

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE  
CAMPUS DE PATOS – PB  
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL  
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA

MONOGRAFIA

**Qualidade do leite de cabra *in natura* processado em mini-usinas do  
médio sertão e cariri paraibano – Estudo comparativo**

Vinicius José Apropriano de Araújo

2008



UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE  
CAMPUS DE PATOS  
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL  
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA

MONOGRAFIA

**Qualidade do leite de cabra *in natura* processado em mini-usinas do  
médio sertão e cariri paraibano – Estudo comparativo**

Vinicius José Apropriano de Araújo  
Graduando

Profa. Dra. Maria das Graças Xavier de Carvalho  
Orientadora

Patos  
Agosto de 2008

FICHA CATALOGRÁFICA DA BIBLIOTECA SETORIAL DO  
CAMPUS DE PATOS - UFCG

A663q  
2008

Araújo, Vinicius José Apropriano de.

Qualidade do leite de cabra *in natura* processado em mini-usinas do médio Sertão e Cariri paraibano - Estudo Comparativo /Vinicius José Apropriano de. Araújo - Patos - PB: CSTR/UFCG, 2008.

62p.

Orientador (a): Maria das Graças Xavier de Carvalho.

Monografia (Graduação em Medicina Veterinária) – Centro de Saúde e Tecnologia Rural, Universidade Federal de Campina Grande.

1 – Leite – inspeção. 2 – Microbiologia – leite. I - Título

CDU: 637.11351.773.137.127

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE  
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL  
CAMPUS DE PATOS – PB  
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA

VINICIUS JOSÉ APROPRIANO DE ARAÚJO  
**Graduando**

Monografia submetida ao Curso de Medicina Veterinária como requisito parcial para obtenção do grau de Médico Veterinário.

APROVADO EM: 13 de agosto de 2008

BANCA EXAMINADORA

---

Profa. *Dra.* Maria das Graças Xavier de Carvalho – UFCG/CSTR

---

Profa. *Msc.* Nara Geanne de Araújo Medeiros – UFCG/CSTR

---

Profa. *Msc.* Claudia Morgana Soares – UFCG/CSTR

*Dedico este trabalho  
a todos aqueles que  
tratam a Medicina  
Veterinária com seu  
devido respeito.*

## AGRADECIMENTOS

Agradeço acima de tudo a Sra. Maria Verônica Apropriano de Araújo, minha mãe, mulher batalhadora, que fez o que estava além de suas forças para que este dia chegasse, *te amo*;

Ao meu pai, Napoleão José Teodoro de Araújo, homem de caráter íntegro, trabalhador e grande teimoso, como todo nordestino calejado pelo trabalho e queimado pelo sol;

Aos meus avós paternos (*in memoriam*), Ambrozina e José Inácio (Seu Zeca) que para mim foram exemplos de caráter, luta e superação na lida diária do camponês nordestino;

A minha namorada, e porque não dizer companheira, Anielle Regina que enfrentou comigo esta caminhada, ora com momentos difíceis, mas, sobretudo com momentos de alegria, sendo meu alicerce e dando-me forças para continuar lutando, muito obrigado;

A meus irmãos Hugo e Vanessa que sempre me estimularam a continuar buscando meus objetivos, a vocês meu muito obrigado;

A Profa. Maria das Graças Xavier por me orientar, não só para a ciência, mas também para a vida, pelas oportunidades concedidas, ajuda prestada, confiança e crédito a mim dado;

A Profa. Verônica Nobre e sua família (Kléber, Rafael, Renata e Raissa) por sua compreensão, ombro amigo, conselhos e ajuda prestada, a vocês o meu muito obrigado;

Aos professores Gildenor (Gil), Danilo, Fernando Zanella, Fernando Borja, Francisco de Assis, Olaf, Otávio Brilhante, Sônia Correia, Bonifácio, Rosângela, Albério, Almir, Adriano, Pedro Izidro, Sara Vilar, Eldinê, Rosane, Riet, Sônia Lima, Norma Lúcia, Carlos Peña, Clebert, Marcelo Sá, Marcia Melo, José Morais, Marcílio, Patrícia e Jocelyn Brandão, Marcílio, Edísio, Cláudia Morgana, Nara Geanne e Sérgio Azevedo pela severidade, amizade, compreensão, paciência e prestatividade;

Aos funcionários da UFCG Damião, Rômulo, Reginaldo (Dal), Gizélia, Socorro, Ana, Lurdinha, Quitéria, Finha, Seu Cuité, Neide, Vera Lúcia, Rosileide, Josimar, Dona Ana, Maria Guedes, Dona Fátima, Siqueira, Dona Ivonete, Dona Dorinha, Marcelo, Pedro, Jaqueline, Jeroan e Alexandre em nome dos quais agradeço aos demais funcionários, mas, sobretudo a Maria Célia (Celinha), Tereza, Galega e Waleska as quais tenho um carinho especial e que muito me incentivaram, a vocês, meu muito obrigado;

A Dona Francinete (Dona Netinha), excelente auxiliar de laboratório (e faz um café como ninguém), que muito contribuiu, não só com esta, mas com todas as pesquisas desenvolvidas pela equipe do laboratório de leite e derivados, a você o meu muito obrigado;

Aos Motoristas Seu Antônio, Seu Duda e Edilânio (Sambudo) que foram muito importantes para execução deste trabalho, muito obrigado pelo serviço bem prestado;

Aos meus amigos Sâmya, Ismael e Sônia Felizardo, que muito prestativos me foram, grandes pessoas, e aos quais tenho muita gratidão, a vocês meu muito obrigado;

Aos companheiros de leite, Eduardo (Leite da Serra), Edilson (Coleite) e Clodoaldo (Sabor do Sertão) o meu muito obrigado por tudo;

As “meninas de Graça”: Iara, Luciana, Sueli, Júlia, Marta Glícia (*in memorian*) e agora Maria do Carmo, muito obrigado por tudo que me foi ensinado e pelo privilégio de trabalhar com vocês;

Ao meu amigo de ciência, Lucas Villa Real, pelas discussões, reflexões, companheirismo e horas de estudo, além da amizade e pela mão amiga, a você meu caro, muito obrigado;

Aos meus antigos e atuais vizinhos: Maria das Dores (Dôra), Luana, Valdeísa, Valdelíria, Inácio de Gelo, Isaura, Francinete, Cleudo, Daniele, Berlândia, Valesca, Lula, Branco, Geraldo, Fátima, Zé Mamede, Dona Socorro, Seu Ezequiel, Emanuel, Rafaela, Michele, Lucas e Lívia por toda a ajuda prestada e pela amizade;

Aos meus colegas de morada Felipy Marinho, Hyago Ramalho, Gilmar Nascimento, Eduardo Marques e José Bernardo, que ainda estão cursando, e a Silvano Higino, Vasconcelo Salustiano e Ricardo Linhares, estes já formados, por todos os momentos, sejam de descontração ou desavenças, afinal somos humanos, a vocês meu muito obrigado;

Aos médicos veterinários Jackson e Dalva pelo exemplo de profissionalismo;

Aos meus eternos amigos de Soledade – PB, Ricardo, Edmércia e Emanuela que sempre torceram por mim e muito me ajudaram até aqui;

A meus tios e tias, a minha segunda mãe Lurdinha, a Graça Tomé, a Joca Tomé que viveram os percalços desta caminhada e contribuíram de uma forma ou de outra para que este dia chegasse;

Aos muitos motoristas que me deram carona no decorrer desta jornada;

A minha turma, pelas pedras no caminho, que só vieram a me tornar mais forte e cada vez mais sedento de saber e justiça;

E por fim, ao Brasil, por permitir que um filho de agricultor possa ter um curso superior.

**“Quem não luta pelo que quer não merece o que deseja.”**  
**Etrom – Boxeador**



## SUMÁRIO

	Pág.
LISTA DE FIGURAS.....	9
LISTA DE QUADROS.....	10
LISTA DE TABELAS.....	11
RESUMO.....	12
ABSTRACT.....	13
1 – INTRODUÇÃO.....	14
2 – REVISÃO DE LITERATURA.....	16
2.1 – A criação de cabras no mundo, no Brasil, no Nordeste e na Paraíba.....	16
2.2 – O leite de cabra e sua importância.....	17
2.3 – Características físico-químicas do leite de cabra.....	18
2.4 – Características microbiológicas do leite de cabra.....	19
2.4.1 – Bactérias mesófilas aerófilas.....	20
2.4.2 – Coliformes 30/35°C, coliformes 45°C e <i>Escherichia coli</i> .....	20
2.4.2.1 – Gênero <i>Escherichia</i> .....	21
2.5 – Resíduos de antibióticos no leite.....	22
2.5.1 – Causas de contaminação do leite por resíduos de antibióticos.....	23
2.5.2 – Conseqüências dos resíduos de antibióticos em leites e derivados.....	24
2.5.2.1 – Econômica.....	24
2.5.2.2 – Saúde pública.....	25
3 – MATERIAL E MÉTODOS.....	27
3.1 – Período de execução e seleção dos produtores.....	27
3.2 – Coleta e número de amostras.....	27
3.3 – Local de análise das amostras.....	28

3.4 – Análises laboratoriais.....	28
3.4.1 – Análises microbiológicas do leite.....	28
3.4.1.1 – Contagem total de mesófilos.....	28
3.4.1.2 – Número mais provável de coliformes totais.....	29
3.4.1.3 – Número mais provável de coliformes termotolerantes.....	30
3.4.1.4 – Determinação e isolamento de <i>Escherichia coli</i> .....	31
3.4.1.4.1 – Provas bioquímicas do IMViC.....	31
3.4.1.4.2 – Ágar TSI (Triple Sugar Iron).....	33
3.4.1.4.3 – Ágar EMB Levine.....	35
3.4.2 – Análises físico-químicas do leite.....	36
3.4.3 – Análises biológicas.....	36
3.4.3.1 – Técnica empregada.....	36
3.4.3.2 – Pesquisa de identificação de resíduos de antibióticos.....	37
3.5 – Análise estatística.....	38
4 – RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	39
4.1 – Parâmetros físico-químicos.....	39
4.2 – Parâmetros microbiológicos.....	40
4.3 – Resíduos de antibióticos.....	43
5 – CONCLUSÃO.....	43
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	44
ANEXOS.....	51

## LISTA DE FIGURAS

	Pág.
<b>Figura 1</b> – Mapa político-regional da Paraíba destacando-se os municípios de Passagem e Prata, localizados no médio sertão e cariri paraibano, respectivamente.	27
<b>Figura 2</b> – Coleta realizada do latão do produtor. Prata - PB, fevereiro de 2008.	27
<b>Figura 3</b> – Placas com plate count agar (PCA) após 48 horas a $35\pm 1^{\circ}\text{C}$ , mostrando diferentes níveis de contaminação microbiana por mesófilos, em amostras diferentes de mesma diluição ( $10^8$ ).	29
<b>Figura 4</b> – Caldo verde brilhante bile com 2% de lactose. Da esquerda para a direita, observa-se tubo com amostra positiva, tubo com crescimento mais negativo, tubo não inoculado.	30
<b>Figura 5</b> – Bateria IMViC positiva para <i>Escherichia coli</i> . Da esquerda para a direita: caldo verde brilhante bile 2% lactose, Indol+, TSI característico, citrato-, VP-, VM+ e meio VM-VP sem reativos de Barrit.	33
<b>Figura 6</b> – Reações do ágar TSI de acordo com a fermentação dos carboidratos presentes ou sua produção de $\text{H}_2\text{S}$ . 1-Estéril; 2-formação de $\text{H}_2\text{S}$ se fermentação de carboidrato; 3-Fermentação de glicose; 4-Fermentação de glicose e sacarose + produção de $\text{H}_2\text{S}$ ; 5-Fermentação de glicose e lactose com ruptura do meio; 6-Idem item 5, porém mais brando; 7-Fermentação de glicose e sacarose.	35
<b>Figura 7</b> – Placas de ágar EMB Levine contendo colônias isoladas típicas de <i>E. coli</i> , observa-se colônias mucóides, com bordos verde metálico e centro negro, lembrando os olhos do tucano, e borrões verde metálico sob o meio.	36
<b>Figura 8</b> – Captação do inóculo com 0,1mL de amostra e sua deposição na ampola do Delvotest <sup>®</sup> .	37
<b>Figura 9</b> – Ampolas contendo o inóculo de 0,1mL de amostra e sua acomodação no aparelho de banho-maria a $64\pm 0,5^{\circ}\text{C}$ .	37
<b>Figura 10</b> – Ampola negativa (esq.) e positiva (dir.).	38

## LISTA DE QUADROS

	<b>Pág.</b>
<b>Quadro 1</b> – Requisitos físico-químicos para leite de cabra de acordo com a Instrução Normativa Nº 37 de 08 de novembro de 2000.	<b>18</b>
<b>Quadro 2</b> – Tempo de persistência da eliminação de antimicrobianos pelo leite.	<b>24</b>
<b>Quadro 3</b> – Efeito do tratamento térmico, tempo de exposição e taxa de inativação de alguns resíduos de antibióticos quando eliminados no leite.	<b>26</b>
<b>Quadro 4</b> – Limites de detecção de resíduos de antibióticos do Delvotest <sup>®</sup> , e os limites máximos preconizados pelos Ministérios da Agricultura e da Saúde.	<b>38</b>

## LISTA DE TABELAS

	Pág.
<b>Tabela 1</b> – Análise de variância pelo teste de Tukey ( $X^2$ ) com significância em nível de 5% dos parâmetros físico-químicos* das mini-usinas A e B.	<b>39</b>
<b>Tabela 2</b> – Comparação dos parâmetros microbiológicos entre as mini-usinas A e B.	<b>41</b>

## RESUMO

**ARAÚJO, VINICIUS JOSÉ APROPRIANO DE. Qualidade do leite de cabras processado em mini-usinas do médio-sertão e cariri paraibano – estudo comparativo** Patos, UFCG. 2008. 62p. (Monografia submetida ao Curso de Medicina Veterinária como requisito parcial para obtenção do grau de **Médico Veterinário**)

Este trabalho teve como objetivo determinar e comparar a qualidade do leite de cabras produzido no médio sertão e cariri paraibano comparando-os entre si. Utilizou-se os parâmetros microbiológicos (contagem total de mesófilos, coliformes totais, coliformes termotolerantes e presença de *E. coli*), físico-químicos (acidez em graus Dornic, densidade, teor do gordura e extratos secos total e desengordurado) e biológicos (detecção de resíduos de antibióticos) para avaliar a sua qualidade. Observou-se que a qualidade microbiológica das mini-usinas A e B obtiveram médias para contagem de mesófilos, coliformes totais e termotolerantes de  $2,4 \cdot 10^9$  UFC/mL e  $8,5 \cdot 10^9$  UFC/mL;  $1,9 \cdot 10^4$  NMP/mL e  $4,4 \cdot 10^4$  NMP/mL;  $1,1 \cdot 10^2$  e  $1,5 \cdot 10^3$  respectivamente. A prevalência de *E. coli* foi de 2% na usina A e 0,67% para a B. Os parâmetros físico-químicos médios encontrados foram respectivamente para a usina A e B: acidez 16,66°D e 15,14°D; densidade 1026,82 e 1028,43; gordura 4,04% e 3,95%; extrato seco total 10,68% e 12,11%; extrato seco desengordurado 6,63% e 8,16%. Os resíduos de antibióticos foram de 21,3% e 24% para a A e B, respectivamente. Ambas as mini-usinas apresentaram qualidade semelhante e necessitam se empenhar em melhorar a qualidade do produto recebido.

