fresco de cabra na cidade de Belo Horizonte, calcula-se que para cada quilo de leite processado com seis dias de armazenamento deixa-se de ganhar 0,23 reais. Em 2013 uma indústria de beneficiamento de leite de cabra reportou que processava aproximadamente 32 milhões de litros de leite por ano (Workshop..., 2016). Considerando a perda de rendimento e o beneficiamento anual de leite de cabra, a empresa deixaria de ganhar aproximadamente 7 milhões e 580 mil reais no ano.

Ainda sob o aspecto econômico, a competição no mercado com outras marcas de queijo de cabra pode ser prejudicada devido às possíveis alterações de sabor e odor que possam ocorrer devido à proteólise e lipólise do leite com elevadas contagens de psicrotróficos proteolíticos e lipolíticos reportada neste experimento. Para manter a competição, pode ser necessário reduzir o preço do quilo do queijo, elevando ainda mais os prejuízos econômicos da manutenção do leite em tanques de refrigeração por longos períodos.

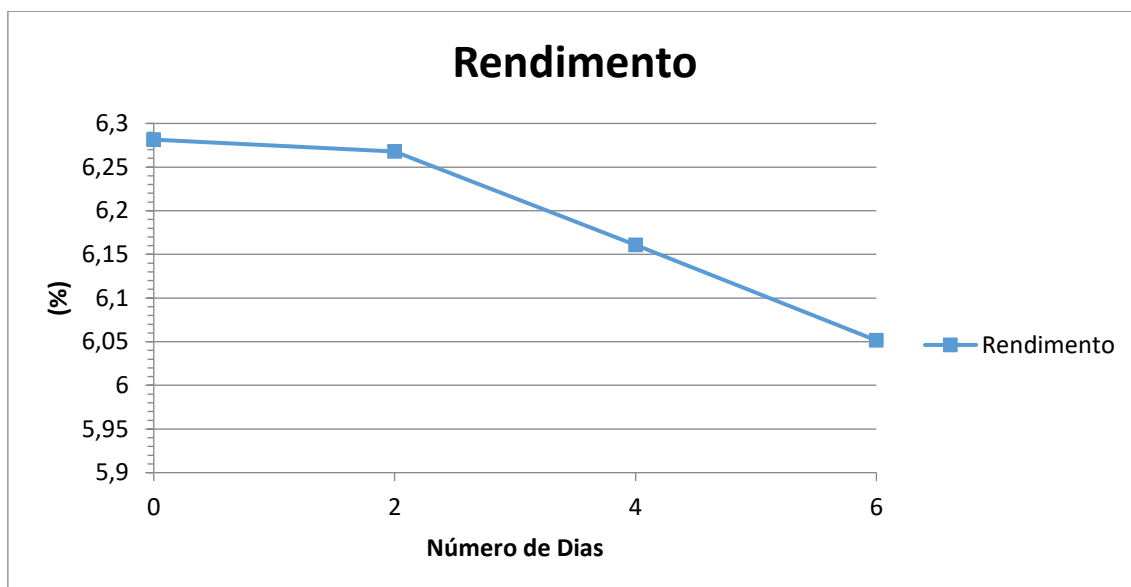


Figura 3. Valores médios do rendimento de queijo de cabra feito em escala reduzida durante os períodos de armazenamento do leite a 4°C.

4.4. CONCLUSÕES

O armazenamento do leite de cabra em laboratório por sete dias não demonstrou alterações na qualidade físico-química e microbiológica, quando comparado aos padrões existentes na legislação federal. Porém, as contagens de micro-organismos psicrotróficos totais, proteolíticos e lipolíticos (e a amplitude dos respectivos intervalos de confiança 95%) sugerem grande possibilidade de perda de qualidade sensorial do leite, mesmo após o seu beneficiamento. As contagens de micro-organismos psicrotróficos totais, lipolíticos e proteolíticos apresentaram correlação com a lipólise e o índice de CMP do leite, comprovando a dependência entre as variáveis.

O rendimento do queijo em escala reduzida não apresentou diferença estatística entre os dias de armazenamento do leite que foram estudados, mas a perda econômica pode ser significativa mesmo antes de a perda quantitativa do rendimento ser comprovada.

4.5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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

ALMEIDA, J. F.; AQUINO, M. H. C., MAGALHÃES, H. *et al.* Principais alterações no leite por agentes causadores de mastite no rebanho caprino dos estados de Minas Gerais e Rio de Janeiro. *Arquivos do Instituto Biológico*, v. 80, n. 1, p. 13-18, 2013.

