

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
ESCOLA DE NUTRIÇÃO
MESTRADO EM ALIMENTOS, NUTRIÇÃO E SAÚDE**

GUILHERME AUGUSTO VIEIRA DA SILVA

**AVALIAÇÃO DAS CONDIÇÕES DE OBTENÇÃO DO
LEITE E DA AÇÃO DE SANIFICANTES NO TANQUE
DE EXPANSÃO EM UMA PROPRIEDADE LEITEIRA
NO MUNICÍPIO DE CANDEIAS /BAHIA – ESTUDO DE
CASO**

**SALVADOR
2006**

GUILHERME AUGUSTO VIEIRA DA SILVA

**AVALIAÇÃO DAS CONDIÇÕES DE OBTENÇÃO DO
LEITE E DA AÇÃO DE SANIFICANTES NO TANQUE
DE EXPANSÃO EM UMA PROPRIEDADE LEITEIRA
NO MUNICÍPIO DE CANDEIAS /BAHIA – ESTUDO DE
CASO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação da Escola de Nutrição da Universidade Federal da Bahia como requisito para obtenção do grau de MESTRE em Alimentos, Nutrição e Saúde.

ORIENTADORA: Prof.^a Dr.^a. EUGÊNIA MÁRCIA DE DEUS OLIVEIRA

**SALVADOR
2006**

Ficha catalográfica elaborada pela Bibliotecária Damares Oliveira CRB/51434.

S58 Silva, Guilherme Augusto Vieira da.
Avaliação das condições de obtenção do leite e da ação de sanificantes no tanque de expansão em uma propriedade leiteira no município de Candeias/BA [manuscrito]: estudo de caso / Guilherme Augusto Vieira da Silva. – 2006.
82f. : il.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal da Bahia, Escola de Nutrição, 2006.

Orientação: Profa. Dra. Eugênia Márcia de Deus Oliveira.

1. Pecuária leiteira. 2. Leite - qualidade. 3. Leite cru. I. Título.

CDD – 630.637 - 21 ed.

**AVALIAÇÃO DAS CONDIÇÕES DE OBTENÇÃO DO LEITE E DA
AÇÃO DE SANIFICANTES NO TANQUE DE EXPANSÃO EM UMA
PROPRIEDADE LEITEIRA NO MUNICÍPIO DE CANDEIAS /BAHIA –
ESTUDO DE CASO**

GUILHERME AUGUSTO VIEIRA DA SILVA

Esta dissertação foi julgada adequada para a obtenção do grau de Mestre em Alimentos, Nutrição e Saúde, e aprovada na sua forma final pelo Programa de Pós-graduação da Escola de Nutrição da Universidade Federal da Bahia.

Profa.Dra. Ana Marlúcia de Assis Oliveira
Coordenadora

Apresentada à banca examinadora integrada pelos professores:

Profa. Dra. Eugênia Márcia de Deus Oliveira.
Orientadora

Prof.Dr.Maurício Costa Alves da Silva

Prof.Dr. Joselito Nunes Costa

Dedico este trabalho à memória de minha mãe e
as estimadas e amadas Luciana e Beatriz.

AGRADECIMENTOS

- Agradeço primeiramente a Deus e aos protetores espirituais pela força na condução dos estudos;
- Agradeço ao meu irmão Carlos Magno pela força;
- Agradeço especialmente a Orientadora Professora Eugênia Oliveira pela sua presteza e colaboração;
- Agradeço ao Colegiado do Curso de Pós-Graduação da ENUFBa, especialmente às Coordenadoras Professoras Ana Marlúcia e Sandra Chaves;
- Agradecimento a Professora Ryzia Cardoso que iniciou o trabalho e ajudou em muito na sua confecção;
- Agradeço ao proprietário da fazenda em que foi realizado o trabalho Sr. Geraldo Magela pela colaboração;
- Agradeço aos colaboradores da fazenda: Sr. José Vicente, Sr. Antônio e Francisco, pois colaboraram com toda presteza. Sem vocês o trabalho não teria condições de ser realizado;
- Agradeço ao pessoal que trabalhou no laboratório: Camila, Margarida, Meyre, Vanessa, Viviane Figueiredo, D.Arminda, Josenilda (pela força) todas muito especiais que me fizeram ver que ninguém faz nada sozinho;
- A Faculdade de Tecnologia e Ciências de Salvador que liberou o laboratório para análises;
- Aos colegas e amigos da FTC: IhanMarck, e Marcelo Nery;
- Agradeço ao Sr. José Francisco pelo muito que colaborou na execução da pesquisa;
- Agradeço a aluna PIBIC Irene Magalhães pela dedicação e colaboração. Você foi muito especial em todo o processo.
- Agradeço as demais pessoas que colaboraram direta e indiretamente na execução do trabalho.

RESUMO

A demanda pela qualidade do leite vem aumentando a cada dia em todas as bacias leiteiras do país, e os produtores, para atender à indústria e aos consumidores, além do preço competitivo, precisam enfrentar o desafio de manter e garantir a qualidade do leite após a saída da fazenda. O presente estudo teve por objetivos: 1) Caracterizar as condições locais de obtenção do leite de uma fazenda no Estado da Bahia; 2) Propor e recomendar procedimentos operacionais de higiene; 3) Realizar análises microbiológicas e do pH da água utilizada na propriedade; 4) Realizar análises microbiológicas do leite cru refrigerado armazenadas no tanque de expansão; 5) Isolar e identificar as bactérias presentes no tanque de expansão; 6) Avaliar a eficiência do uso de um detergente (alcalino clorado) e três sanificantes (hipoclorito de sódio, clorexidina e ácido peracético no tanque de expansão. Como resultados, para cada um dos itens obteve-se: 1) A caracterização da fazenda revelou condições que variaram de insatisfatórias a satisfatórias para produção de leite cru resfriado, contudo, diversas deficiências quanto ao contexto higiênico-sanitário foram identificadas; 2) Na medida em que a higiene constitui fator primordial na determinação da qualidade inicial do leite, os resultados evidenciam necessidades, tanto para o estabelecimento de critérios na adoção de programas de higienização quanto de investimentos em atividades de apoio e orientação aos produtores, com o propósito de corrigir os problemas encontrados e alcançar maior eficiência nos métodos de obtenção do leite nas propriedades; 3) Foram isoladas bactérias aeróbias mesófilas, coliformes totais e fecais da água proveniente da fonte e da torneira da propriedade, apresentando um pH de 4,0 e 4,2 na água da fonte e torneira respectivamente; 4) Foram isoladas bactérias aeróbias mesófilas, coliformes totais e fecais do leite cru refrigerado; 5) Foram isoladas do tanque de expansão as bactérias: *Enterobacter spp.*; *Enterobacter hafnia*; *Pseudomonas spp.*; *Streptococcus spp.*; *Micrococcus spp* *Staphylococcus spp* e *Bacillus spp.*; 6) Apesar dos resultados estatísticos não apresentarem diferenças significativas quanto a eficiência do produtos, observou-se uma média de 4,09 reduções decimais para o produto à base de hipoclorito de sódio, enquanto que o detergente clorado apresentou a menor média com 2,18 reduções decimais. Considera-se que o simples uso de tanques de expansão na atividade leiteira não significa necessariamente leite de melhor qualidade, devendo os produtores ficar atentos quanto aos aspectos de higiene em todos os processos da fazenda, investir no melhoramento da qualidade da água e educar os colaboradores no tocante a higiene pessoal e do ambiente

Palavras-chave: Pecuária leiteira. Leite - qualidade. Leite cru.

ABSTRACT

The request for milk quality is increasing daily in all milk production properties. In order to face the demands of the industries and the customers, moreover competitive price, the producers need to face the challenge of maintaining and guaranteeing the milk quality after leaving the farm. The present study had the following goals: 1) Characterize the local conditions of milk obtention in a dairy farm located in the State of Bahia; 2) Suggest and recommend higienical managing procedures; 3) Carry out microbiological and PH analysis of the water utilized in the property; 4) Do microbiological analysis in the raw milk stored in the bulk tank; 5) Isolate and identify the bacteria found in the bulk tank; 6) Evaluate the efficiency in the use of a detergent (alkaline clored) and three sanitary elements (sodium hipoclorite, clorexidine, and peracetic acid) in the bulk tank. The results obtained for each item were: 1) The farm's appraisal revealed conditions that varied from insatisfactory to satisfactory for raw cooled milk production; However, varied higienic-sanitary deficiency were identified; 2) Considering that hygienics is the main factor in the determination of the initial quality of milk, the results show the need for the establishment of criteria in the adoption of higienization programs and for the investments in activities of support and the orientation of producers seeking to correct the problems and reach better efficiency in milk harvesting methods in the dairy farms; 3) There were aerobic mesophila bacteria, total and faecal coliforms in the farm's stream and tap water showing a pH of 4.0 and 4.2 respectively; 4) The isolated items in the the raw cooled milk were: aerobic mesophila bacteria and coliforms total and faecal; 5) These bacteria were found and isolated in the bulk tank: *Enterobacter hafnia*.; *Pseudomonas* ssp.; *Streptococcus* ssp.; *Streptococcus* ssp.; *Micrococcus* ssp.; *Staphylococcus* and *Bacillus* ssp.; 6) Despite the statistic results not showing significant differences considering the efficiency of the products, it was noticed an average of 4.09 decimal reduction for sodium hipoclorite use, while the chlorine detergent showed a less average rate with a 2.18 decimal reduction. It is considered that the simple use of bulk tanks in the milk activity does not mean milk of better quality necessarily, having the producers to be intent how much to the aspects of hygiene in all the processes of the farm, to invest in the improvement of the quality of the water and to educate the collaborators in regards to personal hygiene and of the environment.

Key-words: Cattle milkmaid. Milk - quality. Raw milk.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

	f.
Figura 1: Vista panorâmica da Fazenda Boa Esperança	44
Figura 2: Local de espera (próximo ao estábulo)	44
Figura 3: Estábulo – Local onde é realizada a ordenha	44
Figura 4: Área destinada ao preparo de ração com triturador	45
Figura 5: Presença de insetos alados (moscas)	46
Figura 6: Presença de pragas (teia de aranha)	46
Figura 7: Fonte de abastecimento de água natural com a bomba – área da capineira	47
Figura 8: Reservatório central de água	47
Figura 9: Capineira com depósito de dejetos orgânicos (esterco)	48
Figura 10: Armazenamento do esterco a céu aberto	49
Figura 11: Local destinado para resíduos químicos e não orgânicos	49
Figura 12: Ordenha manual	50
Figura 13: Baldes, latões e utensílios utilizados nas operações da fazenda	51
Figura 14: Tanque de resfriamento e seus componentes	52
Figura 15: Localização do tanque de resfriamento próximo ao estábulo	53
Figura 16: Fluxograma do processo de higienização do tanque de resfriamento	54
Figura 17: Animais da propriedade	55
Figura 18: Momento de pastejo dos animais	55
Figura 19: Médias de reduções decimais após avaliação da utilização do detergente alcalino-clorado e sanificantes	63

LISTA DE TABELAS

	f.
Tabela 1: Resultados das análises microbiológicas da água utilizada na fazenda	56
Tabela 2: Valores de pH das amostras de água em diferentes pontos da propriedade	56
Tabela 3: Contagem total de aeróbios mesófilos, psicrotróficos e estimativa de coliformes fecais e totais para caracterização inicial do leite no tanque de expansão	58
Tabela 4: Microrganismos identificados no tanque de resfriamento (expansão)	60
Tabela 5: Média de reduções decimais da população microbiana após uso do detergente alcalino clorado e composição com sanificantes	63

LISTA DE QUADROS

	f.
Quadro 1: Produtos analisados e recomendações	38

SUMÁRIO

	f.	
1	INTRODUÇÃO	14
2	REVISÃO DE LITERATURA	17
2.1	PECUÁRIA LEITEIRA	17
2.2	QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DO LEITE CRU REFRIGERADO	19
2.3	HIGIENIZAÇÃO E O USO DE SANIFICANTES	21
2.3.1	DETERGENTES	24
2.3.2	SANIFICANTES	25
2.4	HIGIENIZAÇÃO DAS FAZENDAS LEITEIRAS	30
3	MATERIAL E MÉTODOS	33
3.1	TIPO DE ESTUDO	33
3.2	LOCAL DE ESTUDO	33
3.3	REALIZAÇÃO DAS ANÁLISES LABORATORIAIS	34
3.4	VERIFICAÇÃO DAS CONDIÇÕES LOCAIS DE OBTENÇÃO DO LEITE	34
3.5	ANÁLISES DA ÁGUA	35
3.5.1	ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS	35
3.5.2	ANÁLISE FÍSICO-QUÍMICA – DETERMINAÇÃO DO pH	36
3.6	ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS DO LEITE CRU REFRIGERADO	36
3.7	ISOLAMENTO E IDENTIFICAÇÃO DAS BACTÉRIAS PRESENTES NO TANQUE DE EXPANSÃO	37
3.8	AVALIAÇÃO DA EFICIÊNCIA DO USO DE SANIFICANTES NO TANQUE DE EXPANSÃO	37

3.8.1	PRODUTOS ANALISADOS	37
3.8.2	AVALIAÇÃO DA EFICIÊNCIA DOS PRODUTOS	38
3.9	ESTUDO ESTATÍSTICO – MODELO DE ESTUDO	40
3.10	DELINEAMENTO EXPERIMENTAL	40
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	43
4.1	AVALIAÇÃO DA FAZENDA	43
4.1.1	CONDIÇÕES DAS INSTALAÇÕES E LIMPEZA DO AMBIENTE	43
4.1.2	CONTROLE DE PRAGAS	45
4.1.3	ÁGUA DE ABASTECIMENTO	47
4.1.4	RESÍDUOS ORGÂNICOS (ESTERCOS, LIXOS, RESÍDUOS DE RAÇÕES)	49
4.1.5	EQUIPAMENTOS, UTENSÍLIOS, VASILHAMES E TIPO DE ORDENHA	50
4.1.6	ANIMAIS DA PROPRIEDADE	54
4.2	ANÁLISE DA ÁGUA UTILIZADA NA FAZENDA	55
4.3	CARACTERIZAÇÃO MICROBIOLÓGICA INICIAL DA QUALIDADE DO LEITE PRODUZIDO	58
4.4	IDENTIFICAÇÃO DAS BACTÉRIAS PRESENTES NO TANQUE DE RESFRIAMENTO	60
4.5	AVALIAÇÃO DA EFICIÊNCIA DOS PRODUTOS SANIFICANTES	62
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS	67
	REFERÊNCIAS	69
	APÊNDICE A: Check-List	75
	APÊNDICE B: Resultado do experimento	79

1 INTRODUÇÃO

No nordeste brasileiro, a pecuária leiteira apresenta-se como uma alternativa capaz de gerar emprego e renda em muitos municípios. Observa-se na região uma elevada taxa de crescimento no número de agroindústrias que utilizam como matéria-prima o leite produzido pelos pequenos e médios produtores.