**Palavras-chave:** Leite de cabra *Escherichia coli* Qualidade

## ABSTRACT

**ARAÚJO, VINICIUS JOSÉ APROPRIANO DE. Quality of *in natura* goat milk processed in mini-plants of médio sertão and cariri paraibano – comparative study.** Patos, UFCG. 2008. 62p. (Monograph submitted to the Course of Veterinary Medicine as partial requirement for obtaining of the grade of **Veterinarian Doctor**)

This work had as objective determines and compare the quality of goat milk produced on the middle sertão and cariri paraibano comparing them to each other. It was used the microbiologics parameters (total count of mesophilics, total coliforms, termotolerants coliforms and presence of *E. coli*), physical-chemical (acidity in degrees Dornic, density, tenor of the fat and extracts dry total and degreased) and biological (detection of antibiotics residues) for determination of your quality. It was observed that the microbiologic quality the mini-plant A and B obtained average for mesophilics count, total coliforms and termotolerants of  $2,4 \cdot 10^9$  UCF/mL and  $8,5 \cdot 10^9$  UCF/mL;  $1,9 \cdot 10^4$  MPN/mL and  $4,4 \cdot 10^4$  MPN/mL;  $1,1 \cdot 10^2$  and  $1,5 \cdot 10^3$  respectively. The *E. coli* prevalence was of 2% in the plant A and 0,67% for to B. The found physical-chemical parameters went respectively to the plant A and B: acidity 16,66°D and 15,14°D; density 1026,82 and 1028,43; fat 4,04% and 3,95%; extract total dry 10,68% and 12,11%; extract degreased dry 6,63% and 8,16%. The antibiotics residues were of 21,3% and 24% for to A and B respectively. Like this, both mini-plants presented similar quality and they need if it pawns in improving the quality of the received product.

**Key words:** Goat milk *Escherichia coli* Quality

## 1 – INTRODUÇÃO

A criação de cabras encontra-se difundida em todo o mundo, graças às potencialidades destes animais, que desenvolveram características peculiares como capacidade de suportar períodos de estiagem, alimentar-se de espécies forrageiras nativas e sofrerem pouca influência das condições climáticas sobre a produção. No Brasil, a caprinocultura sempre foi uma fonte de renda e de alternativa nutricional para a zona rural, em particular na região Nordeste que tem o maior rebanho do país, porém ainda não detém o de melhor qualidade.

Um dos principais produtos explorados desta criação é o leite, que por conceito, é o produto oriundo da ordenha completa, ininterrupta, em condições de higiene, de animais sadios da espécie caprina, bem alimentados e descansados (BRASIL, 2000). Porém a produção de leite de cabras está subestimada, pois a maior parte do produto é obtido em pequenas propriedades para consumo caseiro e não entra em estatísticas oficiais (HAENLEIN, 2004).

Segundo MEDEIROS *et al.*, (1994) *apud* SANTOS (2005), existe um grande interesse na produção de leite de cabra, em virtude do alto valor nutritivo e níveis de qualidade dietética, que despertaram a iniciativa governamental para a geração de programas que elevem o nível nutricional da dieta familiar das populações de baixa renda, melhore a renda dos agricultores familiares e proporcione a formação de mercados consumidores do leite de cabra e seus derivados nas áreas urbanas.

As criações de caprinos leiteiros no Nordeste brasileiro, em particular nos Estados do Rio Grande do Norte, Paraíba e Pernambuco têm recebido importante incremento no número de criatórios e na qualidade dos rebanhos, desde a implantação do Programa do Leite do Governo Federal em parceria com Governos estaduais e prefeituras. Constituído basicamente por agricultores familiares.

Na região do Médio Sertão Paraibano, onde se localiza o curso de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), a produção de leite de caprinos é uma atividade que vem fortalecendo-se, pois recebe a assistência técnica de diversas entidades, em particular SEBRAE e UFCG através dos cursos de graduação e pós-graduação com linhas de pesquisa enfocando esta espécie. As usinas de beneficiamento de leite, tanto bovino quanto caprino ganharam espaço, mercado e confiança dos produtores e da população local, sendo fontes de escoamento certo da produção leiteira e geralmente com gestão social descentralizada através do trabalho das associações comunitárias.



Esses estabelecimentos, apesar de captarem esta matéria-prima, funcionam, na maioria das vezes, abaixo de sua capacidade diária de processamento, devido principalmente a não adoção de práticas de manejos adequados (sanitário, alimentar e reprodutivo) nas criações existentes, como também o não direcionamento de ações das instituições que trabalham a pesquisa, o ensino e a extensão rural voltadas ao fortalecimento da agricultura familiar. A escassez e/ou falta de políticas públicas apropriadas que favoreça direta ou indiretamente a agricultura familiar de todo o país, principalmente a do nordeste brasileiro é outro elemento importante que tem contribuído para a desorganização da cadeia produtiva da caprinocultura.

A globalização de mercados, em função da grande e variada oferta de produtos lácteos importados, induziu o consumidor brasileiro a tornar-se mais exigente em relação à qualidade dos produtos oferecidos. A indústria laticinista, por sua vez, tem se modernizado e exigido do produtor um leite de melhor qualidade, na tentativa de tornar-se mais competitiva.

A presença de microrganismos patogênicos e o uso indiscriminado de antimicrobianos na terapia cotidiana dos rebanhos sem orientação técnica, bem como o aparecimento de enfermidades que lesam a glândula mamária, estes aliados aos fatores acima citados, constituem os pontos críticos que interferem na produtividade e qualidade do produto e de seus derivados nas unidades de produção caprina da agricultura familiar.

Por outro lado, a presença de resíduos de antimicrobianos no leite além de representar um risco à saúde da população que consome este alimento (em sua maioria crianças e idosos) e de causar prejuízo para a indústria de laticínio. Também denuncia uma cadeia produtiva deficiente, como por exemplo: existência de doenças no rebanho, erros de manejo, falta de esclarecimento do produtor, deficiência em assistência técnica, entre outros problemas. Neste caso particular, destaca-se o fato de produtores de leite de cabra dos municípios que depende, quase exclusivamente, da venda do leite para garantir a sobrevivência das famílias.

Desta forma este trabalho teve como objetivo determinar e comparar a qualidade do leite de cabra processado pelas mini-usinas dos municípios de Passagem no médio sertão e Prata no cariri paraibano, nos aspectos físico-químicos, microbiológicos (dentre eles o isolamento de *Escherichia coli*) e detecção de resíduos de antibióticos.

## 2 – REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 – A criação de cabras no mundo, no Brasil, no Nordeste e na Paraíba

Os pequenos ruminantes, com destaque para a espécie caprina, possuem atributos especiais, resultantes do seu processo de evolução, quando desenvolveram características anatômicas, fisiológicas e comportamentais que lhe conferem um papel importante dentro do sistema de produção familiar nas regiões de clima semi-árido. Dentre estas características podem ser destacadas: sua capacidade de aproveitar a vegetação nativa e de caminhar longas distâncias, curto intervalo entre partos, alta prolificidade, carcaças pequenas que podem ser vendidas ou consumidas em um curto período (fator importante em regiões onde não existe refrigerador para conservar os alimentos) sendo um rebanho de fácil manejo podendo ser cuidado por pessoas jovens ou idosas da família (LEBBIE, 2004).

As características biológicas de adaptabilidade dos caprinos possibilitam a exploração de uma diversidade de produtos que são valorizados no mundo inteiro, como: carne, leite, esterco, pele, pêlo dentre outros. Tais produtos podem cumprir o papel de geração de renda e contribuir direta ou indiretamente para a garantia da segurança alimentar da família. Diretamente porque a carne e o leite podem ser as principais fontes de proteína da dieta das famílias e indiretamente na fertilização do solo, possibilitando o aumento da produção agrícola. Na China, o leite de cabra é utilizado na medicina tradicional chinesa e o esterco quando utilizado para fertilizar o solo pode aumentar a produtividade de grãos entre 15% e 30% (SINN *et al.*, 1999).

A criação de pequenos ruminantes nas unidades de produção familiar tem também, como papel social, contribuir para uma maior relação entre os membros da família, visto que, podem ser manejados por jovens e adultos. No entanto, historicamente, tem sido a mulher quem mais se envolve com esta atividade. A mulher que normalmente trabalha de 12 a 16 horas por dia desenvolvendo atividades domésticas e contribuindo na agricultura, nem sempre têm seu trabalho reconhecido como atividade importante para a segurança alimentar e geração de renda para a família. É através da criação de caprinos e ovinos que seu trabalho passa a ser reconhecido como atividade geradora de alimento e renda (SINN *et al.*, 1999).

Pelas potencialidades acima citadas, esta atividade tem sido incorporada nas políticas públicas de cunho social que visam à melhoria de condições de vida de famílias que

habitam regiões pobres. Na Ásia, a criação de pequenos ruminantes faz parte de programa para desenvolvimento de pessoas na China, Coréia, Tailândia, Índia, Sri Lanka, Nepal, Bangladesh e Vietnam (PELANT *et al.*, 1999).

Mesmo com todo esse potencial, existe ainda a necessidade do melhor aproveitamento da caprinocultura, visto que, segundo a FAO (2000) *apud* CORDEIRO (2003), o Brasil com cerca de 12,6 milhões de cabeças de caprinos, possui o 11º maior rebanho do mundo e contribui com apenas 1,3 % da produção de leite de cabra. As estimativas da produção brasileira de leite de cabra variam de 6,10 a 7,92 milhões de litros/ano, com uma produtividade em torno de 30 quilos de leite/cabra/ano. Enquanto que a demanda potencial estimada é de 12 a 15,84 milhões de litros/ano (SIMPLÍCIO & WANDER, 2003).

No Brasil, mais especificamente no estado da Paraíba, existe o “Programa Leite da Paraíba”, apoiado pelo programa do Governo Federal, “Fome Zero”, que atende a 223 municípios paraibanos, onde são beneficiadas 120 mil famílias. O programa compra o leite dos pequenos produtores com produção diária de 10 a 50 litros/dia, onde cada produtor pode entregar na mini-usina até 20 litros de leite por dia (GOVERNO DA PARAÍBA, 2008). Em 2008 este volume já soma cerca de 18.000 litros de leite de cabra por dia (SEBRAE, 2008)

## **2.2 – O leite de cabra e sua importância**

A maior parte do leite de cabra (93% a 95%) é consumida sob a forma de leite fluido. Já os derivados lácteos do leite de cabra ainda representam uma pequena porcentagem do consumo total, sendo 3,0% a 4,0% em forma de leite em pó e 2% a 3% como queijos, doces, iogurtes, sorvetes e cosméticos (SIMPLÍCIO & WANDER, 2003).

Segundo ALVES e PINHEIRO (2003) *apud* OLIVEIRA (2005), é amplamente conhecido no meio científico o valor nutricional do leite de cabra e sua importância na alimentação das populações, notadamente, das crianças e pessoas idosas. Recomendado pelos médicos e nutricionistas para ser consumido por crianças alérgicas ao leite de vaca por possuir pequena quantidade e estrutura diferente da proteína  $\alpha$  caseína, responsável pela alergia ao leite de vaca, ou ainda, como substituto do leite materno na falta deste.

Composto quimicamente em média de 87% de água; 3,2% de gordura rica em ácidos graxos de cadeia curta, possibilitando alta digestibilidade; 28,18g/1000g de proteínas (destacando a caseína, e suas frações  $\alpha$  e  $\beta$  além de  $\alpha$  e  $\beta$  lactoalbumina.); 0,8% de sais,

ausência de  $\beta$ -caroteno, (responsável pela cor amarela do leite de vaca), apresenta ainda enzimas como lactoperoxidase, lipase, catalase, fosfatase e redutase e vitaminas lipossolúveis e hidrossolúveis (OLIVEIRA, 2005).

### 2.3 – Características físico-químicas do leite de cabra

A composição físico-química do leite de cabra, a exemplo do que acontece com o leite de vaca, varia em função de múltiplos fatores, entre os quais destacam-se a raça, período de lactação, estação do ano, alimentação, idade, quantidade de leite produzido e a fisiologia individual do animal (BRENDHAUG & ABRAHAMSEM, 1986; GUIMARÃES *et al.*, 1989; FURTADO & WOLSCHOON-POMBO, 1995).

Para que o valor calórico e nutritivo do leite seja mantido, se faz necessário produzi-lo, pasteurizá-lo e comercializá-lo em condições higiênicas sanitárias que não permitam veicular microrganismos patogênicos, sem, no entanto, alterar as características físico-químicas que lhe são próprias (BRASIL, 2003). O quadro 1 mostra os requisitos mínimos para os parâmetros físico-químicos do leite de cabra de acordo com a legislação vigente.

**Quadro 1** – Requisitos físico-químicos para leite de cabra de acordo com a Instrução Normativa Nº 37 de 08 de novembro de 2000.

Requisitos	Leite Integral	Leite Semi-Desnatado	Leite Desnatado	Método Analítico Referencial
Gordura, % m/m <sup>1</sup>	Teor Original	0,6 a 2,9	Máx. 0,5	FIL 1 C: 1987
Acidez, em % ácido láctico	0,13 a 0,18 para todas as variedades <sup>2</sup>			LANARA/MA, 1981
Sólidos Não-Gordurosos, % m/m	Mínimo 8,20 para todas as variedades			DF 21 B: 1987
Densidade, 15/15°C	1,0280 a 1,0340°C para todas as variedades			LANARA/MA, 1981
Índice Crioscópico, °H	-0,550 a -0,585°H para todas as variedades			IDF 108 A: 1986
Proteína Total (N x 6,38) % m/m	Mínimo 2,8 para todas as variedades			IDF 20 B: 1993
Lactose % m/v	Mínimo 4,3 para todas as variedades			Lane Eynon ou Cloramina T
Cinzas, % m/v	Mínimo 0,70 para todas as variedades			LANARA/MA, 1981

Fonte: (BRASIL, 2000).

<sup>1</sup> Serão admitidos valores inferiores a 2,9% m/m para as variedades integral e semi-desnatada, mediante comprovação de que o teor médio de gordura de um determinado rebanho não atinge esse nível.

<sup>2</sup> A faixa normal para a acidez titulável de leite de cabra cru congelado variará de 0,11% a 0,18%, expressa em ácido láctico.

O controle higiênico-sanitário do leite de cabra influi diretamente no produto in natura e beneficiado, pois a sua produção sob condições inadequadas de higiene o torna veículo de transmissão de doenças à população consumidora, além de ser um fator deletério na elaboração de produtos de boa qualidade (FURTADO, 1981; DARTON-HILL *et al.*, 1987; CARVALHO, 1998; DELGADO-PERTINEZ *et al.*, 2003).

Nos processos de aquecimento do leite de cabra, visando à sua pasteurização ou esterilização, ocorre uma série de alterações físico-químicas e bioquímicas (TEIXEIRA NETO & VITALI, 1995). Estas alterações afetam fundamentalmente o equilíbrio das substâncias nitrogenadas e os sais minerais e conteúdo vitamínico (VEISSEYRE, 1988).

A carência de aplicação de tecnologias adequadas, somada a não utilização de padrões de controle higiênico-sanitário do leite de cabra e seus derivados no Brasil, têm-se constituído como os principais obstáculos ao desenvolvimento do setor de laticínio especializados em produtos caprinos. O desenvolvimento deste setor produtivo encontra-se vinculado à melhoria da estrutura de comercialização e à aplicação de tecnologias viáveis aos padrões de qualidade exigidos (GUIMARÃES & CORDEIRO, 2003; SIMPLÍCIO & WANDER, 2003).

#### **2.4 – Características microbiológicas do leite de cabra**

A Organização Mundial de Saúde (OMS) comprovou a existência de sete enfermidades virais e dezesseis bacterianas veiculadas pelo leite (BRANDÃO, 1994).

Segundo BRASIL (2000), o leite de cabra quando cru não deve ter uma carga de mesófilos superior a  $5 \cdot 10^5$  UFC/mL (quinhentas mil unidades formadoras de colônias por mililitro), já quando pasteurizado este produto na indústria deve portar uma carga de  $1 \cdot 10^4$  até  $5 \cdot 10^4$  UFC/mL (dez mil a cinquenta mil unidades formadoras de colônias por mililitro).

No que diz respeito à presença de coliformes 30/35°C admite-se uma carga máxima quando pasteurizado de 4 NMP/mL, já para os coliformes 45°C este limite cai para apenas 1 NMP/mL. Não havendo menção a respeito da quantidade de coliformes no leite cru.

Apesar das considerações anteriormente citadas, ainda são escassos, na literatura nacional, dados relativos às análises microbiológicas e aos níveis padronizados de microrganismos, aceitáveis no leite de cabra cru ou processado.