DE ANDRADE, P. V. D.; SOUZA, M. R., PENNA, C.F.A.M. *et al.* Características microbiológicas e físico-químicas do leite de cabra submetido à pasteurização lenta pós-envase e ao congelamento. *Ciência Rural*, v. 38, n. 5, 2008.

BAYAZOGLU, J., HATZIMINAOGLU, Y.; MORAND-FEHR, P. The role of goat in society: Past, Present and perspectives for the future. *Small Ruminant Research*, v. 60, p. 13-23, 2005.

BARBANO, D. M.; RASMUSSEN, R. R.; LYNCH, J. M. Influence of Milk Somatic Cell Count and Milk Age on Cheese Yield. *Journal of Dairy Science*, v. 74, n. 2, p. 369-388, 1991.

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 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 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. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Brasil em síntese. 2013. Disponível em: <ftp://ftp.ibge.gov.br/Producao_Pecuaria/Producao_da_Pecuaria_Municipal/2013/tabelas_pdf/ta_b04.pdf> Acesso em: 05 de janeiro de 2017.

CARDOSO, R. R. Influência da microbiota psicrotrófica no rendimento de queijo minas frescal elaborado com leite estocado sob refrigeração. 2005. 43 f. Dissertação (mestrado). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa – MG, 2005.

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.

CHAMPAGNE, C. P.; LAING, R. R.; ROY, D. *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.

CHEN, L.; DANIEL, R.M.; COOLBEAR, T. Detection and impact of protease and lipase activities in milk and milk powders. *International Dairy Journal*, v.13, p.255-275, 2003.

CHEN, S. X.; WANG, J. Z., VAN KESSEL, J. S *et al.* Effect of somatic cell count in goat milk on yield, sensory quality, and fatty acid profile of semisoft cheese. *Journal of Dairy Science*, v. 93, n. 4, p. 1345-1354, 2010.

CHOO, D. W., KURIHARA, T., SUZUKI, T., *et al.* A cold-adapted lipase of an Alaskan psychrotroph, *Pseudomonas* sp. strain B11-1: gene cloning and enzyme purification and characterization. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 64, n. 2, p. 486-491, 1998.

CIMIANO, P. C.; ALVAREZ, J. A. G. A lipólise e sua influência na qualidade do leite. *Revista do Instituto Cândido Tostes*, v. 38, p. 27-33, 1983.

CURI, R. A. *Leite de cabra e coalhada congelados para fabricação de produto similar ao queijo pecorino romano. Avaliação do custo energético de produção.* 2002. 111f. Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual de São Paulo, Botucatu, 2002.

CURRY, Andrew. Archaeology: The milk revolution. *Nature (News)*. 01 de agosto de 2013. Disponível em: <http://www.nature.com/news/archaeology-the-milk-revolution-1.13471>. Acesso em: 05 de janeiro de 2017.

COUSIN, M. A. Presence and activity of psychrotrophic microorganisms in milk and dairy products: a review. *Journal of Food Protection*®, v. 45, n. 2, p. 172-207, 1982.

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.

DRIESSEN, F. M. Lipases and proteinases in milk. Occourence, heat inactivation and their importance for the keeping quality of milk products. *Dairy Science Abstracts*, v. 46, p. 176, 1984.

FAO, *Milk and Dairy Products in Human Nutrition*. Roma, 2013. 373 p.

FAOSTAT, Food and Agriculture Organization. 2014. Disponível em: <<http://www.fao.org/faostat/en/#data/QP/visualize>> Acesso em: 05 de janeiro de 2017.

FERREIRA, C.L.L.F.; THAMA, S.F.M.S.; NEUMAN, E. Qualidade microbiológica do leite de cabra armazenado a 4°C, tratado termicamente e mantido sob refrigeração por sete dias. *Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes*, Juíz de Fora, v. 47, p. 37-40, 1992.

FLANDRIN, J. L.; MONTANARI, M. *História da Alimentação*. 3 ed. São Paulo: Estação Liberdade, 1998. 885 p.

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. *Armazenamento do leite de cabra cru em diferentes temperaturas por diferentes períodos e influência nas qualidades microbiológica, físico-química e sensorial do produto pasteurizado.* 2006. 87 p. Dissertação (Ciência e tecnologia de Alimentos). Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz, Piracicaba, 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.