O leite é um alimento rico em nutrientes contendo proteínas, carboidratos, gorduras, vitaminas e sais minerais. Sua qualidade microbiológica e físico-química é um dos temas mais discutidos atualmente no cenário nacional de produção leiteira. Depois de secretado do úbere, o leite pode ser contaminado por microrganismos a partir de três principais fontes: glândula mamária, superfície exterior do úbere e tetos, e superfície do equipamento e utensílios de ordenha e tanque (FONSECA; SANTOS, 2001).

A presença dos microrganismos do leite indica que o seu índice de contaminação microbiana pode ser usado na avaliação da qualidade intrínseca, bem como das condições sanitárias de produção e saúde do rebanho. Considerando o potencial de se multiplicarem, as bactérias do leite podem causar alterações químicas, tais como a degradação de gorduras, de proteínas ou de carboidratos, podendo tornar o produto impróprio para o consumo humano e industrialização (COUSIN, 1982).

Fontes ambientais de contaminação do leite incluem a água utilizada na limpeza dos equipamentos, utensílios, ambiente e fornecimento aos animais. A água usada para estes fins deve ser potável, com ausência de coliformes e baixas contaminações de outros gêneros bacterianos (COUSIN; BRAMLEY, 1981). O leite pode ser contaminado quando entra em contato com a superfície do equipamento e/ou utensílios de ordenha, assim como no próprio tanque de refrigeração do leite. A contagem bacteriana total do leite pode aumentar

significativamente quando em contato com equipamentos nos quais a limpeza e sanitização são deficientes, pois os microrganismos proliferam nos resíduos de leite presentes em recipientes, borrachas, junções e qualquer outro local onde ocorra seu acúmulo (GUERREIRO et al., 2005).

A refrigeração do leite, por si só, não é garantia de qualidade. É extremamente importante que o leite cru seja obtido em condições higiênico-sanitárias adequadas para diminuir a contaminação inicial e, desta forma, a redução da temperatura pode manter a contagem microbiana em níveis baixos. Salienta-se que, quanto maior o tempo de estocagem sob baixas temperaturas (7 a 10°C) de um leite apresentando alta contagem inicial de microrganismos, maiores serão as possibilidades de alterações no produto final (leite pasteurizado, leite ultra pasteurizado e queijos), pela ação de microrganismos psicrotóxicos, com o predomínio do gênero *Pseudomonas* spp (FAGUNDES et al., 2006).

De acordo com Hayes, (1993), Amiot (1991), Jay (2005) e, Lange e Brito (2005), os microrganismos presentes no leite podem ser patogênicos (causadores de doenças) ou saprófitas (deterioradores).

Entende-se por sanificação ou sanitização o conjunto de procedimentos empregados para diminuir dos equipamentos e utensílios o número de microrganismos a níveis considerados seguros para a saúde pública, assim como dos ambientes e manipuladores, usados nas operações de elaboração e industrialização dos alimentos (GERMANO et. al, 2001). O uso de sanificantes é de vital importância na produção e processamento do leite, pois tem por objetivo eliminar microrganismos presentes em locais que não foram removidos pela limpeza (AMIOT, 1991; GERMANO et al., 2001).

Sendo o leite um importante alimento para o consumidor e de uma indiscutível presença na economia do Brasil com reflexos no campo social, faz-se necessário um estudo que avalie a qualidade do leite estocado sob refrigeração em propriedades rurais frente aos

padrões de produção, identidade e qualidade, como também análises microbiológicas dos equipamentos que podem interferir na qualidade do produto e que causam sérios prejuízos econômicos para as indústrias e a saúde do consumidor, além disso, justifica-se necessário um estudo aprofundado e direcionado para avaliar a eficiência de produtos de higiene em tanques de expansão e a realização de diagnósticos dos níveis de contaminação do leite conservado em tanques de expansão através de análises microbiológicas.

Assim sendo, delineou-se o presente trabalho com os seguintes objetivos:

a) Gerais: Avaliar a eficiência de sanificantes em um tanque de expansão e caracterizar as condições locais de obtenção do leite em uma fazenda localizada no Município de Candeias no Estado da Bahia;

b) Específicos: Propor e recomendar procedimentos operacionais de higiene; realizar análises microbiológicas e do pH da água utilizada na propriedade; realizar análises microbiológicas do leite cru refrigerado armazenadas no tanque de expansão; isolar e identificar as bactérias presentes no tanque de expansão.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 PECUÁRIA LEITEIRA

A pecuária leiteira incorpora vários processos produtivos especializados ao longo de suas atividades, deixando de ser uma atividade simples e de subsistência para se tornar uma atividade com finalidade empresarial e econômica.

Sob o ponto de vista mercadológico, a cadeia agroindustrial do leite caracteriza-se como uma das mais importantes do agronegócio brasileiro, tanto sob a ótica econômica quanto social. Está presente em todo território nacional, desempenhando um papel relevante, tanto no suprimento de alimentos quanto na geração de empregos e de renda para a população (GOMES et al., 2001).

A atividade leiteira pertence a uma cadeia produtiva que gera uma renda de aproximadamente R\$ 18 bilhões de reais/ano através dos diferentes segmentos que a compõe: insumos para agropecuária e indústria laticinista; produção primária de leite; captação e transporte da matéria prima; indústria processadora; transporte e distribuição de produtos processados; mercado e consumo (GOMES et. Al., 2001).

O Brasil alcançou a sexta posição entre os maiores produtores de leite no mundo, com uma produção estimada de 24,5 bilhões de litros de leite em 2005. Esse valor corresponde à participação de 4,9% na produção mundial de 495 bilhões de litros. O consumo interno de produtos lácteos é de 127 litros/hab/ano, apresentando um consumo médio *per capita de* leite fluído de 27 litros/hab/ano (NEVES et al., 2006).

A pecuária leiteira brasileira conta com um rebanho composto por 33,9 milhões de cabeças, distribuídas em mais de um milhão de propriedades, estimando uma participação de 3,6 milhões de pessoas envolvidas na produção primária (MARTINS, 2006). Observa-se um grande avanço na produção dos rebanhos. Em 1990, a média de produção das vacas no país era de 759 litros de leite por ano, aumentando em 2000 para 1.105 litros (CARVALHO, 2006), e em 2004 para 1.145 litros/ano/vaca (NEVES et al., 2006), o que demonstra a evolução nos processos produtivos das propriedades brasileiras.

O Brasil vem aumentando suas exportações de produtos lácteos nos últimos anos. As vendas externas de produtos lácteos brasileiros em 2004 alcançaram US\$ 95,4 milhões, ao passo que em 2005 as vendas externas atingiram US\$130,1 milhões, com aumento de 26,6 % em relação ao mesmo período (RODRIGUES, 2006).

O fator decisivo para o aumento das exportações de produtos lácteos foi a melhoria da qualidade do leite produzido no Brasil, devido ao cumprimento por parte dos produtores dos padrões estabelecidos pela nova legislação, por meio da Instrução Normativa N° 51/2002 (CARVALHO, 2006; RODRIGUES, 2006).

Com o objetivo de promover a melhoria da qualidade do leite e derivados e aumentar a competitividade dos produtos lácteos, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento editou a Instrução Normativa n° 51 de Setembro de 2002, que além de propor requisitos e parâmetros de qualidade do leite, propõe mudanças no sistema de armazenamento e coleta de leite nas fazendas, mantendo o leite armazenado sob refrigeração a 4° C por 48 horas em tanques de expansão. A legislação determina ainda que o tempo transcorrido entre a ordenha inicial e a sua recepção no estabelecimento processador dever ser no máximo 48 horas, independente do tipo de leite (BRASIL, 2002).

O consumidor moderno cada vez mais opta por produtos de qualidade (NEVES et. al., 2000). A preocupação pela qualidade do leite vem aumentando a cada dia em todas as bacias

leiteiras do país, assim os produtores, para atender à indústria e aos consumidores, além do preço competitivo, precisam enfrentar o desafio de manter e garantir a qualidade do leite após a saída da fazenda (BRITO; BRITO, 1998; SANTOS, 2004).

2. 2 QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DO LEITE CRU REFRIGERADO

O leite é considerado um dos alimentos mais ricos em termos nutritivos em razão de conter vários componentes como carboidratos, lipídeos, proteínas, vitaminas e sais minerais. Consumido tanto na sua forma líquida quanto na forma de derivados como queijos, iogurtes, manteiga e sobremesas, sendo um importante componente alimentar. Por ser considerado um alimento altamente nutritivo, o leite é um excelente meio de cultura para o desenvolvimento de microrganismos (AMIOT, 1991; BRITO; BRITO, 1998; FONSECA; SANTOS, 2000).

Os microrganismos presentes no leite podem ser patogênicos ou saprófitas, estes últimos chamados de contaminantes ou deterioradores, que não causam doenças, mas promovem deteriorações dos produtos, dando origem a características sensoriais indesejáveis, interferindo nos processos de fermentação e diminuindo a vida de prateleira (AMIOT, 1991; HAYES, 1993; JAY, 2005; LANGE; BRITO, 2005).

Após a saída do úbere, as principais vias de contaminação por microrganismos são as superfícies internas do equipamento de ordenha, tanque de expansão e os latões para transporte do leite (COUSIN; BRAMLEY, 1981).

Dentre as principais bactérias que contaminam o leite destacam-se: as bactérias ácido-láticas, psicotróficas, coliformes, termodúricas, termofílicas, formadoras de esporos e

causadoras de mastites. Também podem ser citados outros microrganismos como os bolores, leveduras e vírus (AMIOT, 1991; HAYES, 1993; JAY, 2005; LANGE; BRITO, 2005).

De acordo com Fonseca e Santos (2000, apud CASSOLLI, 2005), a qualidade microbiológica do leite pode ser enfocada sob dois diferentes prismas: a qualidade industrial e o risco à saúde pública. No que se refere à qualidade industrial, Lange e Brito (2005) enumeram os principais prejuízos devido à alta carga microbiana, destacando-se os problemas com acidificação e coagulação, produção de gás, geleificação, sabor amargo, coagulação sem acidificação, aumento da viscosidade, alteração de cor, produção de sabores e odores variados.

Com a implementação de programas de resfriamento do leite na fazenda com posterior coleta e transporte preconizado pela Instrução Normativa 51/2002, pretende-se aumentar a qualidade do leite produzido no Brasil. No entanto, o uso da técnica promove a manutenção do leite em temperaturas de refrigeração até o momento do beneficiamento, favorecendo assim o crescimento seletivo de microrganismos psicotróficos que apresentam boa capacidade de crescimento mesmo em baixas temperaturas (FONSECA; SANTOS, 2001; ARCURI, 2003).

Trabalhos publicados por Thomas e Thomas nos Estados Unidos em 1973 mostraram que os primeiros estudos com bactérias psicotróficas foram realizados em 1903 e que a sua importância comercial começou a ser destacada na década de 50.

Dentre as bactérias psicotróficas, o gênero mais encontrado são as *Pseudomonas* (THOMAS; THOMAS, 1973; COUSIN, 1982; HAYES, 1993). De acordo com Muir (1996 apud FONSECA; SANTOS, 2001), este gênero é considerado o mais importante, podendo ser encontrado em aproximadamente 10% da microbiota do leite recém ordenhado.

Uma importante característica dos psicotróficos é a sua capacidade de sintetizar enzimas extracelulares (lípases e proteases), que degradam os componentes do leite,

diminuindo o seu valor nutritivo e o seu rendimento industrial. Embora a grande maioria das bactérias psicrotróficas seja destruída durante a pasteurização do leite, este tratamento térmico é pouco efetivo com relação a atividade das enzimas produzidas por estes microrganismos, uma vez que são consideradas termorresistentes (HAYES, 1993; FRANCO; LANDGRAF, 1996; FONSECA; SANTOS, 2001; ABREU, 2002).

Do ponto de vista da saúde pública, o consumo de leite cru produzido por fazendas em condições inadequadas de manejo de ordenha, armazenamento e transporte do leite, podem acarretar risco à saúde do consumidor (CASSOLLI, 2005).

De acordo com Johns (1995), Boor (1997) e Arcuri (2003), as doenças transmitidas pelo consumo de leite cru, mais conhecidas são: tuberculose, brucelose, difteria, febre Q e as gastroenterites.

A nova legislação brasileira (BRASIL,2002) estabeleceu prazos e parâmetros de qualidade para ser implementadas no Brasil. Os estados do centro-sul e sudeste começaram a cumprir os padrões determinados pela Instrução Normativa em julho de 2005, tendo que atingir 1.000.000 UFC/ml de contagem padrão em placas até 2008. Os estados do norte e nordeste começarão a cumprir os padrões a partir de julho de 2007, tendo que atingir o mesmo valor até 2010.

2.3 HIGIENIZAÇÃO E O USO DE SANIFICANTES

As operações de higienização são partes essenciais da produção de alimentos, seja nas unidades de base produtiva (fazendas leiteiras, por exemplo) como nas unidades processadoras de alimentos (agroindústrias). Entende-se por higienização aos processos

combinados de limpeza e sanificação, que aplicados à produção de alimentos tem por finalidade assegurar ao consumidor um produto final de qualidade (AMIOT, 1991; HAYES, 1993; ANDRADE; MACEDO, 1996; GERMANO et al., 2001).

As etapas de higienização compreendem a limpeza no qual se realiza inicialmente a lavagem com água a alta pressão e/ou ação mecânica (varreduras) para remoção das sujidades; em seguida são utilizados agentes químicos detergentes, visando a remoção dos resíduos orgânicos e minerais das superfícies, seguido do enxágüe; posteriormente é utilizado o sanificante cuja finalidade é reduzir o número de microrganismos a níveis seguros que não provoquem deterioração nos alimentos e riscos à saúde pública (PINTO, 2000; OLIVEIRA, 2002).

A monitoração e avaliação da efetividade da higienização (limpeza e desinfecção) em ambientes de produção de alimentos constituem um ponto crítico no controle de qualidade higiênico – sanitário. As conseqüências de um controle ineficiente de higiene podem levar a intoxicações alimentares, perdas totais de lote produzidos e interrupção de processos de produção (HAYES, 1993; PINTO, 2000).

Entende-se por limpeza ao processo pelo qual são removidos materiais estranhos como matéria orgânica, inorgânica e sujidades de superfícies, paredes, pisos, objetos (equipamentos, utensílios). Tem por finalidade extrair todos os resíduos presentes nas superfícies, otimizando a ação dos agentes detergentes e sanificantes (PINTO, 2000; VIALTA et al., 2002; SILVA JR., 2005). Na limpeza química são utilizados detergentes (HAYES, 1993).