#### 2.4.1 – Bactérias mesófilas aerófilas

As bactérias mesófilas são constituídas por espécies da família *Enterobacteriaceae*, e dos gêneros *Bacillus*, *Clostridium*, *Corynebacterium*, *Streptococcus* e *Staphylococcus*. Sua importância em alimentos se dá principalmente devido a sua capacidade de produzir toxinas e estas ao serem ingeridas provocarem sobretudo efeitos gastroentéricos. A contagem padrão em placa (P.C.A.) tem sido usada como indicador da qualidade higiênica dos alimentos, fornecendo também idéia sobre seu tempo útil de conservação (SILVA *et al.*, 1997). Sua presença em grande número indica matéria-prima excessivamente contaminada, limpeza e desinfecção de superfícies inadequadas, higiene insuficiente na produção e condições inapropriadas de tempo e temperatura durante a produção ou conservação dos alimentos (SIQUEIRA, 1995).

#### 2.4.2 – Coliformes 30/35°C, coliformes 45°C e *Escherichia coli*

Coliforme é o termo geral para bastões Gram-negativos que habitam o trato intestinal do homem e de outros animais, sem no entanto, causar doenças, exceto *Edwardsiella* e algumas cepas de *E. coli* que ao se instalarem são patogênicas (DAVIS *et al.*, 1980).

O gênero *Escherichia*, juntamente com os gêneros *Enterobacter*, *Citrobacter* e *Klebsiella*, formam o grupo denominado coliforme sendo que todos pertencem a família *Enterobacteriaceae* (FRAZIER, 1976; SILVA & JUNQUEIRA, 1995).

Os membros da família *Enterobacteriaceae* são usualmente bacilos Gram-negativos, relativamente pequenos (2µm-3µm x 0,4µm-0,6µm), móveis com flagelos peritríquios ou imóveis, podem ser capsulados ou não, não são formadores de esporos, são aeróbios ou anaeróbios facultativos, e crescem prontamente em meios de cultura simples, tem metabolismo respiratório e fermentativo, todos fermentam a lactose (exceto *Salmonella* e *Shigella*), são catalase positivos (exceto um sorotipo de *Shigella*), oxidase negativos e reduzem nitratos a nitritos. (BUCHANAN & GIBBONS, 1975; DAVIS *et al.*, 1980; BIER, 1981; MAHON & MANUSELIS Jr, 1995).

O habitat das bactérias que pertencem ao grupo coliforme é o trato intestinal do homem e de outros animais (PARDI *et al.*, 1995; VANDERZANT & SPLITTSTOESSER, 1996), entretanto, espécies do gênero *Enterobacter*, *Citrobacter* e *Klebsiella* podem persistir por longos períodos e se multiplicarem em ambientes não fecais. O índice de coliformes totais é utilizado para avaliar as condições higiênicas (DELAZARI, 1998), sendo que altas contagens significam contaminação pós-processamento, limpezas e

sanificações deficientes, tratamentos térmicos ineficientes ou multiplicação durante o processamento ou estocagem.

O índice de coliformes fecais empregado como indicador de contaminação fecal, ou seja, de condições higiênico-sanitárias deficientes levando-se em conta que a população deste grupo é constituída de uma alta população de *E. coli* (PARDI *et al.*, 1995), pode indicar outros patógenos internos (SIQUEIRA, 1995).

A denominação coliformes fecais foi utilizada durante muitos anos para descrever coliformes que fermentavam a lactose com produção de gás a 44,5°C. *Escherichia coli* e algumas cepas de *Klebsiella* e *Enterobacter* apresentam esta característica de termotolerância, porém, somente *E. coli* tem como habitat primário o intestino humano e de animais. *Klebsiella* e *Enterobacter* podem ser encontrados em outros ambientes, como vegetais e solo, onde persistem por tempo superior ao das bactérias patogênicas de origem intestinal. Logo, não é correta a relação direta da presença de coliformes termotolerantes em alimentos e água com contaminação de origem fecal, o que levou à necessidade de modificar, na legislação brasileira, a denominação coliformes fecais para coliformes 45°C. O Ministério da Saúde, através da Resolução Nº 12, de 2 de janeiro de 2001, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) adotou a denominação coliformes 45°C, considerando os padrões “coliformes de origem fecal” e “coliformes termotolerantes” como equivalentes a coliformes 45°C (SILVA *et al.*, 2006; ANVISA, 2001).

A identificação se faz mediante dois métodos: o uso de meios de cultivo seletivos/diferenciais onde se observa o crescimento característico e/ou comportamento bioquímico ou provas sorológicas (MAHON & MANUSELIS Jr, 1995). Dentre esses meios podemos destacar o ágar TSI (Triple Sugar Iron ou em vernáculo tríplice açúcar e ferro) que possui em sua composição a lactose, sacarose e glicose como carboidratos, uma fonte de enxofre o tiosulfato de sódio e um indicador, o vermelho de fenol, produzindo diversas reações de fermentação de carboidratos e produção de ácido sulfídrico H<sub>2</sub>S (BIER, 1981) ou o ágar EMB segundo Levine cuja a reação verde metálica é única da *E. coli* (MERCK, 2000).

#### **2.4.2.1 – Gênero *Escherichia***

O gênero *Escherichia*, assim denominado em homenagem a Theodor von Escherich que em 1885 descreveu o *Bacterium coli commune*<sup>3</sup>, é formado por bastões finos de 1,1-

---

<sup>3</sup> Microrganismo esse que em 1919 fora chamado de *Escherichia coli*.

1,5µm por 2,0-6,0µm quando frescos ou metade disso se desidratados. Crescem prontamente em meios nutritivos simples, no ágar nutriente as colônias são lisas, pouco convexas, de superfície úmida, brilhantes, de bordos regulares, cinza e facilmente emulsificada em solução salina, ou podem ser ásperas, secas e não se dissolverem em salina, podendo ocorrer todas as formas entre esses dois extremos. Colônias mucóides também podem ocorrer (BUCHANAN & GIBBONS, 1975).

A *Escherichia coli* é a espécie mais significativa do gênero, sendo reconhecida como um patógeno em potencial para os humanos, é um bacilo Gram negativo comumente isolado da flora do cólon daí *coli* (MAHON & MANUSELIS Jr, 1995). Muitas apresentam cápsulas ou estruturas similares menos desenvolvidas, possui ainda fímbrias ou *pili* que são fortemente antigênicos e responsáveis por grande parte das doenças relacionadas a essa bactéria (BUCHANAN & GIBBONS, 1975).

Para BIER (1981) e MAHON & MANUSELIS Jr (1995) este microrganismo apresenta características bioquímicas próprias onde destaca-se a fermentação da lactose, sacarose, glicose e dextrose, não produção de ácido sulfídrico (H<sub>2</sub>S), e mediante ao conjunto bioquímico do IMViC<sup>4</sup> comporta-se como ++ --, e no ágar EMB Levine forma colônias características de cor verde metálica com centro negro, já no ágar McConkey se manifesta com colônias de coloração rósea clara e de tamanho pequeno

## 2.5 – Resíduos de antibióticos no leite

Os principais fatores responsáveis pela presença de resíduos de antibióticos no leite são: o uso difundido destas drogas no tratamento de doenças infecciosas no rebanho leiteiro; sua utilização na alimentação animal, como suplemento de dietas; a deficiência na cadeia produtiva e tecnológica; falhas na assistência técnica e fiscalização dos órgãos responsáveis; o desconhecimento por parte dos produtores dos perigos e prejuízos que podem ocorrer; além da adição proposital de drogas para encobrir a deficiência na qualidade higiênica do leite e aumentar seu tempo de vida útil (BRASIL, 1991/1992).

A presença de resíduos de antibióticos no leite de consumo resulta em grande preocupação tanto para a indústria laticinista por provocar prejuízos econômicos, como para saúde pública, pelo risco de provocar reações alérgicas, choques anafiláticos, má formação fetal, além de indução a resistência bacteriana (BRASIL, 1991/1992).

---

<sup>4</sup> Designação que refere-se as provas bioquímicas do Indol, Metil red (vermelho de metila, em vernáculo), Voges-Proskauer e Citrato, o i do meio da expressão é apenas eufônico.



Dados os riscos dos resíduos de antimicrobianos, contaminações, alterações da composição e enfermidades do rebanho tanto para saúde pública como para as indústrias laticinistas e visto que os consumidores, dentre eles muitas crianças, beneficiados pelo “Programa Leite da Paraíba” (GOVERNO DA PARAÍBA, 2008), a determinação dos níveis de resíduos se torna importante pela possibilidade de identificar os criadores que realizam essa prática.

### **2.5.1 – Causas de contaminação do leite por resíduos de antibióticos**

As infecções causadas por microrganismos são os principais fatores que levam a utilização de antibióticos no rebanho leiteiro, podendo ser resultantes dos seguintes fatores: deficiência de higienização, condições ambientais, utensílios contaminados e doenças do rebanho e do homem. Esses fatores podem apresentar impacto negativo sobre a saúde dos animais, sobretudo da glândula mamária (SOUZA & BENEDET, 1988).

Para CERQUEIRA (2003) a mastite é responsável por 80 a 90% da presença de resíduos de antibióticos no leite. As razões para a presença de resíduos incluem a não observância do período de carência do antibiótico; mistura acidental ou proposital do leite de animais não tratados com o leite de animais tratados; excreção mais prolongada do antibiótico do que a indicada pela bula; parições antes do período esperado; equipamentos de ordenha contaminados; além de mitos por parte dos produtores, de que, se diluir o leite de animais tratados no tanque contendo um maior volume, não haverá riscos.

As bases farmacológicas mais utilizadas no tratamento da mastite caprina são a gentamicina, cloranfenicol, cefalosporina, penicilina G, novobiocina, estreptomicina, penicilina associada a estreptomicina, tetraciclina, oxitetraciclina, nitrofurantoína e neomicina (MOTA, 2003).

A utilização de drogas antimicrobianas na alimentação animal, como aditivos na água e ração visando promover o ganho de peso e melhora na conversão alimentar, também tem contribuído para a presença de resíduos de antimicrobianos no leite (BORGES *et al.*, 2000).

Segundo COSTA (1996), a quantidade e persistência de resíduos de antimicrobianos no leite dependem de diversos fatores: individualidade do animal, veículo, intervalo entre o tratamento e a ordenha, absorção, tipo de droga utilizada e sua concentração, estágio de lactação e volume de leite produzido, intensidade de infecção, excipiente solubilidade, dose e via de administração.

No quadro 2 observa-se a persistência de eliminação de resíduos de antibióticos pelo leite, de acordo com as vias de administração utilizadas no tratamento do animal.

**Quadro 2** – Tempo de persistência da eliminação de antimicrobianos pelo leite.

<b>Vias de administração</b>	<b>Tempo de persistência (horas)</b>
Oral	86
Intramuscular	72-96
Intravenosa	44
Intra-uterina	31
Intramamária	48-144

Fonte: SOUZA E CARNEIRO (2000) citado por CERQUEIRA (2003).

## **2.5.2 – Conseqüências dos resíduos de antibióticos em leites e derivados**

### **2.5.2.1 – Econômica**

A importância econômica dos resíduos de antimicrobianos em leites está relacionada à interferência nos processamentos tecnológicos e industriais, levando ao surgimento de várias alterações na qualidade dos produtos lácteos. Dentre elas tem sido observado inibição de culturas lácteas utilizadas na fabricação de queijos e leites fermentados como: coagulação inadequada do leite e maturação inadequada de queijos levando a alterações de textura e características sensoriais; redução da produção de ácido e *flavour* durante a produção de iogurte e outros produtos fermentados; comprometimento das culturas lácteas e perdas na produção de derivados lácteos. Gerando grandes perdas econômicas (CERQUEIRA, 2003).

ALBUQUERQUE *et al.* (1996) e COSTA (1996), afirmam que a presença de resíduos de antibióticos provocam alterações no processo fermentativo (produção de queijos e iogurtes). As bactérias lácticas são mais sensíveis aos resíduos de antibióticos, impedindo que a fermentação seja satisfatória. Além das modificações dos resultados de análises laboratoriais que induz a uma falsa idéia da boa qualidade do produto.

Outro aspecto importante refere-se á interferência de resíduos de oxitetraciclina no teste de pesquisa de fosfatase alcalina, originando resultados positivos, o que pode, no caso

do leite tratado termicamente, dar a falsa idéia de que, o leite está cru, ou que foi submetido a tratamento térmico indevido. Porém, resíduos de estreptomicina podem originar resultados negativos, indicando que o leite foi tratado corretamente (CERQUEIRA, 2003).

### **2.5.2.2 – Saúde pública**

O uso indiscriminado e a não observação do período de carência dos antimicrobianos no leite podem acarretar sérios problemas de saúde pública como: reações alérgicas e até choque anafilático em indivíduos sensíveis; alterações na pele, caracterizadas principalmente por dermatites e urticárias; distúrbios dentários e ósseos; anemia aplástica; distúrbio de microbiota intestinal; carcinogenicidade, mutagenicidade, teratogenicidade e ototoxicidade; hepatite coleástica; alterações no crescimento e nas cartilagens; neurite óptica (CERQUEIRA, 2003).

Além de reações alérgicas e de indução de quadros patológicos, os resíduos de antimicrobianos possibilitam o risco de indução de resistência bacteriana e, posteriormente, a transferência de multirresistência entre os microrganismos através de plasmídios (BRASIL, 1991/1992).

Para ALBUQUERQUE *et al.* (1996) e COSTA (1996), a presença desses resíduos no leite pode ocasionar uma série de problemas:

- Seleção de cepas bacterianas resistentes no ambiente. É comum o aumento gradativo das dosagens de resíduos de antibióticos utilizadas na terapia de animais, uma vez que o emprego dessas drogas possibilita a seleção de bactérias resistentes, principalmente quando seu uso é indiscriminado. A ingestão de resíduos de antibióticos presentes nos alimentos supõe risco para a saúde humana, seja exercendo pressão seletiva sobre a flora intestinal, favorecendo o crescimento de microrganismos com resistência natural ou adquirida, ou dando lugar, direta ou indiretamente, para o aparecimento de resistência em bactérias enteropatogênicas;

- Desequilíbrio da flora intestinal. Isto pode ocorrer principalmente em crianças abaixo de um ano de idade;

- Discrasias sangüíneas associadas ao cloranfenicol, embora este atualmente não seja mais permitido seu uso veterinário;

- Efeito teratogênico. O risco do consumo de resíduos de antibióticos (metronidazol, rifampicina, trimetropim, estreptomicina e tetraciclina, por exemplo), por gestantes se deve

ao seu potencial teratogênico que induz a alterações no desenvolvimento ósseo fetal;

A Organização Mundial de Saúde (OMS) tem feito recomendações visando enfrentar o problema, estabelecendo normas de utilização de aditivos em geral, e sugerindo práticas, para governos e autoridades competentes, a serem adotadas na tecnologia alimentar e na prática da Medicina Veterinária. Em alguns países, como na França, por exemplo, tem sido sugerido que antimicrobianos de indicação médico-humano sejam proibidos na prática da tecnologia alimentar e no tratamento de doenças de animais (BARROS *et al.*, 2001).

Outro fator importante observado quando se discute os riscos ao consumidor devido a presença de resíduos de antimicrobianos no leite, é a resistência térmica destes aos tratamentos térmicos empregados pelas indústrias de laticínios (pasteurização lenta, rápida ou o tratamento ultra-alta temperatura), que não eliminam totalmente os resíduos, por apresentarem tolerância em altas e baixas temperaturas (Quadro 3).

**Quadro 3** – Efeito do tratamento térmico, tempo de exposição e taxa de inativação de alguns resíduos de antibióticos quando eliminados no leite.