FOX, P. F.; McSWEENEY, P. L. H.; COGAN, T. M.; *et al.* *Fundamentals of Cheese Science*. Springer, 2000. 588p.

FURTADO, M. M. *Principais problemas dos queijos: causas e prevenção.* São Paulo. Fonte Comunicação Editora. 200 p. 2005

- JANŠTOVÁ, B.; DRACKOVÁ, M., NAVRÁTILOVÁ, P. *et al.* Freezing point of raw and heat-treated goat milk. *Czech Journal of Animal Science*, v. 52, n. 11, p. 394-398, 2007.
- GALINA, M. A.; MORALES, R., LOPEZ, B. *et al.* Effect of somatic cell count on lactation and soft cheese yield by dairy goats. *Small Ruminant Research*, v. 21, n. 3, p. 251-257, 1996.
- GOMES, V.; DELLA LIBERA, A. M. M. P., MADUREIRA, K. M., *et al.* Influência do estágio de lactação na composição do leite de cabras (*Capra hircus*). *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, v. 41, n. 5, p. 339-342, 2004.
- 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.
- GUO, M.; PARK, Y. W., DIXON, P. H *et al.* Relationship between the yield of cheese (Chevre) and chemical composition of goat milk. *Small Ruminant Research*, v. 52, n. 1, p. 103-107, 2004.
- HAENLEIN, G.F.W. Goat milk in human nutrition. *Small Ruminant Research*, v.51, n.2, p.155-163, 2004.
- HARBUTT, J. (Ed.). *World Cheese Book*. Nova Iorque: DK Publishing, 2009. 352p.
- HATZIMINAOGLOU, Y., BOYAZOGLU, J. The goat ancient civilizations: From the Fertile Crescent to the Aegean Sea. *Small Ruminant Research*, v. 51, p. 123-129, 2004.
- INTERNATIONAL Dairy Federation. Milk: enumeration of somatic cell. *IDF Standard 148A*. Bruxelas: IDF, 1995. 8p.
- INTERNATIONAL Dairy Federation. Whole milk: determination of milkfat, protein and lactose content. Guidance on the operation midinfrared instruments. *IDF Standard 141C*. Bruxelas: IDF, 2000. 8p.
- LE ROUX, Y.; LAURENT, F.; MOUSSAOUI, F. Polymorphonuclear proteolytic activity and milk composition change. *Veterinary Research*, v. 34, n. 5, p. 629-645, 2003.
- LEAL, N. S. *Caracterização físico-química e avaliação sensorial de queijo tipo Boursin de leite de cabras alimentadas com raspa de mandioca*. 2014. 57 f. Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual de São Paulo, Botucatu, 2014.
- LIMA, V. M. G.; KRIEGER, N., SARQUIS, M. I. M., *et al.* Effect of nitrogen and carbon sources on lipase production by *Penicillium aurantiogriseum*. *Food Technology and Biotechnology*, v. 41, n. 2, p. 105-110, 2003.
- LUCEY, J.; KELLY, J. Cheese yield. *International Journal of Dairy Technology*, v. 47, n. 1, p. 1-14, 1994.
- MARCY, J.A.; PRUETT, W.P. Proteolytic microorganisms. In: DOWNS, F.P.; ITO K. *Compendium of methods for the microbiological examination of foods*. 4.ed. Washington DC: American Public Health Association, 2001. p.175-181.
- MELILLI, C. *et al.* An empirical method for prediction of cheese yield, *Journal of Dairy Research*, v.85, n. 10, p. 2699-2704, 2002.