Em relação ao leite e seus derivados, Vialta et al. (2002) e Arcuri (2003) enfatizam a dificuldade de remoção dos resíduos destes produtos, pois são resíduos bastante complexos, compostos de substâncias orgânicas (gorduras, proteínas e açúcares) e minerais e que aderem às superfícies dos equipamentos e utensílios de forma bastante resistente. Os autores sugerem

que a remoção desses resíduos, por meio da limpeza, deve ser realizada imediatamente após o término do uso de equipamentos e realização de operações, para evitar a formação de depósitos persistentes e de difícil remoção. A limpeza e higienização ineficientes das superfícies têm como consequência a precipitação dos resíduos minerais que formam incrustações ('formação de pedras do leite'). Os resíduos orgânicos resultantes da higienização inadequada, além de fornecerem nutrientes para o crescimento das bactérias, impedem a ação dos sanificantes químicos. Os resíduos também favorecem a formação de biofilmes, que diminuem a eficiência dos equipamentos, além de serem uma grande fonte de contaminação microbiológica (ANDRADE; MACEDO, 1996; ARCURI, 2003).

De acordo com Germano et. al. (2001), a sanificação tem por objetivo eliminar microrganismos presentes em locais que não foram removidos pela limpeza.

Os agentes sanificantes são classificados em físicos (radiação, calor, pressão), químicos (compostos desinfetantes) e biológicos (bacteriófagos, bactérias e fungos antagonistas) (HAYES, 1993; ANDRADE; MACEDO, 1996).

Um dos fatores que interferem na eficiência dos sanificantes é a natureza dos microrganismos (por exemplo, esporos bacterianos que são mais resistentes que as células vegetativas) e a composição dos sanificantes. Outros fatores interferem na efetividade dos sanificantes como: os fatores físicos (características das superfícies, concentração da solução); os fatores químicos (pH e dureza da água) e a contaminação biológica (presença de microrganismos e matéria orgânica na água) (HAYES, 1993; ANDRADE; MACEDO, 1996; PINTO, 2000; AMARO, 2001).

2.3.1 DETERGENTES

Entre as substâncias detergentes incluem-se as alcalinas, os ácidos e os tensoativos (HAYES, 1993; ANDRADE; MACEDO, 1996; PINTO, 2000).

A principal função dos detergentes é reduzir a tensão superficial, permitindo a melhor penetração das soluções nas sujidades, facilitando sua mistura com a água e promovendo a remoção das sujidades (VÉRAS, 2002). Os detergentes devem ser usados de acordo com o tipo de resíduo, qualidade da água, tipo de superfície a ser higienizada e dos procedimentos de higienização (HAYES, 1993).

A incorporação de substâncias alcalinas nos detergentes deveu-se há vários fatores, dentre eles: a constatação de que a maioria dos resíduos presentes nas superfícies a serem higienizadas era composta de gorduras; e a observação de que alguns agentes alcalinos atuam sobre as ligações protéicas, rompendo-as e hidrolisando as proteínas em cadeias menores (VÉRAS, 2002).

O uso de detergente alcalino-clorado apresenta um resultado superior aos produtos somente alcalinos. A adição de cloro no detergente alcalino atua como coadjuvante da limpeza na remoção de depósitos protéicos, gordurosos e incrustações biológicas, fator importante na limpeza dos equipamentos e utensílios utilizados no armazenamento do leite (LOPES, 2005).

Os detergentes ácidos têm como função a prevenção do acúmulo e remoção de depósito minerais presentes nas superfícies dos equipamentos como consequência de procedimentos de limpeza inadequados (ANDRADE; MACEDO, 1996; AMARO, 2001).

Tensoativos são compostos químicos, derivados de síntese orgânica (em sua maioria), cuja função principal é diminuir a tensão superficial das soluções, melhorando a superfície de

contato dos produtos com as sujidades. Apresentam em sua composição uma parte hidrofílica e outra hidrofóbica, insolúvel em água. São classificados de acordo com a sua atividade iônica: Aniônicos, catiônicos, não-iônicos e anfóteros. (HAYES, 1993; ANDRADE; MACEDO, 1996; PINTO, 2000; VERAS, 2000).

Os aniônicos dissociam-se em solução, apresentando o íon negativo como forma ativa. Neste grupo encontram-se a maioria dos detergentes comerciais, os sabões, os álcoois e hidrocarbonetos sulfonados, sulfonatos de alquila e arila (ANDRADE; MACEDO, 1996; PINTO, 2000).

Os catiônicos dissociam-se em solução, apresentando o íon positivo como forma ativa. São mais eficientes como germicidas do que como detergentes (apresentam baixo poder de detergência). Exemplifica-se neste grupo os quartenários de amônio. Já os compostos não-iônicos apresentam poder detergente, tem seu emprego nas formulações destinadas a equipamentos de limpeza em tubulações, onde não se forma muita espuma. Os compostos anfóteros possuem grupos aniônicos e catiônicos na mesma molécula. Apresentam propriedades aniônicas em meio alcalino e propriedades catiônicas em meio ácido (PINTO, 2000; VERAS, 2000).

2.3.2 SANIFICANTES

2.3.2.1 Compostos Clorados

Os agentes clorados em suas diversas formas comerciais são os sanificantes mais utilizados na área de alimentos e em estabelecimentos de alimentação. Dentre os compostos clorados, os inorgânicos estão sendo mais utilizados do que os orgânicos para a sanificação

dos equipamentos, em especial para aqueles cuja superfície é de aço inoxidável. Por apresentarem hidrólise imediata em solução aquosa, os compostos inorgânicos à base de cloro apresentam ação rápida, o que evita problemas de corrosão (ANDRADE; MACEDO, 1996; MELLO, 1997; PINTO, 2000).

Os compostos clorados mais utilizados são: hipocloritos de sódio (comercializado na forma líquida com teores 1 a 10 %), cálcio e de lítio, cloro gás e dióxido de cloro (compostos inorgânicos); cloraminas T, dicloramina T, dióxido ácido dicloroisocianúrico, dicloro dimetil hidantoína, (compostos orgânicos) (ANDRADE; MACEDO, 1996; PINTO, 2000).

Os compostos de cloro ativos têm uma ampla aplicação em diversas áreas, como desinfecção de água para consumo humano e processos industriais, alimentos e superfícies relacionadas como sanificação de superfícies, paredes, pisos, utensílios e equipamentos (ANDRADE ; MACEDO, 1996).

O hipoclorito de sódio em água dissocia-se em ácido hipocloroso e hipoclorito. O poder bactericida dos compostos clorados baseia-se, geralmente na liberação do ácido hipocloroso, em sua forma não-dissociada, quando em solução aquosa, com exceção do dióxido de cloro, que não se hidrolisa em solução aquosa e a molécula inteira é considerada o agente ativo (ANDRADE; MACEDO, 1996; FUJIHARA et al., 2002).

Há várias hipóteses relativas aos mecanismos de ação dos compostos clorados sobre os microrganismos, entre elas, as mais aceitas são (MCDONNELL; RUSSEL, 1999; ANDRADE; MACEDO 1996; MELLO, 1997):

a) reação com o *DNA* da célula, oxidando as bases piridímicas e púricas, paralisando a síntese protéica;

b) provocam a descarboxilação oxidativa dos aminoácidos formando nitrilas e aldeídos;

c) inibição da absorção de oxigênio e fosforilação oxidativa conjugada à quebra de macromoléculas;

d) formação de derivados nitroclorados de citosina.

Dentre as vantagens do uso de compostos clorados considera-se: baixo custo, ação rápida, efetividade e amplo espectro de ação para destruir bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, assim como esporos bacterianos, fungos e vírus; fácil manuseio e aplicação, além de não ser afetado pela dureza da água e efetivos em baixas concentrações. Dentre as desvantagens, observa-se: instabilidade ao armazenamento; inatividade pela presença da matéria orgânica na água; corrosividade em altas concentrações e menor eficiência com aumento de pH da solução sanitizante, os compostos clorados são altamente dependentes do pH, sendo mais efetivos em pH baixos (entre 4,0 a 7,5), quando a presença de ácido hipocloroso é dominante, na faixa de pH 7,5 e 9,5 predomina o íon hipoclorito, que apresenta baixa atividade antimicrobiana (ANDRADE; MACEDO, 1996; MCDONNELL; RUSSEL, 1999; PINTO, 2000; FUJIHARA et al., 2002).

2.3.2.2 Ácido Peracético

O ácido peracético é o princípio ativo de vários sanificantes disponíveis no mercado e destinados ao procedimento de higienização na indústria de alimentos, sendo utilizado como sanitizante alternativo aos compostos clorados. São produtos constituídos de uma mistura estabilizada de ácido peracético, peróxido de hidrogênio, ácido acético e um veículo estabilizante (ANDRADE; MACEDO, 1996; PINTO, 2000).

Quanto ao seu uso em indústrias de alimentos, foi comprovado a eficiência do uso de ácido peracético no controle de fungos em produtos derivados do tomate, observando também

redução microbiana em carcaças de frangos em substituição aos tratamentos com compostos clorados em abatedouros avícolas (MARTINS; KUAYE, 1996).

O seu mecanismo de ação deve-se ao alto poder oxidante, pois promove a oxidação dos componentes celulares, agindo sobre a membrana citoplasmática, desativando as funções fisiológicas da célula, como a barreira osmótica (FUJIHARA et al., 2002).

Dentre as vantagens do uso do ácido peracético destaca-se: alto poder oxidante (ação do ácido em equilíbrio com ácido acético e peróxido de hidrogênio) e excelente ação sobre as células vegetativas e também sobre esporos bacterianos, fungos e leveduras, devido à presença do peróxido de hidrogênio nas formulações (ANDRADE; MACEDO, 1996). Em baixas concentrações (0,3 %) a solução de ácido peracético possui atividade esporicida, bactericida, viricida e fungicida. A solução de ácido peracético é mais eficiente a temperaturas abaixo de 35 ° C e pH entre dois e quatro (MCDONNELL; RUSSEL, 1999).

A atividade germicida do ácido peracético é drasticamente afetada quando ocorre alteração do pH (acima de 7,0 e 8,0) e a presença da matéria orgânica na água (MCDONNELL; RUSSEL, 1999).

Apesar de apresentar um ótimo poder germicida, o ácido peracético é irritante para a pele e mucosas, necessitando de cuidados ao ser manuseado, além de apresentar instabilidade no seu armazenamento, pois expõe vapores irritantes para o aparelho respiratório, requerendo o uso de equipamentos de proteção individual por parte dos operadores (ANDRADE; MACEDO, 1996).

2.3.2.3 Clorexidina

A clorexidina é um componente da classe dos desinfetantes conhecidos como biguanidas. É um dos desinfetantes e antissépticos mais utilizados em clínica humana e

veterinária, por não ser irritante, sendo utilizado principalmente em tratamentos da cavidade oral (humanos e animais). Em medicina veterinária, a clorexidina é utilizada para desinfecção de gaiolas, tratamentos de mastites em vacas e anti-séptico em animais de companhia (BILL, 1993).

A clorexidina é encontrada na forma de diacetato, diidrocloreto e digluconato, sendo que as diluições do produto comercial recomendada para uso como sanificante variam entre 1:2000 e 1:3000. As soluções comerciais apresentam-se em concentração de 20%. É uma base com ponto de fusão a 134° C, apresentando todas as suas formas solúveis em água. Não possui cor, odor, não é irritante para a pele, possui baixa toxicidade, não é corrosiva para as superfícies e apresenta baixo poder residual (ANDRADE; MACEDO, 1996; PINTO, 2000; FUJIHARA et al., 2002).

A clorexidina apresenta atividade bactericida (principalmente para Gram negativos), virucida e fungicida (BILL, 1993). Não apresenta atividade esporicida e as micobactérias geralmente apresentam uma alta resistência aos compostos derivados das biguanidas (MCDONNELI; RUSSEL, 1999).

A clorexidina reduz sua atividade em solução contendo água mineralizada (água dura), é fortemente dependente de pH e tem sua atividade reduzida pela presença de matéria orgânica na água (BILL, 1993; MCDONNELL; RUSSEL, 1999). O pH efetivo da clorexidina varia na faixa entre 5 a 8 (MELLO, 1987).

O seu mecanismo de ação caracteriza-se por rápida absorção pelas células bacterianas, resultando em diversas modificações citológicas que afetam a permeabilidade celular e propriedades osmóticas, causando esgotamento celular (ANDRADE; MACEDO 1996; PINTO, 2000; FUJIHARA et al., 2002).

Em trabalho realizado por Pedrini e Margatto (2003), para testar diversos produtos sanificantes contra microrganismos causadores de mastites clínicas e ambientais (*in vitro*), a

clorexidine em concentração de 0,5% demonstrou maior eficácia em relação aos produtos a base de cloro, iodo e cloreto de benzalcônio.

A clorexidina tem sido recomendada como agente sanificante na indústria de alimentos, sendo utilizados em manipuladores, equipamentos, utensílios, e recomendada para controle microbiológico de salmouras no processamento de queijo (ANDRADE; MACEDO, 1996).

Ao comparar o uso de clorexidina em relação a outros compostos (iodóforo, derivado fenólico, extrato de semente de *grape-fruit*) em manipuladores de alimentos em restaurante comercial, Cardoso apud Andrade e Macedo (1996), observou uma melhor eficiência deste sanificante.

2.4 HIGIENIZAÇÃO DAS FAZENDAS LEITEIRAS

A higienização nas fazendas de leite tem como objetivo: preservar a saúde dos animais (evitando a proliferação de doenças e *stress*) e evitar a contaminação do leite (impedindo a deterioração e a proliferação de microrganismos deteriorantes e patogênicos) (SÁ, 1979).

A grande produção de resíduos orgânicos produzidos durante os vários processos operacionais diários constitui-se um dos principais problemas higiênico-sanitários encontrados na fazenda leiteira. (CAMPOS, 1998; FONSECA; SANTOS, 2000). De acordo com os autores, a concentração de animais em uma área reduzida (realização de operações ordenha, alimentação e tratamentos) promove uma grande formação de lama, que na maioria das vezes é resultante de uma mistura de esterco, urina, barro e umidade. Conseqüentemente, esta passa a ser uma fonte crítica de patógenos associados à ocorrência de mastite e microrganismos que afetam a qualidade do leite.

O acúmulo das matérias orgânicas em decomposição, proporciona ambiente propício para o desenvolvimento de pragas, particularmente os insetos alados (mosca doméstica, moscas de estábulos, moscas do lixo) e roedores (FRASER, 1991). Dentre os insetos de maior importância que afetam indiretamente a qualidade do leite, destacam-se a mosca doméstica e a mosca de estábulos (FREITAS; COSTA, 1982; FRAZER, 1991; FONTES, 1993).

Moraes et al (2004), comprovaram que a mosca dos estábulos é uma grande veiculadora de germes patogênicos. Em estudos realizados em propriedades leiteiras no Estado do Rio de Janeiro, os autores identificaram em amostras de leite e em moscas de estábulos coletadas para análises, vários microrganismos (*Staphylococcus spp.*; *Bacillus spp.*, *Shigella spp.*, *S. saprophyticus*) e associaram a presença dos microrganismos à ocorrência de mastite. Ressalta-se a importância deste estudo no que concerne que os microrganismos citados, além de serem patogênicos (possuem importância na saúde pública) são deteriorantes (afetam diretamente a qualidade do leite), conforme descrito por Boor (1997).