Antibióticos	Temperatura (°C)	Tempo de exposição	Taxa de inativação (%)
Penicilina	72	15 segundos	8
	90	30 minutos	20
	100	30 minutos	50
Estreptomicina	100	30 minutos	66
Clortetraciclina	100	30 minutos	90
Oxitetraciclina	100	30 minutos	90

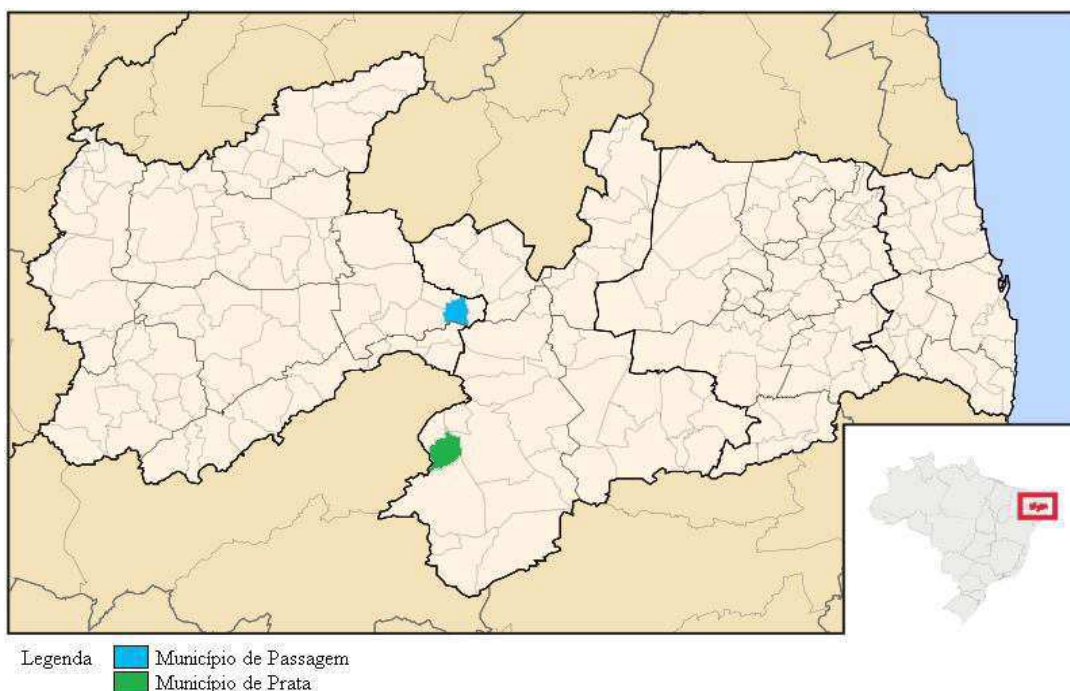
Fonte: CERQUEIRA (2003).

De acordo com Fagundes (1997) *apud* Medeiros (1999), agentes antimicrobianos apresentam estabilidade a baixas temperaturas, a penicilina, estreptomicina e neomicina mantêm-se presentes no leite congelado por um período de até 12 semanas, inibindo culturas lácticas.

### 3 – MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 – Período de execução e seleção dos produtores

O trabalho teve início em agosto de 2007 e término em março de 2008, sendo realizadas duas coletas mensais por município em semanas alternadas. Foram selecionados 15 (quinze) produtores de cada município participante, sendo eles fornecedores de leite de cabra para o Programa Fome Zero do governo federal nos municípios de Passagem localizado no médio sertão e Prata no cariri paraibano (Figura 1).



**Figura 1** – Mapa político-regional da Paraíba destacando-se os municípios de Passagem e Prata, localizados no médio sertão e cariri paraibano, respectivamente.

#### 3.2 – Coleta e número de amostras

Para facilitar as coletas e garantir a veracidade da amostra, as mesmas foram coletadas na plataforma de recepção da mini-usina de beneficiamento de cada município. No momento em que o produtor participante do estudo chegava, era coletada, após homogeneização, uma amostra de leite com cerca de 500 mL diretamente de seu latão (Figura 2) e acondicionado em recipiente de



**Figura 2** – Coleta realizada do latão do produtor. Prata - PB, fevereiro de 2008.

vidro com boca larga e estéril identificado com seu nome. Em seguida, para conservar a integridade das amostras estas eram colocadas em caixas isotérmicas contendo gelo reciclável e transportadas em baixa temperatura ao laboratório, onde foram realizadas as análises físico-químicas, microbiológicas e identificação de resíduos de antibióticos. Num total foram coletadas 150 amostras, sendo 75 de cada mini-usina.

### **3.3 – Local de análise das amostras**

As análises das amostras foram realizadas no Laboratório de Tecnologia e Inspeção de Leite e Derivados, localizado na Unidade Acadêmica de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Campina Grande, no município de Patos – Paraíba. Situado a uma distância de aproximadamente 300 km da capital do Estado, com área de 508,7 Km<sup>2</sup>, população de 86.036 (oitenta e seis mil e trinta e seis) habitantes, temperatura média de 28°C, umidade relativa média do ar de 55%, precipitação pluviométrica média anual de 700 mm, e altitude média de 242 m, acima do nível do mar

### **3.4 - Análises laboratoriais**

#### **3.4.1 - Análises microbiológicas do leite**

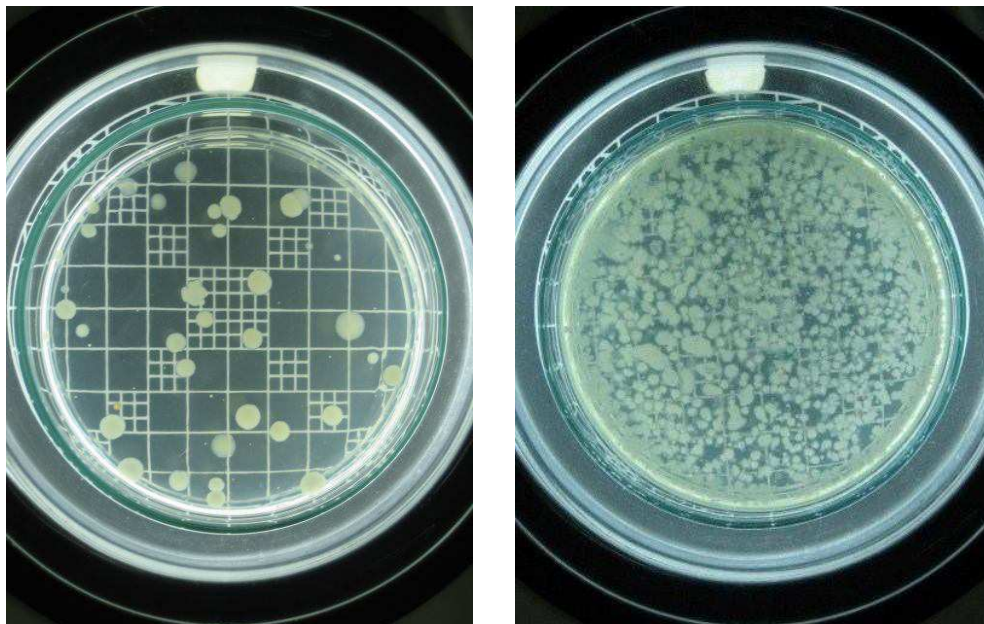
As análises microbiológicas realizadas nas amostras coletadas foram: a contagem total de mesófilos, número mais provável de coliformes totais e termotolerantes conforme preconizado por BRASIL (2003). A identificação e isolamento de *Escherichia coli* foi mediante as provas bioquímicas do IMViC e por semeadura de superfície em placas contendo ágar EMB Levine, seguido de visualização de esfregaço corados por Gram como realizado por SIGARINI (2004) e recomendado por HAJDENWURCEL (1998).

##### **3.4.1.1 – Contagem total de mesófilos**

A contagem total de mesófilos consiste em diluir 1 mL da amostra em 9ml de água peptonada tamponada a 0,1% até a diluição 10<sup>-9</sup>, e se realiza a semeadura em profundidade, em placas de Petri de 100mm de diâmetro das diluições 10<sup>-6</sup>, 10<sup>-7</sup>, 10<sup>-8</sup> e 10<sup>-9</sup>.

Em seguida acrescenta-se como meio de cultivo o Plate Count Agar (PCA) em quantidade suficiente para formar uma fina camada de meio na superfície da placa. Faz-se a homogeneização da mistura perfazendo quatro movimentos em sentido frente-traz, quatro esquerda-direita e quatro em oito, por fim aguarda-se sua solidificação e as incuba por 48 horas a 35°C ± 1 para realizar a leitura de acordo com o anexo IV da Instrução

Normativa Nº 62, de 26 de agosto de 2003 do MAPA. Após esse período se observa colônias de coloração pálido-amarelada (Figura 3).



**Figura 3** – Placas com plate count agar (PCA) após 48 horas a 35±1°C, mostrando diferentes níveis de contaminação microbiana por mesófilos, em amostras diferentes de mesma diluição ( $10^8$ ).

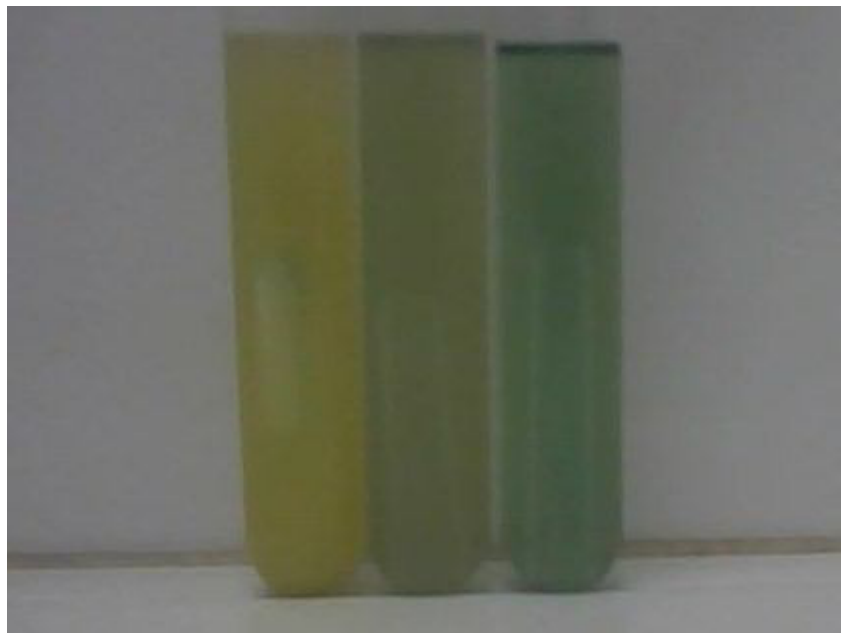
#### 3.4.1.2 – Número mais provável de coliformes totais

A técnica empregada para determinar coliformes totais ou coliformes 30/35°C foi a técnica dos tubos múltiplos e consiste em adicionar 1ml da amostra em 9ml de água peptonada tamponada a 0,1%, obtendo assim a diluição  $10^{-1}$ , desta diluição se retira 1ml e a adiciona em outro tubo contendo a mesma água peptonada tamponada, obtendo assim a diluição  $10^{-2}$ , sendo que a partir desta diluição se inocula 1ml da mesma em três tubos contendo 9ml de caldo verde brilhante bile com 2% de lactose com um tubo de Durhan invertido em seu interior, faz-se isto até a diluição  $10^{-6}$  sempre vertendo os tubos após a adição do inóculo da amostra por no mínimo três vezes para que ocorra a perfeita homogeneização entre meio e amostra, então incubou-se este material a 35°C ± 1° por um período de 48 horas.

Ao final deste período foram caracterizados como positivos os tubos que apresentem, sobretudo, presença de gás no tubo de Durhan, turvação do meio, efervescência após agitação e amarelamento nesta ordem de importância (Figura 4).

Nestes tubos classificados como coliformes 30/35°C foi realizada sua quantificação

de acordo com a tabela de NMP<sup>5</sup> que estima a quantidade destes microrganismos de acordo com padrão dos tubos contendo gás nas suas diferentes diluições.



**Figura 4** – Caldo verde brilhante bile com 2% de lactose. Da esquerda para a direita, observa-se tubo com amostra positiva, tubo com crescimento mais negativo, tubo não inoculado.

#### **3.4.1.3 – Número mais provável de coliformes termotolerantes**

A determinação de coliformes termotolerantes foi realizada mediante o repique com alça de platina dos tubos positivos para coliformes 30/35°C, sendo que estes deveriam pertencer a no máximo três diluições diferentes, em caldo verde bile brilhante e caldo triptona. Estes meios foram então incubados por 24 horas a 45°C ± 1°C e decorrido este período se verificou a formação de gás. Nos tubos em que ocorreu a formação de gás foi adicionado 0,3mL do reativo de Kovacs, no caldo triptona correspondente a este, e caso houvesse a formação de um anel vermelho na superfície do meio, esta amostra era então considerada positiva para coliformes termotolerantes.

A quantificação deste segue a mesma metodologia utilizada para os coliformes 30/35°C, se fazendo o uso da tabela de NMP, porém deve-se ressaltar que a contagem era realizada apenas com os tubos nos quais o anel vermelho se formou.

---

<sup>5</sup> Tabela de Número Mais Provável de coliformes por mL ver anexos



#### **3.4.1.4 – Determinação e isolamento de *Escherichia coli***

Para a determinação de *Escherichia coli* foram utilizadas as amostras positivas para coliformes termotolerantes, submetendo-as a testes complementares buscando identificar as propriedades bioquímicas da bactéria, confirmando assim a sua presença. Com isso foi utilizado o conjunto de provas bioquímicas IMViC, acrescido do ágar TSI e posterior cultivo no ágar EMB Levine. Caso a amostra se mostrasse positiva nos meios de cultura era confeccionada uma lâmina bacteriológica e esta era corada pelo método de Gram e visualizada. Desta forma foi considerada como *Escherichia coli* a amostra que atender aos seguintes critérios: no IMViC ser indol e vermelho de metila positivo, Voges-Prokauer e citrato negativa; formar gás, acidificar tanto a superfície inclinada e interior do ágar TSI além de não produzir H<sub>2</sub>S neste meio; formar colônias típicas no ágar EMB Levine (bordos verde metálico e centro negro) e na microscopia se visualizar bastões Gram negativos.

##### **3.4.1.4.1 – Provas bioquímicas do IMViC**

Este conjunto de provas bioquímicas é composto pelo indol, vermelho de metila, Voges-Proskauer e citrato (BIER, 1981).

No caldo triptona existe o aminoácido triptofano, que quando degradado pela *E. coli* produz como compostos intermediários o ácido indolpirúvico e o ácido indolacético, sendo que as enzimas envolvidas nesse processo são as triptofanases. Após essa degradação o ácido indolpirúvico sofre desaminação liberando indol, e o ácido indolacético por descarboxilação libera escalatol, sendo este composto volátil. Com isso, o indol formado irá reagir com o p-dimetilamino benzoaldeído, presente no reativo de Kovac's, formando um composto quindal vermelho solúvel no álcool iso-amílico (este também componente de reativo) o tornando vermelho, o álcool por ser menos denso que o meio se mantém na superfície formando assim o anel (RIBEIRO & SOARES, 1998; SIGARINI, 2004).

Para a prova do vermelho de metila e Voges-Proskauer foi incubado a 35°C ± 1° C por 24 horas 10 mL do meio VM-VP<sup>6</sup> (também chamado de MR-VP ou meio Clark & Lubs) inoculado com uma alçada do tubo de verde brilhante cujo seu correspondente de caldo triptona foi positivo na prova do Indol. Passado esse período foram separadas em tubos de ensaio limpos, duas alíquotas de 2,5 mL para serem testadas. Em uma foi adicionado 0,1 mL de solução alcoólica de vermelho de metila a 0,06% e na outra foram colocados os reagentes de Barrit, solução alcoólica de  $\alpha$ -naftol a 5% e solução de hidróxido

---

<sup>6</sup> Vermelho de metila e Voges-Proskauer

de potássio a 40% nas quantidades de 0,6 e 0,2 mL respectivamente e nesta mesma ordem, seguido de vigorosa agitação do tubo com a finalidade de oxigená-lo.

Na prova do vermelho de metila se verifica a capacidade que o microrganismo tem de a partir da glicose produzir ácidos orgânicos de forma tão intensa que submeta a capacidade tampão do meio de cultivo. Dentre os ácidos podemos destacar o láctico, acético, fórmico, succínico e etílico. Quando a produção é intensa o suficiente ocorre a liberação de grande quantidade de íons  $H^+$  no meio, e quando o pH atinge 4,4 o indicador (solução alcoólica de vermelho de metila), permanecerá vermelho caracterizando assim a reação positiva.