- MESSIAS, J. M.; DA COSTA, B. Z.; DE LIMA, V. M. G., *et al.* Lipases microbianas: Produção, propriedades e aplicações biotecnológicas. *Semina: Ciências Exatas e Tecnológicas*, v. 32, n. 2, p. 213-234, 2011.
- MONTEIRO, V. F. *Rendimento e qualidade do queijo tipo Minas Frescal de cabras alimentadas com raspas de mandioca e alfafa*. 2015. 73 f. Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual de São Paulo, Botucatu, 2015.
- MUIR, D. D. The shelf-life of dairy products: 1. Factors influencing raw milk and fresh products. *International Journal of Dairy Technology*, v. 49, n. 1, p. 24-32, 1996.
- O'CONNELL, A.; KELLY, A. L., TOBIN, J., *et al.* The effect of storage conditions on the composition and functional properties of blended bulk tank milk. *Journal of Dairy Science*, in press, 2016.
- PAAPE, M.J.; WIGGANS, G.R.; BANNERMAN, D.D. *et al.* Monitoring goat and sheep milk somatic cell counts. *Small Ruminant Research*, v. 68, n. 1, p. 114-125, 2007.
- PALOMBA, R.; FORMISANO, G.; ARRICHELLO, A. *et al.* Development of a laboratory technique for the evaluation of protease enzymes activity in goat and sheep milk. *Food Chemistry*, v. 221, p. 1637-1641, 2016.
- PARK Y. W., HAENLEIN G.W. *Handbook of Milk of Non-Bovine Mammals*. Wiley-Blackwell. 2006. 472p.
- PEEREIRA, C. S. *Qualidade do leite de cabra in natura 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
- PINTO, C. L. O. Bactérias psicrotróficas proteolíticas do leite cru refrigerado granelizado destinado à produção do leite UHT. 2004. 97 f. Tese (Doutorado em Microbiologia Agrícola). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa – MG. 2004.
- RIBEIRO, A.C., RIBEIRO, S.D.A. Specialty products made from goat milk. *Small Ruminant Research*, v. 89, n.2, p. 225–233, 2010.
- ROGERS, S. A.; MITCHELL, G. E. The relationship between somatic cell count, composition and manufacturing properties of bulk milk. VI: Cheddar cheese and skim milk yoghurt. *Australian Journal of Dairy Technology*, v. 49, n. 2, p. 70-74, 1994.
- SAMARŽIJA, D.; ZAMBERLIN, Š.; POGAČIĆ, T. Psychrotrophic bacteria and milk and dairy products quality. *Mljekarstvo*, v. 62, n. 2, p. 77-95, 2012.
- SHAH, N. P. Psychrotrophs in milk: a review. *Milchwissenschaft*, 1994.
- SORYAL, K.; BEYENE, F. A., ZENG, S. *et al.* Effect of goat breed and milk composition on yield, sensory quality, fatty acid concentration of soft cheese during lactation. *Small Ruminant Research*, v. 58, n. 3, p. 275-281, 2005.
- WORKSHOP SOBRE PRODUÇÃO DE CAPRINOS NA REGIÃO DA MATA ATLÂNTICA. 2016, Coronel Pacheco. Potencialidades da Exploração de Caprinos Leiteiros no Sudeste do Brasil. Coronel Pacheco: Embrapa Gado de Leite, 2016. 49 p.

ZHANG, H., WANG, J., CHEN, *et al.* Nutritive composition of tarag, the traditional naturally-fermented goat milk in China. *Ecology of Food and Nutrition*, v. 48, n.2, p. 112–122, 2009.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A qualidade do leite de cabra estocado por sete dias sem tratamento térmico, na mesorregião da zona da mata mineira não é ideal. A higiene de ordenha deve ser observada nesta região de forma que os índices de qualidade microbiológica sejam melhorados. Os dados observados demonstram que os produtores deixam de receber pagamento por qualidade, e provavelmente os motivos podem ser facilmente contornados com medidas de higiene de ordenha.

A criação de pequenos laticínios comunitários pode contribuir para que os produtores não tenham que se submeter à logística de armazenamento do leite cru por longos períodos, e também elevar a renda dos produtores envolvidos no laticínio.

Um estudo socioeconômico nas propriedades da mesorregião pode esclarecer os motivos da heterogeneidade encontrada entre os dados de qualidade observados nesta região. Bem como um estudo associando os efeitos da termização do leite nas propriedades com a qualidade do leite estocado por sete dias e o pagamento por qualidade.

A baixa qualidade observada no diagnóstico da mesorregião da zona da mata mineira pode não ter sido refletida no estudo das alterações do leite de cabra armazenado por sete dias em laboratório pois, a campo, o leite mantido nos tanques de expansão sofre bruscas variações de temperatura sempre que há nova ordenha. O leite recém ordenhado adicionado ao tanque também pode apresentar diferente qualidade (principalmente microbiológica) dependendo da higiene de ordenha e da saúde das glândulas mamárias dos animais. Sendo assim, as condições laboratoriais podem minimizar as perdas de qualidade do leite.

Este trabalho não conseguiu determinar o comportamento do CMP no leite de cabra em relação ao tempo, e devido à escassez de dados acerca desta variável nas publicações científicas, sugere-se futuras pesquisas que compreendam o índice de CMP no leite de cabra e a qualidade do mesmo.