Ribeiro et al. (2006, b), recomenda remoção diária dos resíduos orgânicos produzidos pelos animais utilizando a ação mecânica (raspagem do solo, varreduras) do solo assim como jateamento de água utilizando máquinas apropriadas. Se possível utiliza-se uma solução de detergente após o processo de lavagem.

Outro fator importante a ser considerado em fazendas leiteiras é a higiene da ordenha. De acordo com Ribeiro et al. (2006 a, b), práticas higiênicas inadequadas durante a ordenha, prejudicam a qualidade do leite e predispõe a ocorrência de mastite, na maioria das vezes, por penetração dos microrganismos, através do canal da teta. De acordo com Nader Filho, citado por Amaral et al. (2004), a higienização prévia dos tetos, mãos do ordenhador e do local de ordenha são de grande importância para reduzir o número de microrganismos patogênicos no leite, e também para melhorar as condições higiênicas do mesmo. Fonseca e Santos (2000); Guerreiro et al. (2005) e Ribeiro et al. (2006 a, b), propõem manejo e práticas de higiene na

ordenha mecânica e manual, no ambiente, utensílios (ordenha manual e mecânica), dos animais e dos ordenhadores.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 TIPO DE ESTUDO

De acordo com a proposta da pesquisa optou-se por um modelo de estudo de caso, no qual foi avaliada apenas uma unidade de análise (Fazenda).

Esse modelo é plenamente justificado por Lazzarini (1997) que esclarece que dentro da metodologia de estudo de caso, a unidade de análise é a entidade central do problema de pesquisa. Evidencia que embora seja normalmente definida como sendo indivíduos, grupos ou organizações, ela pode ser também uma atividade, um processo, um aspecto ou uma dimensão do comportamento organizacional e social.

3.2 LOCAL DO ESTUDO

O trabalho foi desenvolvido em uma fazenda produtora de leite, localizada no Município de Candeias, na localidade da Boca da Mata no Km 37 da Rodovia BR 324 que liga Salvador a Feira de Santana, possui uma área de 60 hectares, com topografia acidentada e cercada em toda sua extensão perimétrica por arame liso em bom estado funcional. A fazenda é cortada por uma via de acesso interna com 500 metros de comprimento ligando a cerca principal até o curral e a sede. A fazenda apresenta 20% de sua área em reserva de floresta totalmente preservada e possui dois poços de petróleo em suas dependências.

3.3 REALIZAÇÃO DAS ANÁLISES LABORATORIAIS

As análises laboratoriais foram realizadas no Laboratório de Microbiologia da Faculdade de Tecnologia e Ciências de Salvador e no Laboratório de Bacterioses da Escola de Medicina Veterinária - UFBA.

As etapas que foram seguidas durante o desenvolvimento da pesquisa compreenderam:

3.4 VERIFICAÇÃO DAS CONDIÇÕES LOCAIS DE OBTENÇÃO DO LEITE

Para verificação das condições locais que poderiam contribuir na determinação da qualidade microbiológica do leite ordenhado, foi utilizado um formulário próprio, sob a forma de *check-list* (composto por questões objetivas), previamente testado, elaborado de acordo com as normas estabelecidas nas Portarias 368/97 e Instrução Normativa 51/2002, do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 1997, 2002).

Foram avaliados os seguintes itens no *check-list* (apêndice A): condições das instalações (currais, estábulo, local de ordenha e preparo de rações); limpeza do ambiente (condições de limpeza dos locais onde são realizadas as práticas diárias, frequência de limpeza); presença de pragas; água de abastecimento da propriedade (origem da água da fazenda, condições dos reservatórios, análise das águas); destino e tratamento dos resíduos orgânicos; estado de conservação e higiene dos equipamentos e utensílios utilizados nas práticas leiteiras; tipos de ordenha e condições dos animais e funcionários.

3.5 ANÁLISES DA ÁGUA

3.5.1 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS

Para as análises microbiológicas, foram coletadas amostras (em duplicata) de água de dois pontos: fonte e ponto de água (torneira) localizado próximo ao curral, na quantidade de 200 mL de cada local. As amostras foram coletadas assepticamente em recipientes esterilizados e, em seguida, acondicionadas sob resfriamento, em caixas isotérmicas com bolsas de gelo. As amostras foram então transportadas até o laboratório de análise, onde foram realizados a contagem total de aeróbios mesófilos (em placas) e o número mais

provável (NMP) de coliformes totais (*col.35°C*) e fecais (*col.45°C*) , conforme metodologias descritas pela *American Public Health Association – APHA* (WANDERZANT E SPLITTSTOESSER, 1992).

Técnica número mais provável (NMP) - Técnica utilizada para detecção e obtenção de informações sobre a população de bactérias do grupo coliformes presente nas amostras. Foram realizados testes presuntivos de coliformes, baseado na utilização de um meio de cultura rico em nutrientes, o caldo lauril sulfato triptose (LST). O teste confirmativo foi utilizado caldo verde brilhante bile lactose 2% estéril e caldo EC (*Escherichia coli*) .

Técnica contagem total aeróbios e mesófilos - Esta técnica também designada contagem padrão em placas, detecta em água ou alimento, o número de bactérias aeróbias ou mesófilas facultativas e mesófilas presentes tanto sob a forma vegetativa quanto esporulada. Analisou-se também a contagem de psicrotróficos, para leite armazenado sob refrigeração (WANDERZANT E SPLITTSTOESSER, 1992).

Para a realização desta técnica foi utilizado o Agar Padrão para Contagem – (PCA Merck) incubando-se a 35°C por 48 horas.

3.5.2 ANÁLISE FÍSICO-QUÍMICA – DETERMINAÇÃO DO pH

Para análise do pH da água, foi utilizado um pHâmetro portátil marca Quimis, modelo Q-400A(2003), procedendo-se a prévia calibração do equipamento. As amostras foram coletadas em duplicata, sendo considerados nos resultados os valores médios destas medidas.

3.6 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS DO LEITE CRU REFRIGERADO

As amostras do leite cru refrigerado foram analisadas microbiologicamente através das técnicas de contagem padrão em placas de microrganismos aeróbios mesófilos e psicrotróficos, e estimativa do Número Mais Provável (NMP) de coliformes totais (*col.35°C*) e fecais (*col.45°C*) e determinação, conforme metodologias descritas pela *American Public Health Association* – APHA (WANDERZANT; SPLITTSTOESSER, 1992);

Para a contagem de microrganismos psicrotróficos, utilizou-se a semeadura em meio Agar Padrão para Contagem (PCA - Merck) incubando-se a 7° C por 10 dias.

Para acompanhar o índice de crescimento microbiano do leite durante a estocagem resfriada, imediatamente após cada procedimento de higienização (uso do sanificante), com transferência do leite para o tanque, e ao final do período de estocagem (48h de armazenamento resfriado), foram coletadas amostras do produto para análises microbiológicas (contagem padrão em placas de microrganismos aeróbios mesófilos e psicrotróficos) conforme metodologia citada anteriormente.

3.7 ISOLAMENTO E IDENTIFICAÇÃO DAS BACTÉRIAS PRESENTES NO TANQUE DE EXPANSÃO

Com a finalidade de isolar e identificar as bactérias presentes no tanque de expansão foram coletadas amostras com *swabs* da pá homogeneizadora, parede interna e válvula, foram cultivadas nos meios de ágar sangue ovino (5%) desfibrinado e ágar Mac Conkey (Difco), incubadas em condições de aerobiose a 37°C, mantidas por 72 horas, com leituras 24, 48 e 72 horas, no Laboratório de Bacterioses da Escola de Medicina Veterinária-UFBA. Os microrganismos foram identificados segundo as características morfo-tintoriais, bioquímicas e de cultivo (QUINN et al., 1994; KRIEG; HOLT, 1994; MURRAY et al., 1999).

3.8 AVALIAÇÃO DA EFICIÊNCIA DO USO DE SANIFICANTES NO TANQUE DE EXPANSÃO

3.8.1 PRODUTOS ANALISADOS

Foram avaliados quatro produtos comerciais, utilizados conforme recomendações dos fabricantes: um detergente alcalino clorado e três sanificantes, sendo um derivado clorado (hipoclorito de sódio), outro da biguanida (digluconato de clorhexidina) e um derivado de ácido

orgânico peroxidado (ácido peracético). Após a utilização de cada produto, foi utilizado o detergente ácido.

O quadro 1 apresenta os produtos analisados com as recomendações dos fabricantes visando a sua utilização.

Agente de Limpeza	Diluição	Tempo de contato	pH
Detergente Alcalino clorado	40 ml / 10 litros de água	2 minutos	-
Derivado clorado (hipoclorito de sódio)	25 ml / 10 litros de água	2 minutos	4,0 - 7,5
Clorexidina	10 ml /10 litros de água	3 minutos	5-8
Ácido peracético	30 ml /30 litros de água	3 minutos	2 - 4
Detergente ácido	25 ml/ 10 litros de água	2 minutos	-

Quadro 1 – Produtos analisados e recomendações dos fabricantes

3.8.2 AVALIAÇÃO DA EFICIÊNCIA DOS PRODUTOS

Para testar a eficiência do agente de limpeza e sanificantes, foram realizadas análises das superfícies (parede lateral, pá homogeneizadora e válvula) do tanque de expansão, através da técnica do *swab*, sendo executadas após a descarga do leite (momento 0) e após o uso do detergente alcalino clorado e sanificante analisado. As amostras foram encaminhadas ao laboratório para análises microbiológicas (contagem padrão em placas de microrganismos de aeróbios mesófilos e psicrotróficos) conforme metodologia citada no item 3.5.1.

Para coleta, os *swabs* foram imersos em solução salina peptonada a 1,0%, sendo comprimidos contra a parede do tubo de ensaio contendo a solução, para remoção do excesso. Em seguida, os *swabs* eram friccionados nas áreas de interesse, de forma angular, com movimento firme e giratório, de modo a alcançar o máximo de recuperação dos microrganismos presentes. Nas áreas delimitadas, o *swab* foi passado em movimento tipo vai-e-vem, repetido três vezes; na válvula, em virtude do desenho da peça, optou-se por uma coleta com movimentos circulares na superfície interna, nas aberturas interna e externa do tanque, repetindo o mesmo movimento estabelecido para as áreas delimitadas. Para coletas na parede e na pá, de modo a uniformizar a técnica, foram empregados moldes de papel alumínio esterilizados, com área delimitada de coleta de 50cm².

Nas amostras coletadas após o procedimento de higienização, a solução diluente foi acrescida de neutralizantes para os agentes sanificantes, sendo utilizado o tiosulfato de sódio a 0,25% (para o detergente alcalino clorado, derivado clorado e ácido peracético) e Tween 80 a 2,0% (para a clorexidina).

A eficiência dos procedimentos de higienização foi interpretada com base no número de reduções decimais (RD) apresentado por cada tratamento, considerando-se a diferença entre o logaritmo decimal do número inicial de microrganismos presentes (Momento 0) e o logaritmo decimal do número final de microrganismos sobreviventes (Momento 1).

Os resultados encontrados, expressos como média para cada tratamento, foram utilizados para avaliar a eficiência dos procedimentos de higienização (comparação da eficiência dos tratamentos entre si).

3.9 ESTUDO ESTATÍSTICO – MODELO DE ESTUDO

A instrumentalização dos dados para tornar possível seu diagnóstico foi baseada na análise de variância com modelo hierarquizado ou aninhado. A comparação das médias das diferentes soluções foi realizada através de contrastes ortogonais.

Para estas comparações e avaliação global dos tratamentos, os testes de hipóteses foram processados através das estatísticas (distribuições) F e t, respectivamente, sendo o nível de significância para F fixado em 5% e para cada teste t fixado em 2 % para cada comparação, o que resulta num nível de significância simultâneo de 6%, de acordo com o ajuste de Bonferroni.

As análises foram processadas utilizando o *software estatístico R* (*Software* de domínio público disponível em <http://www.r-project.org>).

3.10 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

A Fazenda no qual foi realizado o experimento realiza ordenha manual duas vezes ao dia, onde o leite extraído é acondicionado em latões e transportado até ao tanque de expansão. O leite armazenado no tanque de expansão é recolhido a cada 48 h e enviado para o laticínio. A higiene do tanque de expansão obedece as seguintes normas preconizadas por Amaro (2001):

- a) drenagem do leite armazenado e enxágüe do tanque com água sobre pressão;
- b) drenagem de toda água do enxágüe;
- c) aplicação do detergente com a realização da limpeza manual em todas as partes e esfregação com esponjas apropriadas da tampa, das paredes, da pá homogeneizadora e da válvula;
- d) fechamento da válvula e enxágüe de todas as partes até sair todos os resíduos de leite e detergentes;
- e) drenagem de toda água de enxágüe;
- f) aplicação de sanificante. Enxágüe de todas as superfícies do tanque com a solução, permitindo um contato mínimo do sanificante com a superfície (tempo de acordo com o sanificante usado);
- g) drenagem da solução sanificante e promoção da secagem do tanque.

O experimento foi conduzido segundo o delineamento dos procedimentos operacionais de higienização realizados no tanque de expansão da propriedade, que obedecia as seguintes composições:

- a) Detergente Alcalino clorado;
- b) Detergente Alcalino clorado + Clorexidine;
- c) Detergente Alcalino clorado + Derivado Clorado;
- e) Detergente Alcalino clorado + Ácido Paracético.

Foram higienizadas as superfícies internas e externas do equipamento, utilizando-se como recursos auxiliares da higienização as escovas de cerdas de náilon, esponjas de poliuretano e a esfregação manual.

Foram realizadas três repetições em três partes diferentes do tanque de expansão (parede lateral, válvula e pá homogeneizadora) para cada produto antes de iniciar a higienização e após a higienização.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foi aplicado um instrumento na forma de questionário com o objetivo de avaliar as condições de obtenção do leite da fazenda conforme as normas estabelecidas nas Portarias 368/97 e Instrução Normativa 51/2002, do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 1997, 2002). Os resultados constam no apêndice A.

4.1 AVALIAÇÃO DA FAZENDA

4.1.1 CONDIÇÕES DAS INSTALAÇÕES E LIMPEZA DO AMBIENTE

As instalações nas quais são realizadas todas as operações diárias da propriedade (Figura 1) conta com uma área de espera com 80 m² onde os animais aguardam a ordenha (Figura 2), curral com estábulo com 60 m² (Figura 3) no qual são realizadas as ordenhas e os animais são arraçoados, local de preparo de ração contendo o triturador (Figura 4). As instalações são cercadas por madeira em bom estado de conservação, conforme demonstrado pela figura 1, onde também possuem tronco, embarcadouro e instalações sanitárias.