No caso do Voges-Proskauer o que se procura é a produção de um composto de alto pH o acetilmetilcarbinol (acetoína), este é um produto final da degradação da glicose, com a adição dos reagentes de Barrit, a acetoína se unirá com o  $\alpha$ -naftol e será oxidada pelo oxigênio atmosférico formando a diacetila, que tem coloração vermelha. Nesta reação a solução de hidróxido de potássio age como oxidante e o  $\alpha$ -naftol como catalisador da reação, intensificando a cor. Caso a reação seja negativa para a presença de acetoína, o meio permanecerá inalterado ou ficará com uma cor cobre, após a adição dos reagentes, resultado a ação da solução de KOH sobre a de  $\alpha$ -naftol.

A utilização do citrato como única fonte de carbono é uma propriedade de alguns microrganismos, eles usam esse citrato no ciclo de Krebs para formar oxalacetato e acetato, depois piruvato e  $CO_2$  terminando com alcalinização do meio, devido à liberação de sais de amônia. O meio utilizado para a determinação dessa prova é o ágar citrato de Simmons cuja formulação tem como indicador de pH o azul-de-bromotimol, que no meio estéril tem coloração verde com um pH de 6,9. Este meio é utilizado na forma de ágar de superfície inclinada em tubos e quando inoculado, este por meio de estrias na superfície inclinada, quando o microrganismo realiza a utilização do citrato o meio se torna azul, caso não ocorra a utilização este permanecerá inalterado caracterizando uma reação negativa.

No caso da *Escherichia coli* este caminho metabólico não existe, logo é negativo.

Observa-se na figura 5 da página seguinte uma bateria do IMViC acrescido do ágar TSI e como esta deve se mostrar em caso de *Escherichia coli*.



**Figura 5** – Bateria IMViC positiva para *Escherichia coli*. Da esquerda para a direita: caldo verde brilhante bile 2% lactose, Indol+, TSI característico, citrato-, VP-, VM+ e meio VM-VP sem reativos de Barrit.

#### 3.4.1.4.2 – Ágar TSI (Triple Sugar Iron)

O ágar TSI (que vem de Triple Sugar Iron ou Tríplice açúcar e ferro em vernáculo) é um meio diferencial não seletivo indicador de diversas atividades bioquímicas das bactérias, principalmente das pertencentes ao gênero *Enterobacteriaceae*, em sua composição se encontram três açúcares: a lactose, a sacarose que correspondem cada uma com 1% do total de ingredientes do meio, e a glicose a qual perfaz 0,1% de todos os componentes do meio. Também são encontradas fontes de aminoácidos, que neste meio são a peptona de carne e os extratos de carne e levedura (BIER, 1981; QUINN *et al.*, 2005; RIBEIRO & SOARES, 1998; SIGARINI, 2004).

Existe ainda um substrato para formação de ácido sulfídrico ( $H_2S$ ), o tiosulfato de sódio, que, além disso, favorece a formação de uma condição de anaerobiose na base do meio, e sais de ferro, podendo estes ser na forma de sulfato ou compostos amoniacais. Além do vermelho de fenol como indicador ácido-base (BIER, 1981; SIGARINI, 2004).

A semeadura do material é realizada por meio de picada central profunda buscando-se atingir o fundo do tubo, daí o motivo para não se utilizar mais que 5mL de meio, após a perfuração no centro do meio se deve realizar um movimento de estriação na superfície inclinada do meio ainda com a mesma agulha bacteriológica, e em seguida a incubação por

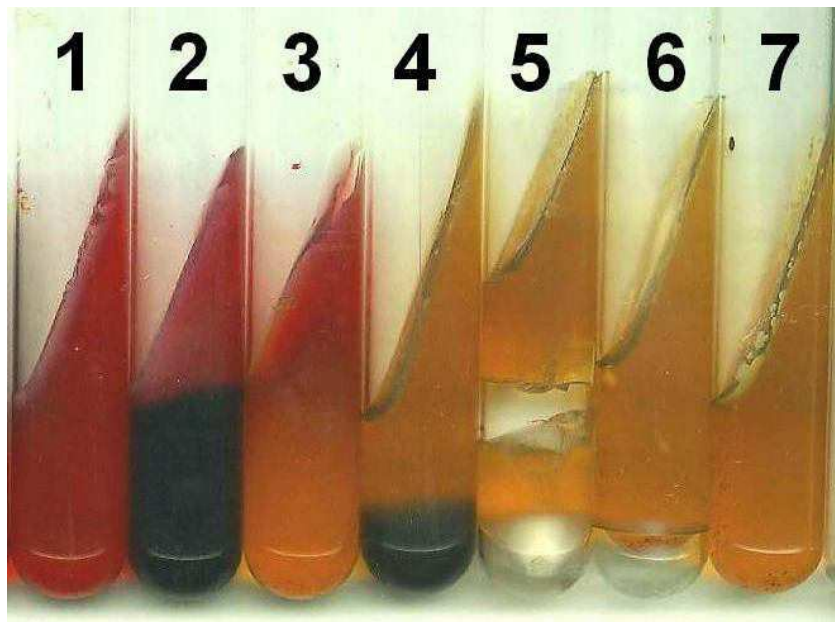
mais de 24 horas a  $35\pm 1^\circ\text{C}$ , no entanto os autores divergem no tempo de incubação recomendado de forma que este varia de dezoito horas (QUINN *et al.*, 2005) até mais de quarenta e oito no mínimo (MERCK, 2000).

Neste meio ocorre primariamente a fermentação dos açúcares dependendo da espécie um ou dois desses não são fermentados. No caso da *E. coli* ela fermenta todos os açúcares presentes no meio formando assim uma reação muito particular que se caracteriza por total amarelamento do ágar, com formação de bolhas ou rachaduras pela formação de gás e sem produção de  $\text{H}_2\text{S}$  (BIER, 1981; QUINN *et al.*, 2005; RIBEIRO & SOARES, 1998; SIGARINI, 2004).

Quando os açúcares são fermentados tem como subproduto um ácido, seja ele acético no caso da glicose e sacarose, ou láctico para a lactose, que tornam o meio amarelo em detrimento da acidificação deste e a concomitante viragem do vermelho de fenol. A lactose, no entanto, além do ácido láctico, também produz  $\text{CO}_2$  ao ser fermentada, e que ao se acumular no meio provoca o aspecto de rachadura ou bolha. Numa forma geral podemos caracterizar as reações fermentadoras de carboidratos da seguinte forma: a glicose só é fermentada em anaerobiose, mas a lactose e sacarose não, assim caso a superfície se mantenha vermelha e a base amarela é sinal que apenas a glicose foi fermentada caso a superfície também esteja amarela sem formação de rachaduras foi a glicose e sacarose fermentadas e se ocorrerem rachaduras a lactose foi fermentada (BIER, 1981; MERCK, 2000; RIBEIRO & SOARES, 1998; SIGARINI, 2004).

Para a formação da reação negra que caracteriza a produção de  $\text{H}_2\text{S}$  ocorre a seguinte cascata: as bactérias metabolizam os aminoácidos sulfurados presentes nos extratos de carne e levedura bem como na peptona de carne ou degradam o tiosulfato de sódio no meio ácido liberando íons  $\text{S}^{2-}$ . Estes por sua vez, reagem com os íons  $\text{H}^+$  que se encontram livres no meio devido à presença de ácidos acético ou láctico, formando assim o  $\text{H}_2\text{S}$ , que é incolor. Este último então, ao reagir com os sais de ferro presentes também no meio formam o sulfato ferroso que se apresenta de coloração enegrecida, assim não se observa o  $\text{H}_2\text{S}$  diretamente, mas um composto originado por sua reação aparte a sua produção (MERCK, 2000; RIBEIRO & SOARES, 1998; SIGARINI, 2004).

Observa-se na figura 6 localizada na página seguinte as diferentes reações que podem ocorrer no ágar TSI caracterizando assim o metabolismo do microrganismo envolvido.



Fonte: [www.web.fccj.edu/~Inorman/unknowns.htm?index=2](http://www.web.fccj.edu/~Inorman/unknowns.htm?index=2)

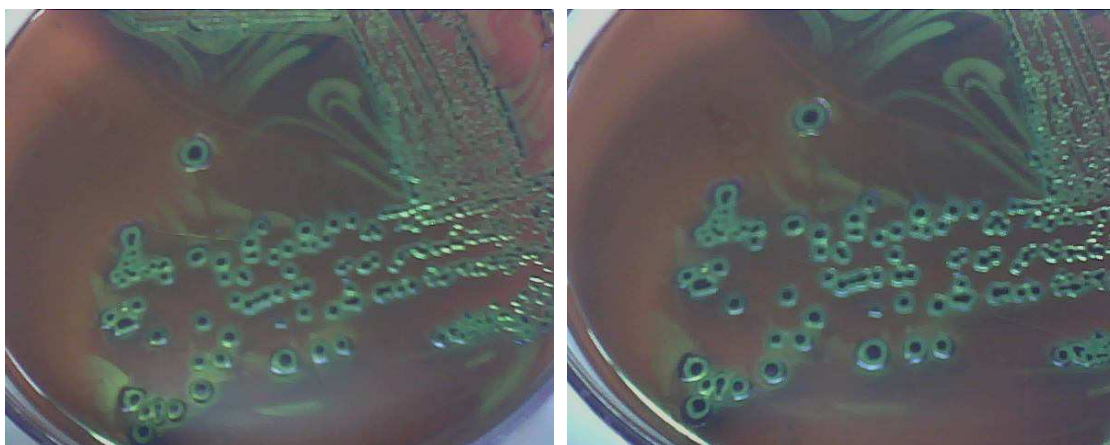
**Figura 6** – Reações do ágar TSI de acordo com a fermentação dos carboidratos presentes ou sua produção de H<sub>2</sub>S. 1-Estéril; 2-formação de H<sub>2</sub>S se fermentação de carboidrato; 3-Fermentação de glicose; 4-Fermentação de glicose e sacarose + produção de H<sub>2</sub>S; 5-Fermentação de glicose e lactose com ruptura do meio; 6-Idem item 5, porém mais brando; 7- Fermentação de glicose e sacarose.

#### 3.4.1.4.3 – Ágar EMB Levine

Após o período de incubação das amostras na prova bioquímica do IMViC e realizada a leitura, as amostras positivas tiveram uma alçada retirada e foram repassadas para placas contendo meio ágar EMB Levine onde se fez um estriado utilizando-se o método do esgotamento buscando a obtenção de colônias isoladas, sendo posteriormente incubadas em estufa a 35°C ± 1° C por 24 horas.

O Ágar Eosina-Azul de Metileno, de Levine (EMB), é um meio seletivo e diferencial utilizado para isolamento e detecção de enterobactérias. Os corantes eosina e azul de metileno inibem o crescimento das bactérias Gram positivas, permitindo diferenciação entre os microrganismos fermentadores e não fermentadores da lactose. A produção de ácido pela fermentação da lactose (reação da eosina em pH baixo) confere características próprias à *E. coli*, as quais são utilizadas para diferenciá-la dos outros coliformes. As colônias típicas; arredondadas, pequenas (± 03 mm), escuras, com centro quase negro, com

brilho metálico esverdeado em seu entorno (HAJDENWURCEL, 1998). O que pode ser visto na figura 7.



**Figura 7** – Placas de ágar EMB Levine contendo colônias isoladas típicas de *E. coli*, observa-se colônias mucóides, com bordos verde metálico e centro negro, lembrando os olhos do tucano, e borrões verde metálico sob o meio.

#### **3.4.2 – Análises físico-químicas do leite**

Foram realizadas as seguintes análises físico-químicas de acordo com a instrução normativa Nº 68 de 12 de dezembro de 2006 a qual oficializa os Métodos Analíticos Oficiais Físico-Químicos, para Controle de Leite e Produtos Lácteos: acidez, por titulação, pelo método Dornic, densidade através do termolactodensímetro de Quevenne calibrado a 15°C e corrigido de acordo com a temperatura da amostra, teor de gordura através do butirômetro de Gerber, sólidos totais pelo disco de Ackermann e sólidos não gordurosos, este se subtraindo do extrato seco total à gordura (BRASIL, 2006).

#### **3.4.3 – Análises biológicas**

Detecção de resíduos de antibióticos.

##### **3.4.3.1 – Técnica empregada**

As amostras a serem analisadas foram submetidas ao teste microbiológico de triagem de resíduos de antibióticos, Delvotest<sup>®</sup> da empresa Holandesa DSM. É um teste de difusão, rápido que mede a inibição do crescimento bacteriano. Apresentado em ampolas cilíndricas plásticas contendo meios de cultura sólido com um indicador de pH, o púrpura de bromocresol e um microrganismo, o *Bacillus stearothermophilus* variedade *calidolactis* na sua forma esporulada. Na ausência de inibidores de crescimento bacteriano os esporos da bactéria germinam e estas ao degradarem o meio, o acidificam, tornando-o amarelo devido

a viragem do indicador. Na presença de resíduo de drogas, a cor púrpura original do indicador de pH não se altera.

Este é um teste simples, sensível e relativamente rápido, quando comparado a outros. Seu uso está aprovado pelo Serviço de Inspeção Federal do Ministério da Agricultura, portaria nº 8 de 26/06/84. E pela Association of Official Analytical Chemist (AOAC) desde 1982.

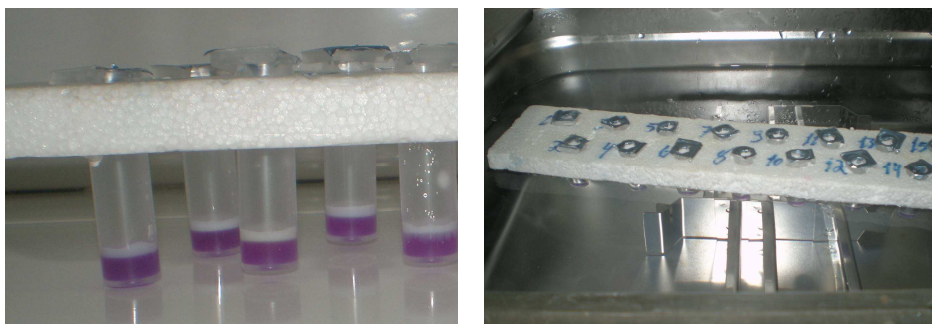
No entanto, a adesão deste método de detecção de resíduos de antibióticos possui limitação por somente detectar se existe resíduo de inibidor bacteriano ou não. Não permitindo a determinação de pelo menos qual o grupo do inibidor envolvido.

#### 3.4.3.2 – Pesquisa de identificação de resíduos de antibióticos

O teste obedece à seguinte metodologia: Abertura das ampolas com a retirada da tampa de alumínio; adição de 0,1 mililitros das amostras de leite a serem analisadas; incubação das ampolas em banho-maria a  $64 \pm 0,5 \text{ } ^\circ\text{C}$  mais ou menos  $0,5 \text{ } ^\circ\text{C}$  por três horas e por fim, realização da leitura. Figuras 8 e 9.



**Figura 8** – Captação do inóculo com 0,1mL de amostra e sua deposição na ampola do Delvotest<sup>®</sup>.



**Figura 9** – Ampolas contendo o inóculo de 0,1mL de amostra e sua acomodação no aparelho de banho-maria a  $64 \pm 0,5 \text{ } ^\circ\text{C}$ .

Após o período de incubação, ácido suficiente é produzido pelo crescimento das bactérias. A alteração da cor do indicador de pH de púrpura para amarelo, indica uma amostra livre de resíduos de antibióticos. Se, no entanto, o crescimento das bactérias for retardado ou inibido, não ocorre à acidificação permanecendo púrpura (figura 10). A coloração intermediária entre amarelo e púrpura também é considerada positiva.



Fonte: [www.dms.com.nl/devoltest](http://www.dms.com.nl/devoltest)  
**Figura 10** – Ampola negativa (esq.) e positiva (dir.).

No quadro 4 estão expostos os limites de detecção de do Delvotest<sup>®</sup> e os limites preconizados no Programa Nacional de Controle de Resíduos de Medicamentos Veterinários em Alimentos do Ministério da Agricultura e os do Pamvet do Ministério da Saúde/ANVISA.

**Quadro 4** – Limites de detecção de resíduos de antibióticos do Delvotest<sup>®</sup>, e os máximos preconizados pelos Ministérios da Agricultura e da Saúde.