Figura 1: Vista panorâmica da Fazenda Boa Esperança



Figura 2: Local de espera (próximo ao estábulo)



Figura 3: Estábulo – Local onde é realizada a ordenha



Figura 4: Área destinada ao preparo de ração com triturador

Conforme as normas estabelecidas pela Instrução Normativa 51/2002 e Portaria 368/97 quanto às instalações e limpeza do ambiente, baseados no “*check-list*”(apêndice A), a propriedade apresenta condições estruturais satisfatórias e adequadas para realização da atividade leiteira. Quanto às condições de limpeza do ambiente, principalmente no local onde é realizada a ordenha e demais instalações, observam-se a necessidade da adoção de medidas higiênico-sanitárias mais efetivas: limpeza e higienização dos pisos, paredes e locais de preparo das rações.

4.1.2 CONTROLE DE PRAGAS

Nas instalações foi observada a presença de pragas conforme demonstrado nas figuras 5 e 6, principalmente insetos alados. Foram encontrados vestígios (fezes) de presença de roedores na área externa.



Figura 5: Presença de insetos alados (moscas)

Teia de aranha



Figura 6: Presença de pragas (teia de aranha)

A Portaria 368/97 preconiza que em relação ao controle de pragas deve ser aplicado um programa eficaz e contínuo de combate às pragas adotando medidas de erradicação, compreendendo o tratamento com agentes químicos, físicos e /ou biológicos em conjunto com medidas higiênico-sanitárias (higiene ambiental e dos vasilhames e demais utensílios), no sentido de diminuir os riscos de contaminação.

4.1.3 ÁGUA DE ABASTECIMENTO

O abastecimento de água da fazenda é feito por meio de uma fonte localizada dentro da área da capineira, (Figura 7), de onde é bombeada para um reservatório subterrâneo central e é distribuída para as demais áreas da fazenda (Figura 8). A capineira onde está localizada a fonte é adubada por dejetos orgânicos gerados pelos animais (Figura 9).



Figura 7: Fonte de abastecimento de água (natural) com a bomba – área da capineira



Figura 8: Reservatório central de água



Figura 9: Capineira com depósito de dejetos orgânicos (esterco)
(vide ao fundo a fonte e a casa da bomba)

De acordo com informações obtidas no *check-list* (apêndice A) verificou-se que a propriedade não realiza tratamento da água armazenada e não higieniza o tanque central, apenas as caixas d'água. Analisa periodicamente a água na fazenda, não sabendo explicar qual o tipo de análise realizada. Pode-se concluir que, as condições de preservação estrutural tanto da fonte quanto dos demais reservatórios são consideradas insatisfatórias, havendo rachaduras e infiltrações, devendo ser revisada as tampas dos reservatórios. Os animais circulam na capineira, próximo a área da fonte e casa da bomba. A legislação em vigor, conforme Portaria 1469/01 e Portaria 368/97 descrita pela Instrução Normativa 51/2002 (BRASIL 1997, 2002) preconiza a adoção de medidas de proteção contra a contaminação da água, incluindo o tratamento da água, análises periódicas e uma rotina de higienização do tanque central e reservatórios.

4.1.4 RESÍDUOS ORGÂNICOS (ESTERCOS, LIXOS, RESÍDUOS DE RAÇÕES)

O esterco produzido pelos animais durante a ordenha e arraçãoamento é armazenado a céu aberto em um local próximo ao curral (Figura 10), e recolhidos diariamente. A propriedade possui local destinado ao armazenamento de resíduos químicos e não orgânicos (Figura 11).



Figura 10: Armazenamento do esterco a céu aberto



Figura 11: Local destinado para resíduos químicos e não orgânicos

As informações presentes no item 5 do *check-list* (apêndice A) indicam também que a propriedade não possui esterqueira e o armazenamento dos dejetos é feito a “céu aberto” próximo a área de ordenha. A legislação (Portaria 367/98) estabelece que os dejetos orgânicos de origem animal devem ser armazenados afastados do local de origem de extração da matéria prima. Recomenda-se a construção de esterqueira para tratamento dos resíduos orgânicos, conforme Instrução Normativa 51/2002.

4.1.5 EQUIPAMENTOS, UTENSÍLIOS, VASILHAMES E TIPO DE ORDENHA

4.1.5.1 Tipo de Ordenha e Conservação de Utensílios

A ordenha realizada na propriedade é do tipo manual (Figura 12), sendo o leite extraído acondicionado em latões e transportado até o tanque de expansão. São realizadas duas ordenhas diárias, com uma produção média de 400 litros de leite dia.



Figura 12: Ordenha manual



Figura 13: Baldes, latões e utensílios utilizados nas operações da fazenda

Da análise realizada pode-se constatar que o ambiente de ordenha requer melhorias nas condições de higiene (Figura 12) conforme estabelece a Portaria 367/98 no seu item 3.2.1 na Instrução Normativa 51/2002 do MAPA. Segundo informações obtidas junto ao responsável pela fazenda, contidas no *check-list* (apêndice A), há histórico de ocorrência de mastite e colibacilose no rebanho.

Observou-se um local inadequado para armazenamento dos baldes, latões e utensílios (Figura 13), assim como a ausência de práticas de higiene, embora tenha sido informado pelo responsável pela fazenda que após a realização das operações diárias da propriedade, todos os utensílios envolvidos nos processos de extração do leite eram higienizados e colocados para secar.

4.1.5.2 Tanque de Resfriamento (Expansão)

O tanque de resfriamento existente na propriedade possui capacidade de armazenamento de 1000 litros, contando com evaporador, conjunto agitador (pás homogeneizadoras e corpo interno e moto-reductor), tampa, régua para controle de nível, painel de controle, válvula e conjunto de refrigeração (Figura 14), estando localizado em uma plataforma próxima a área do estábulo (Figura 15). O tanque é higienizado a cada 48 horas, após a coleta, conforme o fluxograma apresentado na figura 16. A temperatura é medida diariamente, apresentando média de 4 °C durante o período de estudo.



Figura 14: Tanque de resfriamento e seus componentes



Figura 15: Localização do tanque de resfriamento próximo ao estábulo

De acordo com a Instrução Normativa 51/2002, “deve existir um local próprio e específico para a localização do tanque de expansão, devendo ser coberto, arejado, pavimentado e de fácil acesso ao veículo coletor, recomendando – se o isolamento por paredes”. Neste sentido, a localização do tanque de resfriamento não atende a legislação, uma vez que se nota a ausência de parede e higienização adequada (Figura 14).

Processo de Higienização do Tanque de Expansão

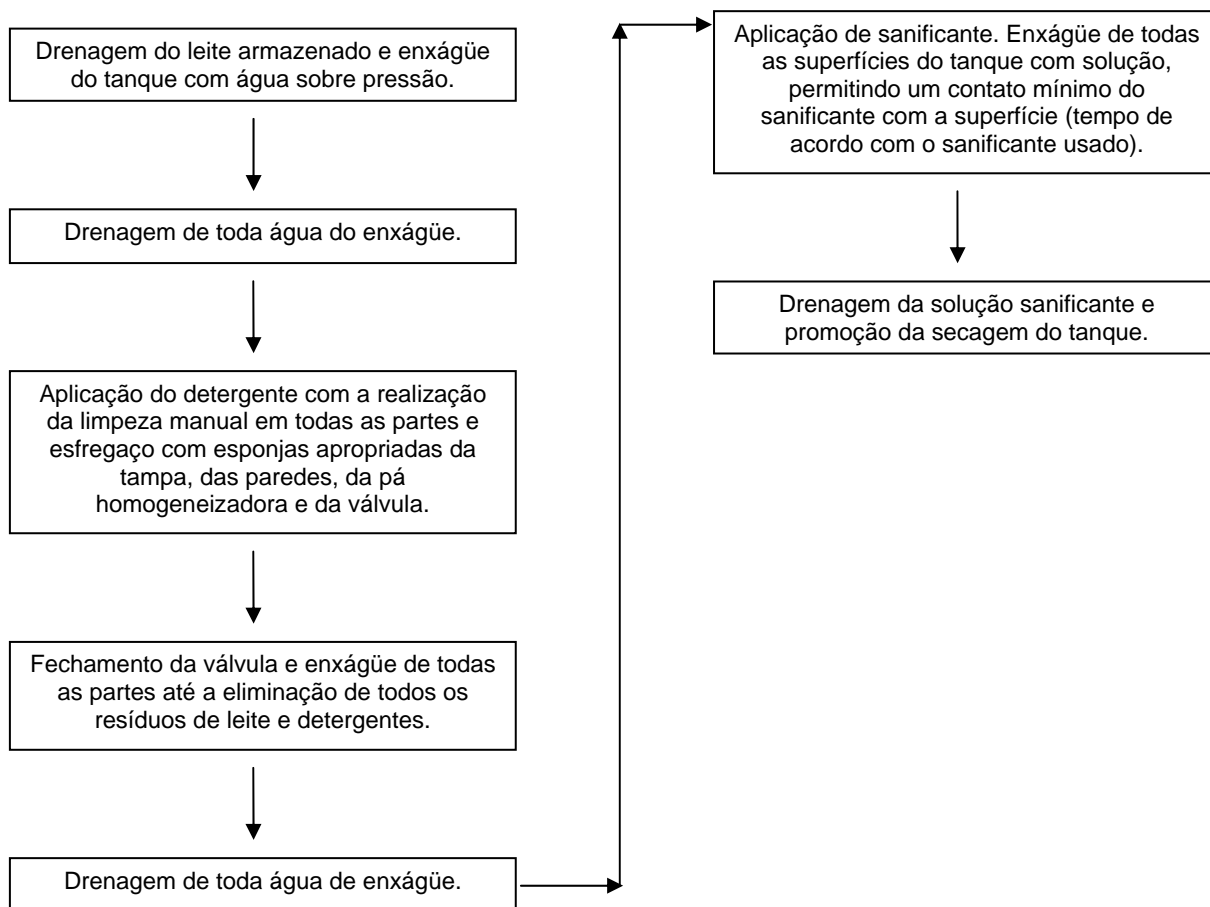


Figura 16: Fluxograma do processo de higienização do tanque de resfriamento

4.1.6 ANIMAIS DA PROPRIEDADE

Os animais são vacinados e vermifugados de acordo com o calendário zôo-profilático estabelecido pela assistência veterinária. O regime de produção existente na fazenda é semiconfinamento. Os animais ficam soltos no pasto boa parte do dia (Figura 18) e são arraoados durante a ordenha (Figura 17).



Figura 17: Animais da propriedade



Figura 18: Momento de pastejo dos animais

4.2 ANÁLISE DA ÁGUA UTILIZADA NA FAZENDA

As análises microbiológicas e do pH da água utilizada apresentaram os seguintes resultados (média das amostras em duplicata) descritos nas tabelas 1 e 2, a seguir:

Tabela 1: Resultados das análises microbiológicas da água utilizada na fazenda *

Ponto de coleta	Análises		
	CTAM** (UFC/mL)	Coliformes totais (<i>col.35°C</i>) (NMP/100mL)	Coliformes fecais (<i>col.45°C</i>) (NMP/100mL)
Fonte	$3,5 \times 10^2$	>23	>23
Torneira	$1,6 \times 10^2$	1,6	1,6

* Média das amostras em duplicata

**CTAM – Contagem total de aeróbios e mesófilos

Tabela 2: Valores de pH das amostras de água em diferentes pontos da propriedade*.

Ponto de coleta	pH da água
Fonte	4,0
Torneira	4,2

* Média das amostras em duplicata

As análises microbiológicas da água revelaram altas contagens de microrganismos mesófilos e coliformes totais e fecais, estando além do padrão requerido pela Portaria 1469/01 que estabelece a ausência de coliformes totais (*col.35°C*) e fecais (*col.45°C*) em 100mL de amostra (BRASIL, 2001). De acordo com Sanches (2000), a ausência de coliformes é indicador de uma água bacteriologicamente potável. O estudo evidencia que a água da propriedade estudada é considerada imprópria para consumo, limpeza e outras finalidades.

A origem da água da fazenda (não potável) e a ausência de tratamentos específicos, sem dúvidas, contribuíram para esses resultados. Neste contexto, vale salientar que a coleta das amostras de água foi realizada no inverno, quando a água da chuva, em contato com depósitos de fezes manejadas a céu aberto e em local próximo a fonte (adubação orgânica da área), provavelmente favoreceu a infiltração, e pode ser responsável pelo elevado índice de

contaminação verificado. Resultados similares foram observados por Larsen et al. (1994 apud BOWLING; JONES, 2003), que observaram a capacidade de coliformes fecais migrarem para água subterrânea, a partir de esterco do gado presente no pasto.

Outro ponto importante a ser analisado nas tabelas 1 e 2 refere-se aos valores avaliados (tanto microbiológicos quanto pH) das amostras de água coletadas da água da torneira, que se apresentaram diferenciados dos valores da amostra coletada diretamente da fonte. Considerando-se as respostas do questionário, verificou-se que um dos itens tinha como referência a limpeza periódica das caixas d'água. Esta variável pode ter interferido nas análises, principalmente no que se refere à limpeza da matéria orgânica presente nesses reservatórios que alimentam estas torneiras.

A qualidade microbiológica inadequada da água utilizada em propriedades leiteiras também foi observada por Amaral et al. (2001) onde ao avaliarem a qualidade higiênico-sanitária da água utilizada para consumo humano e produção de leite em quatorze propriedades rurais na região nordeste do estado de SP, verificaram que a maior parte das amostras apresentavam-se fora dos padrões estipulados pela Portaria GM 36 de 19/01/90 substituída pela Portaria 1469/01 (BRASIL,2001) no que se refere a potabilidade e níveis de contaminação de coliformes totais(*col.35°C*), fecais (*col.45°C*) e mesófilos. Picinnin (2003) analisando a qualidade microbiológica de amostras de água em 31 propriedades leiteiras de Minas Gerais verificou que 87,10% das amostras não apresentaram níveis aceitáveis para coliformes totais e fecais de acordo com a Portaria 1469/01. Amaral et al. (2003), ao analisarem microbiologicamente amostras de água das fontes, reservatórios e estábulos de 30 propriedades leiteiras do Estado de São Paulo, isolaram cepas de *Staphylococcus coagulase negativa* e *Staphylococcus aureus*, fato que evidencia a possibilidade de contaminação do leite ou dos animais.

Com relação ao potencial hidrogeniônico (acidez da água), a água apresentou nível elevado, com pH próximo a 4,0. Este fato pode ser justificado pela contaminação com resíduos orgânicos devido a infiltração por dejetos no solo próximo à fonte, fato descrito por Macedo (2001) que descreve como uma das causas de acidez das águas naturais à presença de resíduos orgânicos. A acidez da água da propriedade também pode estar relacionada ao fato da propriedade conter poços de produção de petróleo, onde a presença de compostos orgânicos e gases poderiam favorecer o aumento da acidez da água conforme descrito por Kirby, et al (2002). Os valores encontrados no estudo com relação ao baixo pH da água encontram-se de acordo com estudos de Gonzáles (2004) que ao analisarem amostras de água oriundas de 10 fazendas leiteiras de Pelotas (RS) durante quatro meses, verificaram valores de pH abaixo de 6,0 em todas as propriedades estudadas.

4.3 CARACTERIZAÇÃO MICROBIOLÓGICA INICIAL DA QUALIDADE DO LEITE PRODUZIDO

As análises microbiológicas do leite coletado do tanque de expansão apresentaram os seguintes resultados (Tabela 3).

Tabela 3: Contagem total de aeróbios mesófilos, psicrotróficos e estimativa de coliformes fecais e totais para caracterização inicial do leite no tanque de expansão.

CTAM* (UFC/mL)	Psicrotróficos (UFC/mL)	Coliformes Totais (col.35°C) (NMP/mL)	Coliformes Fecais (col.45°C) (NMP/mL)
$2,6 \times 10^5$	Sem crescimento	$> 2,4 \times 10^4$	$> 2,4 \times 10^4$

*CTAM – Contagem total de aeróbios e mesófilos

Os resultados encontrados indicam elevada contagem mesófilos ($2,6 \times 10^5$ UFC/mL), embora esteja em conformidade com os limites legais estabelecidos na Instrução Normativa 51/2002, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, que estabelece 1.000.000 UFC/mL de amostra de leite (BRASIL, 2002). A contagem de psicrotóxicos apresentou-se negativa, provavelmente pelo tempo de armazenamento do leite insuficiente para o desenvolvimento das bactérias no tanque de resfriamento.

Ao comparar os resultados apresentados nas tabelas 1 e 3 identificou-se correlação entre as contagens bacterianas presentes nas amostras de água e a carga microbiana presente no leite, o que demonstra a influência direta ou indireta da qualidade da água sobre a qualidade do leite. Agüero e Pedraza (1987) e Picinin (2003), ratificam esta afirmação, ao verificarem em seus estudos altas contagens bacterianas em amostras de água correlacionadas a altas contagens bacterianas em amostras de leite.

A elevada contagem de microrganismos mesófilos refletiu as condições de higiene do local da ordenha (Figura 12) assim como o tipo de ordenha realizada. Fonseca e Pereira (1999) afirmam que a qualidade do leite e o seu padrão microbiológico podem ser expressos pela contagem bacteriana total do leite do tanque de resfriamento, tendo como variável dependente da carga microbiana inicial (contaminação após ordenha até o seu depósito no tanque) e da taxa de multiplicação bacteriana relacionada a fatores como: higiene da ordenha, condições da limpeza e higienização dos utensílios utilizados na ordenha, qualidade da água e temperatura x tempo de armazenamento do leite. Diante dos valores encontrados quanto a contagem de mesófilos e coliformes no estudo realizado na propriedade faz-se necessário um sistema efetivo de higiene de ordenha (conforme demonstrado na Figura 12) e dos utensílios (vide Figura 13) e equipamentos que entram em contato com o leite, com a finalidade de reduzir a contaminação inicial do produto, conforme determina a legislação em vigor.

O estudo conjectura com a realidade da produção de leite de qualidade insatisfatória no Brasil e em outros países, demonstrado por diversos autores como Nero et al. (2005), que ao analisar amostras de leite cru oriundas de 210 propriedades de diferentes regiões do Brasil verificaram que uma parcela significativa das amostras (48,6%) apresentou contagens acima dos limites determinados pela Instrução Normativa 51/2002 do MAPA e Boor et al (1998) analisando 855 amostras de leite provenientes de 11 cooperativas de leite do Estado de Nova York, constataram que 5% do total das amostras apresentaram contagens de mesófilos acima de 100.000 UFC/mL.

4.4 IDENTIFICAÇÃO DAS BACTÉRIAS PRESENTES NO TANQUE DE RESFRIAMENTO

As análises microbiológicas das superfícies do tanque de expansão após o período de estocagem 48 horas a 4°C, antes da higienização, apresentaram os resultados descritos na Tabela 4.

Tabela 4: Microrganismos identificados no leite presente no tanque de resfriamento (expansão), antes da utilização dos sanificantes.

Locais de análise	Microrganismos		
	1ª coleta -	2ª coleta	3ª coleta
Pá homogeneizadora	Enterobacter spp	<i>Enterobacter spp.;</i> <i>Pseudomonas spp.;</i> <i>Streptococcus spp.;</i> <i>Micrococcus spp</i>	<i>Enterobacter spp.;</i> <i>Enterobacter hafnia;</i> <i>Pseudomonas</i> <i>Staphylococcus spp</i>
Parede interna	<i>Enterobacter spp</i>	<i>Enterobacter spp.</i>	<i>Enterobacter spp.;</i> <i>Staphylococcus spp.;</i> <i>Pseudomonas spp.;</i> <i>Bacillus spp.;</i> <i>Streptococcus spp</i>
Válvula	<i>Enterobacter spp</i>	<i>Enterobacter spp.;</i> <i>Pseudomonas spp</i>	<i>Enterobacter spp.;</i> <i>Staphylococcus spp</i>

A partir das análises realizadas no tanque de resfriamento identificou-se diferentes gêneros de microrganismos. O que pode ser explicado por falhas de higiene na ordenha (ambiental e dos ordenhadores) e qualidade microbiológica insatisfatória da água. De acordo com Fonseca e Santos (2000) a presença no ambiente da ordenha de patógenos como *Enterobacter spp*, *Staphylococcus spp*, *Streptococcus spp.*, *Bacillus spp* são fatores predisponentes a ocorrência de mastites infecciosas e ambientais. A presença desses patógenos no ambiente deve-se as más condições higiênico-ambientais, como a presença de barro, lama e esterco, fato que condiz com a realidade apresentada na propriedade, além da presença de mastite (conforme informações colhidas no questionário em anexo).

A presença de patógenos no leite da propriedade pode comprometer a sua qualidade tanto em nível industrial (deterioração da matéria prima) quanto no aspecto de saúde pública (transmissão de doenças como tuberculose, brucelose, difteria, febre Q e diversas gastroenterites) (JOHNS, 1995; BOOR, 1997; ACURI, 2003; LANGE; BRITO J., 2005; CASSOLLI, 2005).

Catão e Cebalos (2001) ao analisarem amostras de leite cru e pasteurizados no Estado da Paraíba, verificaram níveis elevados de coliformes fecais e totais e *Listeria spp* , evidenciando a má qualidade microbiológica do leite. Jayarao et al. (1999), ao analisarem amostras de leite procedentes de 131 propriedades leiteiras de Dakota e Minnessota, isolaram cepas de *Salmonella spp.*, *Listeria spp.*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas spp.* e *Staphylococcus aureus*.

O isolamento de *Staphylococcus spp* em diferente pontos do tanque de expansão está de acordo com os resultados de Lamaita et al. (2005), que isolaram este microrganismo em 100% das amostras de leite cru refrigerado e estocado por 48 horas a 4°C em tanques de refrigeração em fazendas do Estado de Minas Gerais.

A ocorrência de *Staphylococcus spp* no leite está associada a vários fatores, principalmente a falta de higiene dos ordenhadores (FONSECA; SANTOS, 2000), fato comprovado por Rapini et al. (2005), que isolaram diversas espécies de estafilococos das mãos, fossas nasais e membrana orofaringe de manipuladores de queijo de cabra.

Outro fator que provavelmente contribuiu para a presença de *Staphylococcus* no leite é sua contaminação através da água, relatado por Amaral et al. (2003), que isolaram *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus coagulase negativa* em amostras de água de fazendas leiteiras do Estado de São Paulo.

A presença de bactérias psicotróficas como *Pseudomonas spp* no leite refrigerado, diminui a qualidade do produto na medida que seu crescimento não é impedido pelo frio e suas enzimas termoestáveis continuam ativas degradando o leite até mesmo após a pasteurização, diminuindo assim o tempo de prateleira (HAYES, 1993; FRANCO; LANDGRAF, 1996; FONSECA; SANTOS, 2001; ABREU, 2002). Isto resulta em um produto de menor qualidade e conseqüentemente, menor valor comercial. Por fim, pode haver comprometimento da segurança dos alimentos com riscos potenciais à saúde pública.

Cousin (1982), ressalta que os microrganismos psicotróficos estão comumente presentes na natureza e água, solo, poeira, fezes e vegetação. São potenciais fontes de contaminação do leite, evidenciando assim as possíveis fontes de contaminação do leite analisado no presente trabalho, dada às condições higiênicas – sanitárias da propriedade. Vários autores têm confirmado a contaminação de leite por *Pseudomonas* associada a diversos fatores como má qualidade da água, falhas na ordenha e higiene inadequadas de utensílios utilizados na ordenha (IRAMAIN et al., 2005; FAGUNDES et al., 2006).

4.5 AVALIAÇÃO DA EFICIÊNCIA DOS PRODUTOS SANIFICANTES

A tabela 5 e a figura 19 apresentam os resultados médios de redução decimal (RD) da população microbiana presentes no tanque de expansão da propriedade após a análise do detergente alcalino clorado e sanificantes.

Tabela 5: Média de reduções decimais da população microbiana após uso do detergente alcalino clorado e composição com sanificantes

Tratamentos	Parede lateral	Pá	Válvula	Total	Média
<i>Detergente Alaclino-clorado</i>	1.86	3.56	4.08	19.67	2.19
	1.59	0.85	2.21		
	1.63	2.31	1.58		
Total	5.08	6.72	7.87		
<i>Det.Alcalino clorado + Derivado clorado</i>	5.04	3.93	4.87	36.82	4.09
	6.16	3.83	3.17		
	3.22	3.81	2.79		
Total	14.42	11.57	10.83		
<i>Det.Alcalino clorado + Clorexidina</i>	3.62	2.70	5.51	26.27	2.92
	3.34	1.08	2.72		
	2.49	1.09	3.72		
Total	9.19	4.87	11.95		
<i>Det.Alcalino clorado + Ácido Paracético</i>	2.69	2.9	4.01	34.62	3.85
	3.48	2.52	4.37		
	6.30	3.22	5.13		
Total	12.47	8.64	11.51	117.38	

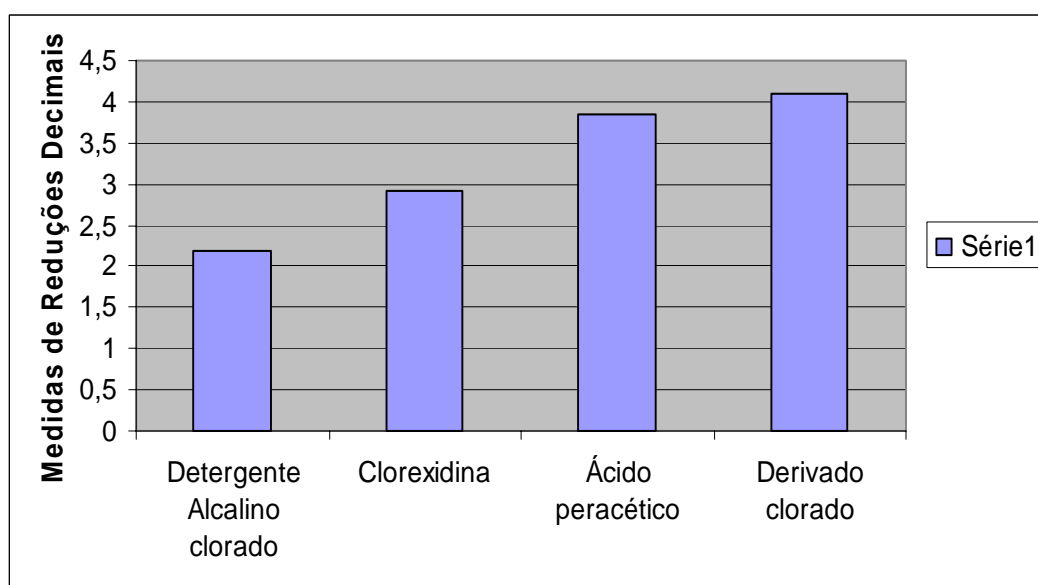


Figura 19: Médias de reduções decimais após avaliação da utilização do detergente alcalino-clorado e sanificantes

Com relação ao estudo da eficiência dos sanificantes baseado nas comparações entre as médias de reduções decimais, verificou-se uma variação no desempenho dos sanificantes testados.

Na perspectiva da avaliação da eficiência dos sanificantes, segundo critérios da Association of Official Analytical Chemist (AOAC), referida por Schmidt (2001), define

como bom sanificante para superfícies em contato com alimentos, aquele que reduz o nível de contaminação em 99,999% (5 reduções decimais) em trinta segundos, os conjuntos apresentaram *performance* distintas. Assim, em ordem decrescente de eficiência da ação obedeceu a seguinte classificação: derivado clorado (4,09RD), ácido peracético (3,85 RD), clorexidina (2,92D) e detergente alcalino clorado (2,19 RD).

Neste contexto, destaca-se que nenhum dos produtos alcançou o valor de referência, sendo o produto clorado o que mais se aproximou do número de reduções preconizado.

De acordo com a análise estatística, na análise de variância considerando-se um nível de significância a 5% não houve diferença significativa entre as médias, apesar de o derivado clorado apresentar a maior média de redução decimal.

Ao se analisar os contrastes considerando-se uma taxa experimental de erro de 6% (Inferência simultânea – Bonferroni, 2% para cada comparação), observou-se alguma evidência de significância apenas para o contraste (p -valor = 0.035), que compara em média o tratamento *Detergente Alcalino Clorado* contra a média dos demais tratamentos. Ou seja, há alguma evidência de diferença significativa quando se compara média do detergente alcalino clorado puro contra as demais, porém, de acordo com os dados observados, o p -valor de 0,035 não confirma uma diferença estatisticamente significativa.

Quando utilizado apenas o detergente alcalino clorado, observou-se a mais baixa redução decimal. No entanto, segundo a literatura, a adição de cloro ao detergente alcalino atua como coadjuvante da limpeza na remoção de depósitos protéicos, gordurosos e incrustações biológicas, não possuindo obrigatoriamente propriedades sanificantes (LOPES, 2005), embora tenha demonstrado no presente estudo redução na população microbiana.

A menor capacidade redutora do produto à base de clorexidina, comparada aos outros sanificantes apresentado no trabalho, mostrou-se inesperada. Estes resultados são discordantes

daqueles apresentado por Pedrini e Margatto (2003), ao testarem diversos produtos sanitizantes contra microrganismos causadores de mastites clínicas e ambientais (*in vitro*), observaram que a clorexidina em concentração de 0,5% apresentou maior eficácia em relação aos produtos a base de cloro, iodo e cloreto de benzalcônio.

Partindo-se do pressuposto de que a eficiência dos agentes sanitizantes é afetada por diversos fatores como condições de uso (concentração e temperatura), fatores químicos (pH ótimo 5-8 e dureza da água) e contaminação biológica (presença de microrganismos e matéria orgânica na água) (MELLO, 1987; BILL, 1993; MCDONNELL; RUSSEL, 1999); o pH 4,0 e 4,2 da água, além da contaminação da água da propriedade possivelmente explicam o desempenho inferior da clorexidina.