Medicamento	Nível de detecção (µg/kg)	LMR <sup>7</sup> (µg/kg)
Penicilinas	2 – 3	4
Ampicilina	6 – 7	4
Amoxicilina	3 – 5	4
Ceftiofur	50 – 100	100
Neomicina	300 – 600	500
Sulfonamidas	100 – 250	100
Tetraciclina	800	100
Cloranfenicol	7500	0
Eritromicina	200	40

Adaptado de: BRASIL, 1999; Manual de instruções Delvotest<sup>®</sup>; ANVISA, 2003.

### 3.5 – Análise estatística

Os dados da microbiologia foram agrupados por município sendo obtida a média geométrica destes e comparando-as diretamente (BRASIL, 2002). As análises físico-químicas tiveram seus resultados submetidos ao teste de Tukey com 5% de significância através do programa estatístico Assistat<sup>®</sup>. Já os dados referentes aos resíduos de antibióticos foram agrupados em percentuais de amostras positivas para cada município e comparadas diretamente, conforme o realizado por NARDELLI, 2006 e SIQUEIRA, 2007.

<sup>7</sup> Limite Máximo de Resíduos



## 4 – RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 – Parâmetros físico-químicos

As mini-usinas que participaram deste estudo foram identificadas como mini-usina A e mini-usina B. E os parâmetros físico-químicos avaliados estão dispostos na tabela 1.

**Tabela 1** – Análise de variância pelo teste de Tukey ( $X^2$ ) com significância em nível de 5% dos parâmetros físico-químicos\* das mini-usinas A e B.

Parâmetro	Mini-usina A	Mini-usina B
Acidez (° D)	16,66667 a	15,14667 b
Densidade (g/L)	1026,82100 b	1028,43100 a
Gordura (%)	4,04800 a	3,95733 a
Extrato Seco Total (%)	10,68520 b	12,11813 a
Extrato Seco Desengordurado (%)	6,63720 b	8,16080 a

\*Cálculos nos anexos. Devendo ser mencionado que os tratamentos 1 e 2 correspondem as mini-usinas A e B respectivamente.

Como pode ser visto num geral, a mini-usina B se mostrou melhor nos parâmetros físico-químicos em relação à mini-usina A. No que diz respeito a acidez em graus Dornic se observa diferença significativa entre os dois estabelecimentos, sendo que a B apresentou um produto menos ácido, isto pode ser atribuído sobretudo ao tempo de espera e transporte do leite ordenhado, visto que este tempo é muito maior para a mini-usina A, onde alguns produtores além de deixarem seus latões ao sol por um longo período, muitas vezes ficando exposto ao sol direto até as dez horas da manhã, estes não tem um horário máximo para entregarem o seu produto. Já a mini-usina B além de distâncias menores o produto tem de ser entregue até as dez horas da manhã. Estes resultados ficaram abaixo do que foi encontrado por OLIVEIRA (2005), que trabalhando em mini-usinas do Cariri paraibano encontrou uma acidez de 17,1°D. Já ARAÚJO (2007) trabalhando com estes mesmos estabelecimentos encontrou médias variando de 16,4 a 17,1°D.

A densidade, parâmetro físico no qual se avalia a massa da amostra e que do qual juntamente com o teor de gordura se estabelece os extratos secos total e desengordurado obteve uma média na mini-usina A de 1026,82100 g/L, ao passo que a mini-usina B obteve média de 1028,43100 g/L diferindo estatisticamente da mini-usina A e ficando ambas abaixo do descrito por OLIVEIRA (2005) e SIQUEIRA (2007) no Cariri paraibano que foi de 1031,8 e 1030,1 g/L respectivamente. Já ARAÚJO (2007) trabalhando nas mesmas

mini-usinas observou uma densidade de 1027,8 g/L para a mini-usina A e 1028,0 g/L para a mini-usina B diferindo apenas os valores da primeira mini-usina.

O percentual de gordura encontrado na mini-usina A foi de 4,048%, já a usina B obteve média de 3,95% não diferindo uma da outra. OLIVEIRA (2005) e SIQUEIRA (2007) no Cariri paraibano que encontraram médias de 4,13% e 4,32% respectivamente, valores esses semelhantes aos encontrados por ARAÚJO (2007) que estudando os mesmos estabelecimentos encontrou valores para A de 4,44% e B de 4,19%.

Os valores encontrados para o extrato seco total (EST) nestas mini-usinas foi de: 10,68% para a mini-usina A e 12,11% para a mini-usina B. Tais resultados discordam dos vistos por OLIVEIRA (2005) que foi de 13,21% e SIQUEIRA (2007) que foi de 12,78% ambos estudos realizados no Cariri paraibano. No que diz respeito ao extrato seco desengordurado (ESD) a mini-usina A obteve média de 6,63%, já a usina B obteve média de 8,16% se diferenciando da usina A com significância. E discordando com OLIVEIRA (2005) que obteve média de 9,06% e SIQUEIRA (2007) de 8,64%.

Cabe mencionar ainda que o resultado da mini-usina A sofreu grande influência de quatro amostras provenientes de um mesmo produtor que muito provavelmente sofreram a adição de água, já que estas se encontravam com acidez muito baixa (7, 8, 11 e 14°D), uma densidade bem abaixo do que o termolactodensímetro pode aferir. Um percentual de gordura pequeno variando de 1,5 a 2,2%, além de um extrato seco total e desengordurado ínfimo variando de 2,14 a 3,01% e 0,64 a 0,81% respectivamente.

Com relação à adequação a legislação vigente, ambas as mini-usinas apresentaram problemas, principalmente a mini-usina A que apresentou a densidade e os extratos secos abaixo do mínimo aceitável que é de 1028 a 1034 para a densidade, e 11,2% para extrato seco total e 8,2 para desengordurado (BRASIL, 2000), sendo este o único parâmetro que ficou ligeiramente abaixo do mínimo para a mini-usina B. Isto é preocupante, pois com base apenas nos parâmetros físico-químicos, pode-se classificar o leite do estabelecimento A como inapropriado para o consumo.

#### **4.2 – Parâmetros microbiológicos**

Neste trabalho foram avaliados os seguintes parâmetros microbiológicos: contagem padrão em placas (CPP), determinação de coliformes totais e termorresistentes pela técnica dos tubos múltiplos e isolamento de *Escherichia coli* aplicando-se o conjunto de provas bioquímicas do IMViC. Os resultados encontrados estão dispostos na tabela 2.

**Tabela 2** – Comparação dos parâmetros microbiológicos entre as mini-usinas A e B.

<b>Parâmetro</b>	<b>Mini-usina A</b>	<b>Mini-usina B</b>
Contagem padrão em placas (UFC/ mL)	$2,4 \cdot 10^9$	$8,5 \cdot 10^9$
Coliformes totais (NMP/mL)	$1,9 \cdot 10^4$	$4,4 \cdot 10^4$
Coliformes fecais (NMP/mL)	$1,5 \cdot 10^3$	$1,1 \cdot 10^2$
Isolamento de <i>Escherichia coli</i>	3 amostras	1 amostra

Na contagem padrão em placas foi encontrado na mini-usina A um valor de  $2,4 \cdot 10^9$  UFC/mL. Já para a usina B foi encontrado o valor de  $8,5 \cdot 10^9$  UFC/mL. Estes valores foram maiores do que os observados por OLIVEIRA (2005) e ARAÚJO (2007) no cariri paraibano que foi de  $5,8 \cdot 10^8$  UFC/mL e  $3,7 \cdot 10^9$  respectivamente.

Pode se observar uma grande diferença entre os dois estabelecimentos, isto se deve provavelmente ao tratamento que são submetidos os latões após serem esvaziados, pois a maioria ao virem a mini-usina fazem proveito da viagem para comprarem algo na cidade, e mesmo com os latões lavados na própria indústria como preconizado em lei, estes o fazem de depósito para transporte de objetos, e não o lavam ao chegar em seu destino final, visto que em um dado momento quando era realizada a coleta de amostras um produtor afirmou que seu leite chegara tão sujo naquele dia, pois na manhã anterior havia transportado batatas neste e por descuido não o tinha lavado.

Da mesma forma, situações como esta não ocorreriam na mini-usina A, pois, mesmo não fazendo a lavagem dos latões na indústria, a mesma se situa em local distante da cidade sendo mais prático aos produtores irem a esta em outra ocasião, e ainda a coleta de parte dos latões é realizada por um caminhão o qual se incumbe de adquirir na cidade as mercadorias as quais os produtores solicitam, assim visto que os latões não são lavados na indústria, os produtores se sentem obrigados a lavarem em suas propriedades.

No que se refere a determinação de coliformes totais a mini-usina A obteve uma média de  $1,9 \cdot 10^4$  NMP/mL. Ao passo que a mini-usina B obteve média para este mesmo parâmetro na ordem de  $4,4 \cdot 10^4$  NMP/mL se mostrando desta forma mais contaminado por estes microrganismos que o primeiro estabelecimento. Porém ambas ficaram muito além do encontrado por OLIVEIRA (2005) no Cariri paraibano que foi  $8,0 \cdot 10^2$  NMP/mL. No entanto, no que se refere a coliformes termotolerantes a usina B se mostrou melhor que a A, tendo a primeira uma carga destes microrganismos na ordem de  $1,1 \cdot 10^2$  NMP/mL e a

segunda uma carga de  $1,5 \cdot 10^3$  NMP/mL ambos os resultados discordam de OLIVEIRA (2005) que encontrou um valor de  $4,6 \cdot 10^2$  NMP/mL estudando o Cariri da Paraíba. Este resultado maior para a mini-usina A leva a crer que as boas práticas agropecuárias não estão sendo devidamente seguidas e com isso ocorre a contaminação do produto final.

De fato, esta é a realidade dos produtores fornecedores de leite desta mini-usina, sendo que em sua grande maioria a ordenha é realizada no próprio curral onde ficam os animais, ou num curral anexo a este, sendo que a única estrutura física que se observa para a ordenha é a plataforma. E o leite recém ordenhado, vezes é mantido, até o término da ordenha nas próprias dependências destes currais daí a grande contaminação.

No que se refere ao isolamento de *Escherichia coli*, das 150 amostras estudadas foram encontradas 4 amostras positivas resultou em uma prevalência de 2% (3) das amostras coletadas para a mini-usina A e de 0,67% (1) para a mini-usina B.

WHITE & HINCKLEY (1999) pesquisando causas de mastite em cabras nos Estados Unidos descobriu em 2199 amostras de leite a prevalência de mastite por *E. coli* é de 1,6% o que se aproxima do que foi visto nesta pesquisa. CAMPOS *et al.* (2006), em Goiás pesquisando 24 amostras de leite de vaca encontrou 79,2% de amostras com presença de *E. coli* indo muito além do encontrado neste trabalho.

BRITO *et al.* (1998) ao pesquisar agentes causadores de mastite isolados de tanques de resfriamento da zona da mata mineira encontrou coliformes em todos os oito rebanhos estudados, mesmo fato visto por ARCURI *et al.* (2006) estudando 24 rebanhos do sudeste de Minas Gerais e norte do Rio de Janeiro.

PICOLI *et al.* (2006) trabalhando com queijeiras as quais usavam leite caprino, encontrou uma carga de coliformes que variava de  $2,6 \cdot 10^5$  a  $1,5 \cdot 10^7$ , no leite usado para a fabricação dos queijos. Já Araújo, 2007 trabalhando na mesma região deste estudo viu uma variação dos índices de coliformes a 45°C de  $4,6 \cdot 10^2$  até  $8,0 \cdot 10^2$ .

Apesar destes números serem pequenos é algo que deve ser levado em consideração visto que o leite de cabra é tido como um alimento nobre e muitas vezes medicinal consumido em sua maioria por crianças e idosos este produto tem que passar por processo mais cuidadoso de obtenção, pois mesmo a *E. coli* sendo facilmente destruída pela pasteurização (caso esta seja eficiente) ainda restará suas toxinas que representam um perigo tão grande quanto a própria bactéria.

### 4.3 – Resíduos de antibióticos

Das 150 amostras analisadas, foi observado ocorrência de resíduos de antibióticos nas últimas coletas realizadas nas mini-usinas, Sendo que a mini-usinas A obteve uma prevalência de resíduos de antibióticos em apenas 21,3% das amostras ao passo que a mini-usina B, uma prevalência de 24% neste mesmo parâmetro.

NARDELLI (2006), pesquisando resíduos de antibióticos do grupo  $\beta$ -lactâmicos, em uma das cidades deste estudo, coletou 118 amostras de leite de cabra *in natura* e encontrou uma prevalência de 15,25% com 18 amostras positivas. Já SANTOS (2005), analisando 60 amostras de leite de cabra *in natura* obtidas de seis mini-usinas do Cariri Paraibano, encontrou 31,66% de amostras positivas para antibióticos do grupo  $\beta$ -lactâmicos.

A reação ocorrida em uma das amostras da usina B foi intensa, influenciando nos resultados das análises microbiológicas, com NMP de Coliformes a 30/35° C e a 45° C igual a 0 (zero); o tempo de redutase mostrou-se superior a 12 horas; e a lactofermentação não ocorreu, ficando o leite fluido por mais de 48 horas.

BRANCHER & FAGUNDES (1998), tentaram comprovar a influência dos resíduos antimicrobianos sobre o tempo de redução da azul de metileno no leite, através da adaptação do método de redutase para detectar presuntivamente, resíduos de antimicrobianos no leite e concluíram que existe uma interferência considerável da presença do resíduo no tempo de redução.

BARROS & LEITÃO (1992) verificaram a influência da mastite induzida por *Staphylococcus aureus* sobre as características físico-químicas do leite de cabra, observando diminuição dos seguintes valores: densidade (1.022,5 a 1.023,5 0; acidez (6,1 a 14,5 °D); cloretos (1,0 a 3,9%); e lactose (1,0 a 1,1%).

## 5 – CONCLUSÃO

Desta forma conclui-se que:

- Existem diferenças entre a qualidade microbiológica e físico-química, além de resíduos de antibióticos e *Escherichia coli* no leite das mini-usinas estudadas;
- O leite de cabra recebido por estes estabelecimentos, quando ainda cru, é impróprio ao consumo humano de acordo com a legislação brasileira em vigor;
- São necessários outros mecanismos para educar o produtor a obter um produto de melhor qualidade.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBUQUERQUE, L. M. B.; MELO, V. M. M.; MARTINS, S. C. S. Investigações sobre a presença de resíduos de antibióticos em leite comercializado em Fortaleza-CE-Brasil. **Revista Higiene alimentar**, São Paulo, v.10, n.41, p.29-32, 1996.

ANVISA, Ministério da saúde. **Resolução - RDC N° 12, de 2 de janeiro de 2001. Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos.** Disponível em: <<http://e-legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php>>. Acesso em: 16 de abril de 2008.

ANVISA, Ministério da saúde. **Resolução - RDC N° 253, de 16 de setembro de 2003. Cria o programa nacional de análises de resíduos de medicamentos veterinários em alimentos de Origem Animal – PAMVet.** Disponível em: <<http://e-legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=8128>>. Acesso em: 16 de abril de 2008.

ARAÚJO, V. J. A.; FERNANDES, A. R. F.; LEITE, H. R.; MEDEIROS, J. M. A.; DANTAS, E. S.; SOUZA, D. R. M.; NARDELLI, M. J; CARVALHO, M. G. X. Qualidade do leite de cabra in natura processado em mini-usinas do médio sertão e cariri paraibano – Estudo comparativo. *In*: CONGRESSO NACIONAL DE LATICÍNIOS, 24, 2007, Juiz de Fora. **Anais...** Juiz de Fora: Instituto de Laticínios Cândido Tostes - ILCT V.62, n. 357, p. 430-436. 2007.

ARCURI, E. F.; BRITO, M. A. V. P.; BRITO, J. R. F.; PINTO, S. M.; ÂNGELO, F. F.; SOUZA, G. N. Qualidade microbiológica do leite refrigerado nas fazendas. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.58, n.3, p.440-446, 2006.

ASSISTÊNCIA ESTATÍSTICA. **ASSISTAT**. Versão 7.5 beta. Campina Grande. 2008.

BARROS, G. C.; LEITÃO, C. H. S. Influência da mastite sobre as características físico-químicas do leite de cabra. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 12, n. ¾, p. 45-48, jul./dez., 1992.