Por outro lado, considerando a boa atividade exibida pelos sanitizantes à base de cloro (pH ótimo 4,0-7,5) e ácido peracético (pH ótimo 2-4) e tendo em conta as características de boa atividade destes produtos em meios ácidos, é provável que a acidez da água usada na fazenda tenha favorecido estes resultados. Entretanto, conforme Andrade e Macedo (1996); McDonnell e Russel (1999) tanto os derivados clorados como o ácido peracético tem sua efetividade alterada pela presença de matéria orgânica na água. De acordo com a realidade apresentada, a água da propriedade apresentou uma grande carga microbiana além de considerável quantidade de matéria orgânica em decorrência da proximidade do armazenamento do esterco e da adubação orgânica próxima à fonte, fator que pode ter interferido na eficiência dos sanitizantes avaliados.

A eficiência dos derivados clorados e do ácido peracético foi demonstrado em diversos estudos. Moraes et al. (1997), verificaram que o ácido peracético e o hipoclorito de sódio foram os sanitizantes mais eficazes na redução da população de esporos mesófilos em equipamentos de abatedouro avícola, atingindo valores de 2,2 RD em 30 minutos de contato. Em trabalho realizado por Rossoni e Gaylarde (2000), o hipoclorito de sódio foi mais

eficiente que o ácido peracético na sanitização de superfícies de aço inoxidável em indústrias de alimentos. Mello (1997) avaliando a eficiência de sanificantes químicos de uso simulado sobre psicotróficos acidificantes, constatou que o ácido peracético foi mais eficiente que o hipoclorito de sódio, dicloroisocianurato e amônia quartenária.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Apesar de apresentar estruturas físicas adequadas e satisfatórias para operacionalização da atividade leiteira, além de funcionários treinados para suas funções, as avaliações das condições ambientais da fazenda identificaram diversas situações em desacordo às recomendações estabelecidas pela legislação (Portaria 368/97 e Instrução

Normativa 51/2002 do MAPA, Portaria 1469/2000 do MS) como: ausência de esterqueira, acúmulo de fezes próximo ao estábulo, presença de moscas, uso de água sem tratamento e em condições insatisfatórias de armazenamento e uso de procedimentos de higiene incorretos, principalmente durante os processos de ordenha, o que dificulta a proteção contra a contaminação microbiológica do leite produzido.

Os fatores mencionados influenciaram de forma direta ou indireta na qualidade do leite produzido, podendo trazer conseqüências em nível de aproveitamento no laticínio (presença de bactérias psicrófilas) e riscos a saúde dos seres humanos e dos animais (transmissão de doenças pelos microrganismos identificados, ocorrência de mastites).

De acordo com as análises estatísticas, não houve diferença significativa na eficiência entre os sanificantes avaliados, sugerindo a realização de um número maior de repetições para que se obtenha um melhor efeito de tratamento e uma melhor avaliação dos sanificantes testados. Também deve ser considerado um melhor tratamento da água e ajustes no seu pH para atingir um melhor grau de eficiência dos sanificantes testados.

Quanto ao parâmetro preconizado pela AOAC de cinco reduções decimais para avaliação de eficiência de sanificantes em alimentos, nenhum dos produtos testados atingiu o limite estabelecido. Entretanto, considerando-os de forma isolada, o hipoclorito de sódio e o ácido peracético foram os que mais se aproximaram deste limite mínimo.

Nas condições em que foi realizado este trabalho, pode-se afirmar que qualidade microbiológica e físico-química da água da propriedade interferiu de forma direta, influenciando na eficiência dos sanificantes testados.

Sugerem-se, como forma de garantir a melhoria da qualidade do leite da propriedade, os seguintes aspectos: cuidados na higiene ambiental, adoção de medidas higiênicas na ordenha como: lavagem e secagem dos tetos, lavagem das mãos dos ordenhadores antes e após a ordenha, além de tratamento da água, construção de esterqueira, um controle mais

efetivo de pragas e um aperfeiçoamento dos colaboradores no tocante a manipulação de alimentos.

Considera-se que o simples uso de tanques de expansão na atividade leiteira não significa necessariamente leite de melhor qualidade, devendo os produtores ficarem alertas quanto aos aspectos de higiene em todos os processos da fazenda, investir no melhoramento da qualidade da água e educar os colaboradores no tocante a higiene pessoal e do ambiente.

REFERÊNCIAS

ABREU, José Ronaldo de. **Curso On Line: qualidade e processamento do leite**. Lavras: Uflatec, mar./2002.

AGUERO, H. E. et al. Calidade higiênica del água y su relacion con el contenido microbiano de leche. **Revista Agricultura Tecnica de Chiler**, v. 47, n. 2, p. 136-141, abr./jun./1987.

AMARAL, L. A. et al. Avaliação da eficiência da desinfecção de teteiras e dos tetos no processo de ordenha mecânica de vacas. **Revista Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 4, n. 4, p. 173-177, out./dez. 2004.

_____. Avaliação da qualidade higiênico-sanitária da água utilizada para o consumo humano e na produção de leite em propriedades rurais situadas na região nordeste do estado de SP. **Revista Higiene Alimentar**, Guarapari, ES, v. 15, n. 80/81, p. 91-146, 2001.

_____. Ocorrência de *Staphylococcus* sp em água utilizada em propriedades leiteiras do Estado de São Paulo, **Arquivos Brasileiros de Med. Veterinária e Zootecnia**, São Paulo, v. 5, n. 5, p. 620-623, out. 2003.

AMARO, F. **Manual de Laval Qualidade do leite**. São Paulo: De Laval, 2001.

AMIOT, Jean. **Ciencia y tecnología de la leche**. Zaragoza: Acríbia, 1991.

ANDRADE, N. de; MACÊDO, J. B. **Higienização na Indústria de Alimentos**. São Paulo: Varela, 1996.

ARCURI, E. F. Influência de bactérias psicotróficas na qualidade do leite e produtos lácteos. In: EMBRAPA. **Diagnóstico da qualidade do leite, impacto para a indústria e a questão dos resíduos de antibióticos**. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite; Epamig/CT/ILCT, 2003.

BILL, R. **Pharmacology for veterinary technicians**. Goleta: American Veterinary Publications, 1993.

BOOR, K. J. Pathogenic microorganisms of concern to the dairy industry. **Dairy, Food and Environmental Sanitation**, v. 17, n. 11, p. 714-717, nov./1997.

BOOR, K. J. et al. Microbiologia and chemical quality of raw milk. **New Yor State - Journal Dairy Science**, n. 81, p. 1743-1748, dez./1998.

BOWLING, Lee; JONES, Hugh – Impacts of cattle quality at Glennies Creek Storage, **Center for Natural Resources**, New South Wales Department of land and Water Conservation :Parramata, February- 2003.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 51 de 18 de setembro de 2002. Aprova os regulamentos Técnicos de Produção, Identidade e Qualidade do Leite tipo A, Leite tipo B, do Leite tipo C, do Leite Pasteurizado e do Leite Cru Refrigerado e seu Transporte a Granel. **Diário Oficial da União**, Brasília, D.F. 2002.

_____. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº 368/97 de 4 de Setembro de 1997. Regulamento Técnico sobre as condições Higiênico-Sanitárias e de Boas Práticas de Fabricação para Estabelecimentos Elaboradores / Industrializadores de Alimentos. **Diário Oficial da União**. Brasília, D.F, 1997.

_____. Ministério da Saúde. Diretoria Colegiada da Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Portaria nº 1469 de 29 de dezembro de 1999. Estabelece os Procedimentos e Responsabilidades Relativas ao Controle e Vigilância da Qualidade da Água para Consumo Humano e seu Padrão de potabilidade. **Diário Oficial da União**, Brasília, D.F., 2001.

BRITO, J. R.; BRITO, M. A. V. P. **Qualidade higiênica do leite**. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 1998.

CAMPOS, A. Manejo de dejetos de bovinos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA AGRÍCOLA, 27, 1998, Poços de Caldas. **Anais...**, Sociedade Brasileira de Engenharia Agrícola, 1998. p. 233-279.

CARVALHO, M. **O consumo cresceu na marra**. Disponível em: <<http://www.milkpoint.com.br>>. Acesso em: 28 maio 2006.

CASSOLI, L. D. Variação da metodologia de citometria de fluxo para avaliação da contagem bacteriana do leite cru. 2005. 79 p. Dissertação (mestrado) Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, USP – São Paulo.

CATÃO, R. M.; CEBALLOS, B. S. *Listeria spp*, Coliformes fecais e totais e *E. Coli* no leite cru e pasteurizado de uma indústria de laticínios, no Estado da Paraíba. **Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 21, n. 3, p. 281-287, set./dez./2001.

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

COUSIN, M. A., BRAMLEY, A. J. The microbiology of raw milk. In: ROBINSON, R. K. (Ed.), *The Microbiology of Milk*. **Dairy Microbiology**, London: Applied Science Publishers, v. 1, p. 119-163, 1981.

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

FONSECA, L. F. L. ; PEREIRA, C. C. Importância, fatores determinantes e métodos de controle da qualidade microbiológica do leite. **Revista Raça Jersey**, n. 24, p. 21-22, mar./abr./1999.

FONSECA, L. F.; SANTOS, M. V. **Qualidade do leite e controle da mastite**. São Paulo: Lemos Editorial, 2000.

FONSECA, L. F.; SANTOS, M. V. Importância e efeito de bactérias psicrófilas sobre a qualidade do leite. In: _____. **Higiene alimentar**, v. 15, n. 82, p. 13-19. Março 2001.

FONTES, E. **Parasitologia veterinária**. Porto Alegre: Sulina, 1993.

FRANCO, B. D. G. B. M; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Atheneu, 1996.

FRAZER, C. et al. **Manual Merck de veterinária**. São Paulo: Roca, 1991.

FREITAS, M.; COSTA, H. **Entomologia e acarologia médica e veterinária**. Belo Horizonte: Precisa Gráfica, 1982.

FUJIHARA, R. et al. Limpeza e desinfecção de plantas de processamento. In: _____. **Higiene e sanitização na indústria de carnes e derivados**. São Paulo: Livraria Varela, 2002.

GERMANO, P. M. L.; GERMANO, M. I. S. **Higiene e vigilância sanitária de alimentos**. São Paulo: Varela, 2001.

GOMES, A. T., LEITE, J. L. B. & CARNEIRO, A. V. – **O Agronegócio do Leite no Brasil**, Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 2001.

GONZALES, H. et al. Avaliação da qualidade do leite na bacia leiteira de Pelotas, RS. Efeito dos meses do ano. **Revista Bras. de Zootecnia**, v. 33, n. 6, p. 1531-1543, dez./2004.

GUERREIRO, P. et al. Qualidade microbiológica de leite em função de técnicas profiláticas no manejo de produção, **Revista Ciências e Agrotecnologia**, Lavras, v. 29, n. 1, p. 216-222, jan./fev. 2005;

HAYES, P. R., **Microbiologia e higiene dos alimentos**, Zaragoza: Acríbia, 1993.

IRAMAIN, M. S. et al. *Pseudomonas aeruginosa* em água y leite cruda: informe preliminar. **In Vet**, n. 7, v. 1, p.133-137, 2005.

JAY, J. J. **Microbiologia de alimentos**. 6 ed. Porto Alegre: Artmed, 2005.

JAYARAO, B.; WANG, Ling. A study on the prevalence of gram-negative bacteria. In: Bulk Tank Milk; National Mastitis Council Annual Meeting Proceedings. **Anais...** 1999, p.150151.

JOHNS, N., **Higiene de los alimentos**. 2 ed. Zaragoza: Editorial Acríbia, 1995.

KIRBY, R. M.; BARTRAM, J.; CARR, R. Water in food production and processing: quantity and quality concerns. **Food Control**, v. 14, p. 283-299, 2002.

KRIEG, N. R.; HOLT, J. C. **Bergey's manual of systematic bacteriology**. 9. ed. Baltimore: Williams & Wilkins, 1994.

LAMAITA, H. C. Contagem de *Staphylococcus* sp e detecção de enterotoxinas estafilocócicas e toxina da síndrome do choque tóxico em amostras de leite cru refrigerado. **Arquivos Brasileiros de Méd. Veterinária e Zootecnia**, v. 57, n. 5, p. 702-709, out. 2005.

LANGE, C.; BRITO, J. R. Microrganismos que deterioram a qualidade do leite. **Revista Balde Branco**, n. 489A, p. 36-38, ago. 2005. Edição Especial.

LAZZARINI, S.G. – Estudos de caso para fins de pesquisa : aplicabilidade e limitações do método In : Estudos de caso em agribusiness, - São Paulo : Ed. Pioneira, 1997;

LOPES, B. Limpeza de equipamentos: a base da qualidade. **Revista Balde Branco**, n. 489A, p.58-60, Ago./2005. Edição Especial.

MACEDO, J. A. B. **Águas & Águas**. Juiz de Fora: Ortofarma, 2001. mar./ 2001.

MARTINS, E. C. ; Kuaye, A. Y. Emprego do ácido peracético e outros sanitizantes na indústria de alimentos. **Higiene Alimentar**, v. 10, n. 43, p. 5-8, maio/jun./1996.

MARTINS, M.C. **Agronegócio do leite**. Disponível em: <<http://www.cna.org.br/publicacao/informativodoleite>> Acesso em: 26 de maio de 2006.

McDONNELL, G.; RUSSEL, D. Antiseptics and disinfectants: activity, action and resistance. **Clinical microbiology reviews**, v. 12, n. 1, p. 147-179, jan./1999.

MELLO, C. A. **Avaliação da eficiência de sanificantes químicos em condições de uso simulado sobre psicrotróficos acidificantes**. 1997. 63 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.

MORAES, A. P. R. et al. Capacidade da Mosca *Stomoxys calcitrans* de carrear bactérias envolvidas nas etiologias das mastites de vacas de municípios do Estado do Rio de Janeiro. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 13. n. 4, out./nov. 2004.

MORAES, M. S. V. Isolamento de Esporos de Equipamentos de Abatedouro Avícolas e Avaliação de sua Resistência a Sanificantes Químicos. **Revista Tecnologia Alimentar**, v. 17, n. 3, p. 325–329, set./dez., 1997.

MURRAY, P. R. et al. **Manual of Clinical Microbiology**. 7 ed. Washington, D. C.; American Society for Microbiology, 1999.

NERO, L. A. et al. Leite cru de quatro regiões brasileiras. **Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 25, n. 1, p. 191-195, mar. 2005.

NEVES, M. ,CHADDAD, F.; LAZZARINI, S.-**Alimentos: Novos Tempos e Conceitos na Gestão de Negócios** .São Paulo : Pioneira, 2000;

NEVES, M. F. et al. Mapeamento do sistema agroindustrial do leite em 2005. Disponível em: <<http://www.fundacaofia.org.br>>. Acesso em: 23 de março de 2006.

OLIVEIRA, R. Higiene e sanitização em estabelecimentos de comercialização de produtos cárneos. **Higiene e sanitização na indústria de carnes e derivados**, São Paulo: Livraria Varela, 2002.

PEDRINI, S. C. B; MARGATHO, L. F. F. Sensibilidade de microrganismos patogênicos isolados de casos de mastite clínica em bovinos frente a diferentes tipos de desinfetantes. **Arquivos Instituto Biológico, São Paulo**, v. 70, p. 391-395, out./dez./2003.