BARROS, G. M. S.; JESUS, N. M.; SILVA, M. H. Pesquisa de resíduos de antibióticos em leite pasteurizado tipo c, comercializado na cidade de Salvador. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**. V. n. p. 69-73, 2001.

BIER, O. **Bacteriologia e imunologia**. 21<sup>a</sup> ed. São Paulo. Melhoramentos. 1981. p.501 – 510.

BORGES, G. T; SANTANA, A. P; MESQUITA, A. J; MESQUITA, S. Q. P; SILVA, L. A. F; NUNES, V. Q. Ocorrência de resíduos de antibióticos em leite pasteurizado integral e padronizado produzido e comercializado no estado de Goiás. **Ciência Animal Brasileira**. 1(1): p.59-63, 2000. Disponível em: <<http://www.vet.ufg.br/cab1-1-07.pdf>>. Acesso em: 17 jan. 2006.

BRANCHER, C. C; FAGUNDES, C. M. Adaptação do método da redutase para detectar antibióticos no leite. **Revista Brasileira de Agrociência**, V.2, p. 80-84,1998.

BRANDÃO, S. C. C. Leite: legislação, responsabilidade e saúde pública. **Rev. Balde Branco**, 360: 68-71, 1994.

BRASIL, Ministério da Agricultura e Abastecimento. **Instrução normativa N° 42, de 20 de dezembro de 1999. Altera o Plano nacional de controle de resíduos em produtos de origem animal**. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/pls/portal/url/ITEM/2F>>. Acesso em: 16 de abril de 2008.

BRASIL, Ministério da Agricultura, pecuária e Abastecimento. **Instrução normativa N° 51, de 18 de setembro de 2002. Regulamentos Técnicos de Produção, Identidade e Qualidade do Leite tipo A, do Leite tipo B, do Leite tipo C, do Leite Pasteurizado e do Leite Cru Refrigerado e o Regulamento Técnico da Coleta de Leite Cru Refrigerado e seu Transporte a Granel**. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/pls/portal/url>>. Acesso em: 16 de abril de 2008.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa N° 37 - Regulamento Técnico de Produção, identidade e qualidade do leite de cabra. Diário Oficial da União de 8 de novembro de 2000**. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/das/dipoa/legislação>>. Acesso em: 17 de julho de 2007.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa N° 62 - Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água. Diário Oficial da União de 26 de agosto de 2003**. Disponível em: <<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis>>. Acesso em: 01 de maio de 2008.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa N° 68 - Métodos Analíticos Oficiais Físico-Químicos, para Controle de Leite e Produtos Lácteos. Diário Oficial da União de 12 de dezembro de 2006.** Disponível em: <<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta>>. Acesso em: 01 de maio de 2008.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Métodos de análise microbiológica para alimentos.** Brasília. 2.a revisão. 1991/1992.

BRENDEHAUG, J.; ABRAHAMSEM, R. K. Chemical composition of milk from a herd of Norwegian goats. **Journal of Dairy Research**, v.53. p.211-221.1986.

BRITO, M. A. V. P.; BRITO, J. R. F.; SOUZA, H. M.; VARGAS, O. L. Avaliação da sensibilidade da cultura de leite do tanque para isolamento de agentes contagiosos da mastite bovina. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.18, n.1, p.39-44, 1998.

BUCHANAN, R. E.; GIBBONS, N. E. **Bergey's manual of determinative bacteriology.** 8ª ed. Baltimore, Maryland. Waverly Press Inc. 1975.p. 290 – 296.

CAMPOS, M. R. H.; KIPNIS, A.; DANTAS, M. C.; ANDRÉ, P. B.; VIEIRA, C. A. S.; LIANA BORGES JAYME,; SANTOS, P. P.; SERAFINI, A. B. Caracterização fenotípica pelo antibiograma de cepas de *Escherichia coli* isoladas de manipuladores, de leite cru e de queijo Minas Frescal em um laticínio de Goiás, Brasil. **Ciência Rural** v.36 n.4 Santa Maria jul./ago. 2006.

CARVALHO, M. G. X. **Características físico-químicas, biológicas e microbiológicas do leite de cabra processado em micro usinas da Região da Grande São Paulo – SP.** 1998. Tese (Doutorado). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo.

CERQUEIRA, M. M. O. P. Resíduos de drogas veterinárias no leite e suas repercussões em saúde pública. In: CONGRESSO PERNAMBUCANO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 5, 2003, Recife. **Anais...** Recife: Sociedade Pernambucana de Medicina Veterinária - SPEMVE, Brasil 2003 p. 31- 41.

CORDEIRO, P. R. C. **A cadeia produtiva do leite de cabra.** In: CONGRESSO PERNAMBUCANO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 5, 2003, Recife. **Anais...** Recife: Sociedade Pernambucana de Medicina Veterinária - SPEMVE, Brasil 2003 p. 171- 176.



COSTA, E. O. Resíduos de antibióticos no leite: um risco à saúde do consumidor. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 10, n. 44, p. 15-17, 1996.

DARTON-HILL, I., COVENEY, J., DAVEY, G. R. Goat milk nutritional and public health aspects: a review. **Food Technology in Australia**, Sidney, v.39, n.12, p. 568- 572, 1987.

DAVIS, B. D.; DULBECCO, R.; EISEN, H. N.; GINSBERG, H. S. **Microbiology: including immunology and molecular genetics**. 3ª ed. Philadelphia, Pennsylvania. Harper & Row Publishers. 1980.p. 646 – 658.

DELAZARI, I. Aspectos microbiológicos ligados a segurança e qualidade da carcaça de aves. In: Semana Acadêmica Veterinária, 8., 1998, São Paulo. **Anais...** São Paulo: Departamento de Medicina Veterinária – DMV. 1998. p.71-77.

DELGADO-PERTINEZ, M. *et al.*, Effect of hygiene-sanitary management on goat milk quality in semi-intensive systems in Spain. **Small ruminant Research**, v.47, n.1, p.51-61, 2003.

FRAZIER, N.C. **Microbiologia de los alimentos**. Zaragoza: Acribia, 1976. p.512.

FURTADO, M. M. Leite de Cabra: Características especiais de seu uso na alimentação-intolerância. **Revista do ILCT**, Juiz de Fora, v. 36, n.214, p.31-37, 1981.

FURTADO, M. M.; WOLSCHOON-POMBO, F. Peculiaridade do leite de cabra para fabricação de queijos. **Higiene Alimentar** v.9, p.28-31. 1995.

GOVERNO DA PARAÍBA. **Programa do leite da Paraíba**. Disponível em: <<http://www.fac.pb.gov.br/pagina.html?programas>>. Acesso em: 23 de junho de 2008.

GUIMARÃES, M. P. M. P *et al.* Caracterização de alguns componentes celulares e físico-químicos do leite para diagnóstico de mamite caprina. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 41, n.2, p.129-142, 1989.

GUIMARÃES, M. P. S. L. M P.; CORDEIRO, P. R. C. Dimensionamento do mercado de produtos lácteos no Brasil, In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE CAPRINOS DE CORTE, 2. 2003. João Pessoa **Anais...** João Pessoa: Associação Brasileira dos Criadores de Caprinos e Ovinos, p.95-101,

HAENLEIN, G. F. W. Goat Milk in human nutrition. **Small ruminant research**. Vol. 51. p. 155-163. 2004.

HAJDENWURCEL, J. R. **Atlas de microbiologia de alimentos**. São Paulo: Fonte Comunicações e Editora Ltda., 1998. 65 p.

LEBBIE, S. H. B. Goats under household conditions. **Small Ruminant Research**. v. 51, p. 131–136. 2004.

MAHON, C. R.; MANUSELIS Jr, G. Textbook of diagnostic microbiology. Philadelphia, Pennsylvania. W. B. Saunders Company. 1995.p. 447 – 456.

MEDEIROS, N. G. A. **Detecção de antibióticos no leite *in natura* consumido no município de Patos – PB**. 1999. 25 p. Monografia (Especialização em Saúde Pública Veterinária) – Universidade Federal da Paraíba, Patos, 1999.

MERCK. Microbiology manual 2000. Berlin. Merck. 2000.

MOTA, R. A. Mastite caprina: prevalência de agentes infecciosos envolvidos no estado de Pernambuco e indicações terapêuticas In: CONGRESSO PERNAMBUCANO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 5, 2003, Recife. *Anais...* Recife: Sociedade Pernambucana de Medicina Veterinária - SPEMVE, Brasil 2003 p. 129-132.

NARDELLI, M. J; NOGUEIRA, F. R. B; SIQUEIRA, I. N; CARVALHO, M. G. X. Ocorrência de Resíduos de Antibióticos do Grupo Beta-lactâmicos no Leite de Cabra Produzido no Município de Prata - PB. In: CONGRESSO NACIONAL DE LATICÍNIOS, 23, 2006, Juiz de Fora. *Anais...* Juiz de Fora: Instituto de Laticínios Cândido Tostes - ILCT V.61, n. 351, p. 204-206. 2006.

OLIVEIRA, S. C. P. L. **Características da Pasteurização do Leite de Cabra Adotada em mini-usinas do Cariri Paraibano**. 2005. 56p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária de pequenos ruminantes) Centro de Saúde e Tecnologia Rural. Universidade Federal de Campina Grande. Patos.

PARDI, M. C.; SANTOS, I. F.; SOUZA, E. R.; PARDI, H. S. **Ciência, higiene e tecnologia da carne: Riscos microbiológicos da carne**, Goiânia: UFG, 1995. v.1, p. 294-308.

PELANT, R. K.; CHANDRA, B.; PU, J. B.; LOHANI, M.; SUKNAPHASAWAT, N.; XU, G. Small Ruminants in development: the Heifer Project International experience in Asia. **Small Ruminant Research**, v. 34, i. 3, p. 249-257.1999.

PICOLI, S. U.; BESSA, M. C.; CASTAGNA, S. M. F.; GOTTARDI, C. P. T.; SCHMIDT, V.; CARDOSO, M. Quantificação de coliformes, *Staphylococcus aureus* e mesófilos presentes em diferentes etapas da produção de queijo frescal de leite de cabra em laticínios, **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, 26(1): 64-69, jan.-mar. 2006.

QUINN, P. J.; MARKEY, B. K.; CARTER, M. E.; DONNELLY, W. J.; LEONARD, F. C. Trad. LÚCIA HELENA NIEDERAUER WEISS & RITA DENISE NIEDERAUER WEISS. **Microbiologia veterinária e doenças infecciosas**. Porto Alegre. Artmed. 2005. p.116.

RIBEIRO, M. C.; SOARES, M. M. S. R. **Microbiologia prática: roteiro e manual, bactérias e fungos. 1ª ed. 1ª reimpressão**. São Paulo. Atheneu. 1998.

SANTOS, M. G. O. **Monitoramento das Condições de Processamento de Leite de Cabra Através do Método de Análise de Perigos e Pontos críticos de Controle – APPCC em Mini-usinas do Cariri Paraibano**. 2005. 94 p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária de pequenos ruminantes) Centro de Saúde e Tecnologia Rural. Universidade Federal de Campina Grande. Patos.

SEBRAE. AGÊNCIA SEBRAE DE NOTÍCIAS – ASN. **Paraíba é o maior produtor de leite de cabra do país**. Disponível em: <[www.asn.interjornal.com.br/noticia\\_pdf.kmf](http://www.asn.interjornal.com.br/noticia_pdf.kmf)> acessado em: 23 de junho de 2008.

SIGARINI, C. O. **Avaliação bacteriológica da carne bovina desossada em estabelecimentos comerciais do município de Cuiabá – MT/Brasil**. 2004. Dissertação (Mestrado em Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal) Centro de Ciências Médicas. Universidade Federal Fluminense. Niterói.

SILVA, M. P.; CAVALLI, D. R.; OLIVEIRA, T. C. R. M. Avaliação do padrão coliformes a 45°C e comparação da eficiência das técnicas dos tubos múltiplos e petrifilm EC na detecção de coliformes totais e *escherichia coli* em alimentos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas v.26, n.2, p.352-359, 2006.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A. **Métodos de análise microbiológica de alimentos**. Campinas: ITAL, 1995. p. 228.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. São Paulo: Varela, 1997. p. 295.

SIMPLÍCIO, A. A.; WANDER, A. **Organização e gestão da unidade produtiva na caprino-ovinocultura**. In: CONGRESSO PERNAMBUCANO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 5, 2003, Recife. *Anais...* Recife: Sociedade Pernambucana de Medicina Veterinária - SPEMVE, Brasil 2003. p. 177- 187.

SINN, R.; KETZIS, T.; CHEN, T. The role of woman in the sheep and goat sector. **Small Ruminant Research**, v. 34, i. 3, p. 259-269.1999.

SIQUEIRA, I. N. **Características Físico-químicas e Pesquisa de Resíduos de Antibióticos no Leite de Cabra nas Mini-usinas do Cariri Paraibano**. 2007. 96p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária de pequenos ruminantes) Centro de Saúde e Tecnologia Rural. Universidade Federal de Campina Grande. Patos.

SIQUEIRA, R. S. **Manual de microbiologia de alimentos**. Brasília: EMBRAPA, 1995. p.159.

SOUZA, S.; BENEDET, H. D. **Estudos da qualidade físico-química e microbiológica do leite pasteurizado numa indústria de Santa Catarina**. Curitiba. 1988, v. 5, n. 1,. p. 26-32 (Boletim do CEPPA).

TEIXEIRA NETO, R. O.; VITALI, A. A. Desenvolvimento da pasteurização para leite embalado em sacos de polietileno. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas v.15, n.1, p.86-88, 1995.

VANDERZANT, C. & SPLITTSTOESSER, D. F. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 3.ed. Washington: American Public Health Association, 1996. p.873.

VEISSEYRE, R. **Lactologia Técnica** 2ed. Acribia: Zaragoza, 1998. p629.

WHITEA, E. C.; HINCKLEY, L. S. Prevalence of mastitis pathogens in goat milk. **Small Ruminant Research**. 33. 1999. p.117-121.

# **ANEXOS**

### Tabela de Número Mais Provável (NMP) de coliformes

MNP por mililitro de amostra inoculando  
as diluições de 1,0; 0,1 e 0,01 em cada tubo

Número de tubos positivos			NMP por mL	Número de tubos positivos			NMP por mL
1,0	0,1	0,01		1,0	0,1	0,01	
0	0	0	0	2	0	0	0,91
0	0	1	0,3	2	0	1	1,4
0	0	2	0,6	2	0	2	2,0
0	0	3	0,9	2	0	3	2,6
0	1	0	0,3	2	1	0	1,5
0	1	1	0,61	2	1	1	2,0
0	1	2	0,92	2	1	2	2,7
0	1	3	1,2	2	1	3	3,4
0	2	0	0,62	2	2	0	2,1
0	2	1	0,93	2	2	1	2,8
0	2	2	1,2	2	2	2	3,5
0	2	3	1,6	2	2	3	4,2
0	3	0	0,94	2	3	0	2,9
0	3	1	1,3	2	3	1	3,6
0	3	2	1,6	2	3	2	4,4
0	3	3	1,9	2	3	3	5,3
1	0	0	0,36	3	0	0	2,3
1	0	1	0,72	3	0	1	3,9
1	0	2	1,1	3	0	2	6,4
1	0	3	1,5	3	0	3	9,5
1	1	0	0,73	3	1	0	4,3
1	1	1	1,1	3	1	1	7,5
1	1	2	1,5	3	1	2	12,0
1	1	3	1,9	3	1	3	16,0
1	2	0	1,1	3	2	0	9,3
1	2	1	1,5	3	2	1	15,0
1	2	2	2,0	3	2	2	21,0
1	2	3	2,4	3	2	3	29,0
1	3	0	1,6	3	3	0	24,0
1	3	1	2,0	3	3	1	46,0
1	3	2	2,4	3	3	2	110,0
1	3	3	2,9	3	3	3	> 110,0

=====

ASSISTAT Versão 7.5 beta (2008) - Homepage <http://www.assistat.com>  
 Por Francisco de Assis S. e Silva UAEA-CTRN-UFMG Campina Grande-PB

=====

Arquivo ACIDEZ EM GRAUS DORNIC (°D)  
 Data 28/08/2008 Hora 22:52:36

EXPERIMENTO INTEIRAMENTE CASUALIZADO

QUADRO DE ANÁLISE

F.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Tratamentos	1	86.64000	86.64000	19.8478 **
Resíduo	148	646.05333	4.36523	
Total	149	732.69333		

\*\* significativo ao nível de 1% de probabilidade ( $p < .01$ )  
 \* significativo ao nível de 5% de probabilidade ( $.01 \leq p < .05$ )  
 ns não significativo ( $p \geq .05$ )

GL: 1, 148 F-krit(1%) = 6.8082 F = 19.8478 p < .00100

MÉDIAS E MEDIDAS

Médias de tratamento

1	16.66667 a
2	15.14667 b
DMS =	0.67395

MG = 15.90667 CV% = 13.13482

As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si. Foi aplicado o Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade

DADOS

-----  
 Os dados não foram apresentados porque a tabela excede a largura desta tela  
 -----

Para cálculo dos valores críticos de F e da probab. de F calculado, o Assistat utiliza o Algoritmo 724 (Abernathy, Roger W. & Smith, Robert P. Algorithm 724: Program to calculate F-percentiles. ACM Trans. Math. Softw. 19, No.4, 481-483(1993).)

SIGLAS E ABREVIACÕES

UFMG = Universidade Federal de Campina Grande

CTRN = Centro de Tecnologia e Recursos Naturais  
 UAEA = Unidade Acadêmica de Engenharia Agrícola  
 F.V. = Fonte de variação    G.L. = Graus de liberdade  
 S.Q. = Soma de quadrado    Q.M. = Quadrado médio  
 F = Estatística do teste F    MG = Média geral  
     CV% = Coeficiente de variação em %  
     DMS = Diferença mínima significativa

#### NOTA

Quando o F fica muito próximo mas não atinge a significância poderá haver diferença significativa entre a maior e a menor média. Também poderá não haver diferença significativa entre médias quando o F é significativo porém muito próximo da não significância. Isso é limitação da aplicação conjunta dos testes F e de Tukey, citada por Frederico Pimentel Gomes no seu livro; Curso de EXTATÍSTICA EXPERIMENTAL (ver o item 3.3)

#### REFERÊNCIAS DO ASSISTAT

Silva, F. de A. S. e. & Azevedo, C. A. V. de. A New Version of The Assistat-Statistical Assistance Software. In: WORLD CONGRESS ON COMPUTERS IN AGRICULTURE, 4, Orlando-FL-USA: Anais... Orlando: American Society of Agricultural Engineers, 2006. p.393-396.

Silva, F. de A. S. e. & Azevedo, C. A. V. de. Versão do programa computacional Assistat para o sistema operacional Windows. Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais, Campina Grande, v.4,n.1, p71-78,2002.

Silva, F.de A.S.e. The ASSISTAT Software: statistical assistance. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON COMPUTERS IN AGRICULTURE, 6, Cancun, 1996. Anais... Cancun: American Society of Agricultural Engineers, 1996. p.294-298.

OBS: Estes resultados estão em fonte Courier New de tamanho = 12



=====

ASSISTAT Versão 7.5 beta (2008) - Homepage <http://www.assistat.com>  
 Por Francisco de Assis S. e Silva UAEA-CTRN-UFCG Campina Grande-PB

=====

Arquivo DENSIDADE PELO TERMOLACTODENSÍMETRO CALIBRADO A 15°C  
 Data 28/08/2008 Hora 22:54:52

EXPERIMENTO INTEIRAMENTE CASUALIZADO

QUADRO DE ANÁLISE

F.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Tratamentos	1	97.12327	97.12327	3.9658 *
Resíduo	148	3624.50533	24.48990	
Total	149	3721.62860		

\*\* significativo ao nível de 1% de probabilidade ( $p < .01$ )  
 \* significativo ao nível de 5% de probabilidade ( $.01 \leq p < .05$ )  
 ns não significativo ( $p \geq .05$ )

GL: 1, 148 F-krit(5%) = 3.9049 F = 3.9658 p = .04827

MÉDIAS E MEDIDAS

Médias de tratamento

1	1026.82100	b
2	1028.43100	a
DMS =	1.59632	

MG = 1027.62600 CV% = 0.48157

As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si. Foi aplicado o Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade

DADOS

-----  
 Os dados não foram apresentados porque a tabela excede a largura desta tela  
 -----

Para cálculo dos valores críticos de F e da probab. de F calculado, o Assistat utiliza o Algoritmo 724 (Abernathy, Roger W. & Smith, Robert P. Algorithm 724: Program to calculate F-percentiles. ACM Trans. Math. Softw. 19, No.4, 481-483(1993).)

SIGLAS E ABREVIACÕES

UFCG = Universidade Federal de Campina Grande

CTRN = Centro de Tecnologia e Recursos Naturais  
UAEA = Unidade Acadêmica de Engenharia Agrícola  
F.V. = Fonte de variação G.L. = Graus de liberdade  
S.Q. = Soma de quadrado Q.M. = Quadrado médio  
F = Estatística do teste F MG = Média geral  
CV% = Coeficiente de variação em %  
DMS = Diferença mínima significativa

#### NOTA

Quando o F fica muito próximo mas não atinge a significância poderá haver diferença significativa entre a maior e a menor média. Também poderá não haver diferença significativa entre médias quando o F é significativo porém muito próximo da não significância. Isso é limitação da aplicação conjunta dos testes F e de Tukey, citada por Frederico Pimentel Gomes no seu livro; Curso de EXTATÍSTICA EXPERIMENTAL(ver o item 3.3)

#### REFERÊNCIAS DO ASSISTAT

Silva, F. de A. S. e. & Azevedo, C. A. V. de. A New Version of The Assistat-Statistical Assistance Software. In: WORLD CONGRESS ON COMPUTERS IN AGRICULTURE, 4, Orlando-FL-USA: Anais... Orlando: American Society of Agricultural Engineers, 2006. p.393-396.

Silva, F. de A. S. e. & Azevedo, C. A. V. de. Versão do programa computacional Assistat para o sistema operacional Windows. Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais, Campina Grande, v.4,n.1, p71-78,2002.

Silva, F.de A.S.e. The ASSISTAT Software: statistical assistance. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON COMPUTERS IN AGRICULTURE, 6, Cancun, 1996. Anais... Cancun: American Society of Agricultural Engineers, 1996. p.294-298.

OBS: Estes resultados estão em fonte Courier New de tamanho = 12

=====

ASSISTAT Versão 7.5 beta (2008) - Homepage <http://www.assistat.com>  
 Por Francisco de Assis S. e Silva UAEA-CTRN-UFCG Campina Grande-PB

=====

Arquivo PERCENTAGEM DE GORDURA PELO BUTIRÔMETRO DE GERBER  
 Data 28/08/2008 Hora 22:58:11

EXPERIMENTO INTEIRAMENTE CASUALIZADO

QUADRO DE ANÁLISE

F.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Tratamentos	1	0.30827	0.30827	0.6876 ns
Resíduo	148	66.35067	0.44832	
Total	149	66.65893		

\*\* significativo ao nível de 1% de probabilidade ( $p < .01$ )  
 \* significativo ao nível de 5% de probabilidade ( $.01 \leq p < .05$ )  
 ns não significativo ( $p \geq .05$ )

GL: 1, 148 F-krit(5%) = .001 F = .6876 p > .10000

MÉDIAS E MEDIDAS

Médias de tratamento

1	4.04800 a
2	3.95733 a

DMS = 0.21598

MG = 4.00267 CV% = 16.72794

As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si. Foi aplicado o Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade

DADOS

-----  
 Os dados não foram apresentados porque a tabela excede a largura desta tela  
 -----

Para cálculo dos valores críticos de F e da probab. de F calculado, o Assistat utiliza o Algoritmo 724 (Abernathy, Roger W. & Smith, Robert P. Algorithm 724: Program to calculate F-percentiles. ACM Trans. Math. Softw. 19, No.4, 481-483(1993).)

SIGLAS E ABREVIACÕES

UFCG = Universidade Federal de Campina Grande

CTRN = Centro de Tecnologia e Recursos Naturais  
UAEA = Unidade Acadêmica de Engenharia Agrícola  
F.V. = Fonte de variação G.L. = Graus de liberdade  
S.Q. = Soma de quadrado Q.M. = Quadrado médio  
F = Estatística do teste F MG = Média geral  
CV% = Coeficiente de variação em %  
DMS = Diferença mínima significativa

#### NOTA

Quando o F fica muito próximo mas não atinge a significância poderá haver diferença significativa entre a maior e a menor média. Também poderá não haver diferença significativa entre médias quando o F é significativo porém muito próximo da não significância. Isso é limitação da aplicação conjunta dos testes F e de Tukey, citada por Frederico Pimentel Gomes no seu livro; Curso de EXTATÍSTICA EXPERIMENTAL(ver o item 3.3)

#### REFERÊNCIAS DO ASSISTAT

Silva, F. de A. S. e. & Azevedo, C. A. V. de. A New Version of The Assistat-Statistical Assistance Software. In: WORLD CONGRESS ON COMPUTERS IN AGRICULTURE, 4, Orlando-FL-USA: Anais... Orlando: American Society of Agricultural Engineers, 2006. p.393-396.

Silva, F. de A. S. e. & Azevedo, C. A. V. de. Versão do programa computacional Assistat para o sistema operacional Windows. Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais, Campina Grande, v.4,n.1, p71-78,2002.

Silva, F.de A.S.e. The ASSISTAT Software: statistical assistance. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON COMPUTERS IN AGRICULTURE, 6, Cancun, 1996. Anais... Cancun: American Society of Agricultural Engineers, 1996. p.294-298.

OBS: Estes resultados estão em fonte Courier New de tamanho = 12

=====

ASSISTAT Versão 7.5 beta (2008) - Homepage <http://www.assistat.com>  
 Por Francisco de Assis S. e Silva UAEA-CTRN-UFCG Campina Grande-PB

=====

Arquivo PERCENTAGEM DO EXTRATO SECO TOTAL

Data 28/08/2008 Hora 23:01:38

EXPERIMENTO INTEIRAMENTE CASUALIZADO

QUADRO DE ANÁLISE

F.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Tratamentos	1	76.99867	76.99867	28.7187 **
Resíduo	148	396.80841	2.68114	
Total	149	473.80708		

\*\* significativo ao nível de 1% de probabilidade ( $p < .01$ )

\* significativo ao nível de 5% de probabilidade ( $.01 \leq p < .05$ )

ns não significativo ( $p \geq .05$ )

GL: 1, 148 F-krit(1%) = 6.8082 F = 28.7187 p < .00100

MÉDIAS E MEDIDAS

Médias de tratamento

1	10.68520 b
2	12.11813 a

DMS = 0.52818

MG = 11.40167

CV% = 14.36122

As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si. Foi aplicado o Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade

DADOS

-----

Os dados não foram apresentados porque a tabela excede a largura desta tela

-----

Para cálculo dos valores críticos de F e da probab. de F calculado, o Assistat utiliza o Algoritmo 724 (Abernathy, Roger W. & Smith, Robert P. Algorithm 724: Program to calculate F-percentiles. ACM Trans. Math. Softw. 19, No.4, 481-483(1993).)

SIGLAS E ABREVIACÕES

UFCG = Universidade Federal de Campina Grande

CTRN = Centro de Tecnologia e Recursos Naturais  
 UAEA = Unidade Acadêmica de Engenharia Agrícola  
 F.V. = Fonte de variação    G.L. = Graus de liberdade  
 S.Q. = Soma de quadrado    Q.M. = Quadrado médio  
 F = Estatística do teste F    MG = Média geral  
     CV% = Coeficiente de variação em %  
     DMS = Diferença mínima significativa

#### NOTA

Quando o F fica muito próximo mas não atinge a significância poderá haver diferença significativa entre a maior e a menor média. Também poderá não haver diferença significativa entre médias quando o F é significativo porém muito próximo da não significância. Isso é limitação da aplicação conjunta dos testes F e de Tukey, citada por Frederico Pimentel Gomes no seu livro; Curso de EXTATÍSTICA EXPERIMENTAL (ver o item 3.3)

#### REFERÊNCIAS DO ASSISTAT

Silva, F. de A. S. e. & Azevedo, C. A. V. de. A New Version of The Assistat-Statistical Assistance Software. In: WORLD CONGRESS ON COMPUTERS IN AGRICULTURE, 4, Orlando-FL-USA: Anais... Orlando: American Society of Agricultural Engineers, 2006. p.393-396.

Silva, F. de A. S. e. & Azevedo, C. A. V. de. Versão do programa computacional Assistat para o sistema operacional Windows. Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais, Campina Grande, v.4,n.1, p71-78,2002.

Silva, F.de A.S.e. The ASSISTAT Software: statistical assistance. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON COMPUTERS IN AGRICULTURE, 6, Cancun, 1996. Anais... Cancun: American Society of Agricultural Engineers, 1996. p.294-298.

OBS: Estes resultados estão em fonte Courier New de tamanho = 12

=====

ASSISTAT Versão 7.5 beta (2008) - Homepage <http://www.assistat.com>  
 Por Francisco de Assis S. e Silva UAEA-CTRN-UFCG Campina Grande-PB

=====

Arquivo PERCENTAGEM DO EXTRATO SECO DESENGORDURADO  
 Data 28/08/2008 Hora 23:03:31

EXPERIMENTO INTEIRAMENTE CASUALIZADO

QUADRO DE ANÁLISE

F.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Tratamentos	1	87.05089	87.05089	70.8624 **
Resíduo	148	181.81046	1.22845	
Total	149	268.86135		

\*\* significativo ao nível de 1% de probabilidade ( $p < .01$ )  
 \* significativo ao nível de 5% de probabilidade ( $.01 \leq p < .05$ )  
 ns não significativo ( $p \geq .05$ )

GL: 1, 148 F-krit(1%) = 6.8082 F = 70.8624 p < .00100

MÉDIAS E MEDIDAS

Médias de tratamento

1	6.63720	b
2	8.16080	a
DMS =	0.35752	

MG = 7.39900 CV% = 14.97978

As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si. Foi aplicado o Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade

DADOS

-----  
 Os dados não foram apresentados porque a tabela excede a largura desta tela  
 -----

Para cálculo dos valores críticos de F e da probab. de F calculado, o Assistat utiliza o Algoritmo 724 (Abernathy, Roger W. & Smith, Robert P. Algorithm 724: Program to calculate F-percentiles. ACM Trans. Math. Softw. 19, No.4, 481-483(1993).)

SIGLAS E ABREVIACÕES

UFCG = Universidade Federal de Campina Grande

CTRN = Centro de Tecnologia e Recursos Naturais  
 UAEA = Unidade Acadêmica de Engenharia Agrícola  
 F.V. = Fonte de variação    G.L. = Graus de liberdade  
 S.Q. = Soma de quadrado    Q.M. = Quadrado médio  
 F = Estatística do teste F    MG = Média geral  
     CV% = Coeficiente de variação em %  
     DMS = Diferença mínima significativa

#### NOTA

Quando o F fica muito próximo mas não atinge a significância poderá haver diferença significativa entre a maior e a menor média. Também poderá não haver diferença significativa entre médias quando o F é significativo porém muito próximo da não significância. Isso é limitação da aplicação conjunta dos testes F e de Tukey, citada por Frederico Pimentel Gomes no seu livro; Curso de EXTATÍSTICA EXPERIMENTAL (ver o item 3.3)

#### REFERÊNCIAS DO ASSISTAT

Silva, F. de A. S. e. & Azevedo, C. A. V. de. A New Version of The Assistat-Statistical Assistance Software. In: WORLD CONGRESS ON COMPUTERS IN AGRICULTURE, 4, Orlando-FL-USA: Anais... Orlando: American Society of Agricultural Engineers, 2006. p.393-396.

Silva, F. de A. S. e. & Azevedo, C. A. V. de. Versão do programa computacional Assistat para o sistema operacional Windows. Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais, Campina Grande, v.4,n.1, p71-78,2002.

Silva, F.de A.S.e. The ASSISTAT Software: statistical assistance. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON COMPUTERS IN AGRICULTURE, 6, Cancun, 1996. Anais... Cancun: American Society of Agricultural Engineers, 1996. p.294-298.

OBS: Estes resultados estão em fonte Courier New de tamanho = 12