PICININ, L. **Qualidade do leite e da água de algumas propriedades leiteiras de Minas Gerais**. 2003, 89 f. Dissertação (Mestrado) - Escola de Medicina Veterinária – Universidade Federal de Minas Gerais – Minas Gerais.

PINTO, C. L. **Higienização na Indústria de Laticínio**. Juiz de Fora, MG: EPAMIG/CT – MG/Instituto Cândido Tostes, 2000 (Mimeo).

QUINN, P. J. et al. **Clinical Veterinary Microbiology**. London: Wolfe, 1994.

RAPINI, L. S. et al. Presença de *Staphylococcus* spp. produtores de enterotoxinas e da toxina da síndrome do choque tóxico em manipuladores de queijo de cabra. **Arquivos Brasileiros de Méd. Veterinária e Zootecnia**, v. 57, n. 6, p.825-829, dez./2005.

RIBEIRO, M. et al. **Higiene à Ordenha**. Disponível em: <<http://www.gadojerseybr.com.br/materia/higieneordenha/htm>>. Acesso em: 15 abr. 2006(a).

RIBEIRO, M.; CARVALHO, A. Ordenha manual. Disponível em: <<http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/materia/agencia8/ag01>>. Acesso em: 15 abr. 2006(b).

RODRIGUES, J. **Análise das exportações e importações de lácteos em 2005**. Disponível em: <<http://www.milkpoint.com.br>>. Acesso em: 28 maio 2006.

ROSSONI, E. M. M.; GAYLARDE, C. C. Comparison of sodium hypochlorite and peracetic acid as sanitizing agents for stainless steel food processing surfaces using epifluorescence microscopy. **International Journal of food microbiology**, n. 61 p. 81-85, jun./2000.

SÁ, M. VIEIRA de; SÁ, F. Vieira de. **As vacas leiteiras**. 6 ed. Lisboa: Livraria Clássica Editora, 1979.

SANCHES, P. S. Fundamentos biológicos do saneamento. **Curso de Pós-Graduação Controle da Poluição Ambiental**. São Paulo: FAAP, 2000. 215 p. (Mimeo).

SANTOS, Marcos Veiga dos. Aspectos não microbiológicos afetando a qualidade do leite In: CONGRESSO DE QUALIDADE DO LEITE ANAIS, 1. **Anais...**, Passo Fundo, 2004. 1 CD ROM.

SCHMIDT, R.H. **Basics elements of equipment ckening and sanitizing in food processing and handling operations**. Institute of Food and Agricultural Services, University of Florida. Disponível em <http://edis.ifas.ufl.edu/BODY_FS077> acesso em 06 de jan 2001.

SILVA JR., Eneo. **Manual de controle higiênico-sanitário de serviços de alimentação**. São Paulo: Livraria Varela, 6 ed., 2005.

THOMAS, S. B.; THOMAS, B. F. Psychritrophic Bacteria in Refrigerated Bulk-collected Raw Milk. Part1. **Dairy Ind.**, v. 38, p.270-275, 1973.

VÉRAS, A. Impacto Ambiental da Indústria de Alimentos. In: _____. **A Indústria de Alimentos e o Meio Ambiente**, Campinas: Ital, 2002.

VIALTA, A.; MORENO, I.; VALLE, J. Boas práticas de fabricação, higienização e análise de perigos e pontos críticos de controle na indústria de laticínios: 1 – Requeijão. In: **Indústria de Laticínios**, p. 56-63. jan./fev., 2002.

WANDERZANT, Carl; SPLITTFTOESSER, D. F. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 3. ed. Washington: American Public Health Association, 1992.

APÊNDICE A: Check-List

PROPRIEDADE: FAZENDA BOA ESPERANÇA LOCALIDADE: Candeias -Bahia PRODUÇÃO DE LEITE (Kg/dia): 400L/ 2 ordenhas ANEXO 1 – CHECK –LIST das condições higiênico-sanitárias gerais para obtenção e armazenamento da Matéria-prima (leite cru resfriado)					
PROPRIETÁRIO: Geraldo Magela No. de animais: 30 vacas – 15 em lactação					
PONTOS DE CONTROLE	SIM	NÃO	ESTADO DE CONSERVAÇÃO		
			Regular	Bom	Ótimo
1-INSTALAÇÕES (Currais, Estábulo, Salas de Ordenha/Tanque)					
1.1-Bem localizadas	x		x		
1.2-Condições de utilização para a finalidade	x		x		
1.3-Currais: Condições gerais das cercas, pisos e demais aspectos	x		x		
1.4-Estábulos: Condições gerais da área coberta, pisos, paredes/equivalente	x		x		
1.5-Sala de Ordenha: Condições gerais da área coberta, pisos, paredes/equivalentes	x		x		
1.6-Sala do Tanque: Condições gerais da área coberta, pisos, paredes (O tanque localiza-se no estábulo próximo ao local de ordenha)		x	x		
2-LIMPEZA DO AMBIENTE					
2.1-Condições de limpeza dos currais e estábulos	x		x		
2.2-Condições de limpeza da sala / instalações da ordenha e sala do tanque	x		x		
2.3-Frequência de Limpeza e Desinfecção das Instalações Animais - Diária	x				
2.4-Frequência de Limpeza e Desinfecção dos Locais de ordenha e Tanque	x		x		
2.5-Processos de limpeza de esterco - JATEAMENTO DE ÁGUA	x				
2.6-Produtos utilizados na limpeza e desinfecção ambiental -		x			
2.7-Condições de limpeza das demais áreas	x		x		
3. CONTROLE DE PRAGAS					
3.2-Há presença de pragas?	x		x		
3.3-Roedores são pragas mais freqüentes	x		x		
3.4-Insetos alados ou rasteiros são pragas mais freqüentes (presença de moscas)	x		x		
3.5- Os insetos e demais pragas se localizam em locais abertos?	x		x		
3.6- Os insetos e demais pragas se localizam em locais fechados?					

APÊNDICE A: Check-List

PONTOS DE CONTROLE	SIM	NÃO	ESTADO DE CONSERVAÇÃO		
			Regular	Bom	Ótimo
3.7-Utiliza agrotóxico / Inseticida? - ISCA	x				
3.8-Na inspeção há vestígios de pragas encontrados (moscas mortas, fezes de ratos)	x				
4- ÁGUA DE ABASTECIMENTO					
4.1-Existem fontes de abastecimento de água? – POÇO – Fonte de Água	x				
4.2-Possui caixas d'água?	x		x		
4.3-Condições gerais dos tanques, reservatórios e caixas d'água			x		
4.4-Condições higiênicas dos reservatórios, tanques e caixas d'água			x		
4.5- Existe frequência de limpeza destas instalações? -SEMESTRAL	x				
4.6-Utilizam produtos? - CLORO					
4.7- Tratamento da água armazenada		x			
4.8-Análise desta água					
4.9-Frequência de análise desta água	x				
4.10-Fonte, nascente na propriedade		x			
4.11-Condições de preservação destes locais			x		
4.12-Há animais circulação nestes locais?	x				
5- RESÍDUOS ORGÂNICOS (ESTERCOS, LIXOS, RESTOS DE RAÇÕES)					
5.1-Qual o destino dos resíduos orgânicos - Fossa Asséptica	x		x		
5.2-Esterqueira		x			
5.3-Capacidade da esterqueira		x			
5.4-Frequência do recolhimento do esterco -diária	x				
5.5-Frequência do recolhimento do esterco, diária	x				
5.6-Frequência do recolhimento do esterco, semanal (destino pastos)					
5.7-Destino do esterco - CÉU ABERTO					
5.8-Há local para destino de resíduo químico?)	x				
5.9-Há local para destino de resíduo orgânico?	x				
5.10-Existe fossa asséptica na propriedade?	x				
5.11-Há banheiros para os funcionários?	x				

APÊNDICE A: Check-List

PONTOS DE CONTROLE	SIM	NÃO	ESTADO DE CONSERVAÇÃO		
			Regular	Bom	Ótimo
6. EQUIPAMENTOS / UTENSÍLIOS/VASILHAMES					
6.1-Equipamentos de ordenha , estado de conservação e higiene					
6.1.1-Freqüência de higienização		x			
6.1.2 -Produtos utilizados		x			
6.1.3-Normas de fabricantes seguidas		x			
6.1.3-Freqüência de ordenha diária – 2 ordenhas (pela manhã e a tarde)					
6.1.4-Qual o tipo de ordenha - MANUAL	x				
6.2- Tanques de Resfriamento, estado de conservação e higiene					
6.2.1-Freqüência de higienização	x				
6.2.2-Produtos utilizados –Comercial (não recomendado para Pecuária leiteira)	x				
6.2.3-Normas do fabricante seguidas	x				
6.2.4-Medição constante da Temperatura	x				
6.2.5-Freqüência da medição constante da temperatura - Diária					
6.2.6-Tanque está localizado local – FECHADO – Dentro do estábulo					
6.2.7- Capacidade do tanque : 1000 l					
6.3- Vasilhames e demais utensílios (vassouras, pás, etc...)					
6.3.1-Estado de conservação e higiene dos baldes	x		x		
6.3.2-Tipo de coador e seu estado de conservação	x		x		
6.3.3-E os demais utensílios?	x		x		
6.3.4-Armazenamento dos utensílios	x		x		
6.3.5-Locais apropriados para armazenamento dos utensílios	x		x		
7. ANIMAIS / CUIDADOS COM A ORDENHA					
7.1-Estado dos animais	x			x	
7.2-Propriedade com calendário zoo-profilático	x				
7.3-Vermífugos utilizados	x				
7.4-Arraçoamento utilizado na alimentação animal – Ração Comercial/ Cevada/ farelos de cacau					
7.5-Processos de higiene utilizados antes e após ordenha (lavagem dos tetos com água)		x			
7.6-Produtos utilizados - IODO MAST.					
7.7-A propriedade possui histórico de mastite no rebanho?	x				
7.8-Outras doenças na propriedade (Colibacilose, babesiose)	x				

APÊNDICE A: Check-List

PONTOS DE CONTROLE	SIM	NÃO	ESTADO DE CONSERVAÇÃO		
			Regular	Bom	Ótimo
7.9-Média de lactação diária – 400 l /dia					
7.10-Realizado Teste da caneca	x				
7.11-Contagem de células somáticas		x			
7.12-Periodicidade da contagem de células somáticas		x			
8- FUNCIONÁRIOS					
8.1-Funcionários uniformizados		x			
8.2-Hábitos de higiene	x				
8.3-Fumam durante a ordenha e manipulação do leite		x			
8.4 -Carteira de saúde		x			
8.5-Fazem exames periodicamente		x			
8.6-Funcionários treinados para o exercício da função	x			x	
8.7-Há rotina diária dos procedimentos de ordenha, coleta e armazenamento do leite?	x				
8.8-No local de trabalho há instalações como banheiros, vestiários?	x				

OBS. Procedimentos elaborados de acordo com o item 3: ‘Dos princípios gerais higiênico-sanitários das matérias –primas para alimentos Elaborados/Industrializados – Portaria nº 368/97 – MA –04 de Setembro de 1997, constando na Portaria 56/99, 07 de dezembro de 1999, Instrução Normativa 51 de Setembro de 2002

APÊNDICE B: Resultados do experimento

Avaliação da eficiência de um programa de higienização (uso de sanificantes) para tanque de expansão

Produto: Detergente Alcalino Clorado

<i>Parede lateral</i>			
<i>Repetição</i>	<i>Antes</i>	<i>Depois</i>	<i>RD</i>
1	5,06	3,20	1,86
2	5,86	4,27	1,59
3	6,30	4,67	1,63

<i>Pá</i>			
<i>Repetição</i>	<i>Antes</i>	<i>Depois</i>	<i>RD</i>
1	6,30	2,74	3,56
2	4,74	3,89	0,85
3	7,19	4,88	2,31

<i>Válvula</i>			
<i>Repetição</i>	<i>Antes</i>	<i>Depois</i>	<i>RD</i>
1	8,45	4,37	4,08
2	7,30	5,09	2,21
3	6,74	5,16	1,58

<i>Leite</i>					
<i>Mesófilos</i>			<i>Psicrotróficos</i>		
<i>Repetição</i>	<i>Antes</i>	<i>Depois</i>	<i>Repetição</i>	<i>Antes</i>	<i>Depois</i>
1	5,50	2,77	1	3,34	2
2	5,95	3,26	2	3,37	2
3	6,61	5,50	3	3,39	2

Avaliação da eficiência de um programa de higienização (uso de sanificantes) para tanque de expansão

Produto: Detergente Alcalino Clorado + Derivado Clorado

<i>Parede lateral</i>			
<i>Repetição</i>	<i>Antes</i>	<i>Depois</i>	<i>RD</i>
1	7,73	2,68	5,04
2	7,93	1,77	6,16
3	5,73	2,51	3,22

<i>Pá</i>			
<i>Repetição</i>	<i>Antes</i>	<i>Depois</i>	<i>RD</i>
1	6,29	2,36	3,93
2	6,21	2,38	3,83
3	5,88	2,07	3,81

<i>Válvula</i>			
<i>Repetição</i>	<i>Antes</i>	<i>Depois</i>	<i>RD</i>
1	8,74	3,87	4,87
2	7,28	4,11	3,17
3	7,77	4,98	2,79

<i>Leite</i>					
<i>Mesófilos</i>			<i>Psicrotróficos</i>		
<i>Repetição</i>	<i>Antes</i>	<i>Depois</i>	<i>Repetição</i>	<i>Antes</i>	<i>Depois</i>
1	7,50	5,14	1	2	2
2	6,54	2	2	2	2
3	5,61	5,37	3	3,86	2

Avaliação da eficiência de um programa de higienização (uso de sanificantes) para tanque de expansão

Produto: Detergente Alcalino Clorado + Clorexidine

<i>Parede lateral</i>			
<i>Repetição</i>	<i>Antes</i>	<i>Depois</i>	<i>RD</i>
1	5,31	1,69	3,62
2	5,51	2,17	3,34
3	5,60	3,11	2,49

<i>Pá</i>			
<i>Repetição</i>	<i>Antes</i>	<i>Depois</i>	<i>RD</i>
1	4,39	1,69	2,70
2	3,90	2,82	1,08
3	5,02	3,93	1,09

<i>Válvula</i>			
<i>Repetição</i>	<i>Antes</i>	<i>Depois</i>	<i>RD</i>
1	9,95	4,44	5,51
2	7,25	4,53	2,72
3	6,32	2,60	3,72

<i>Leite</i>					
<i>Mesófilos</i>			<i>Psicrotróficos</i>		
<i>Repetição</i>	<i>Antes</i>	<i>Depois</i>	<i>Repetição</i>	<i>Antes</i>	<i>Depois</i>
1	6,39	3,39	1	3,30	1,00
2	5,38	2,00	2	0	0
3	5,91	5,24	3	0	0

Avaliação da eficiência de um programa de higienização (uso de sanificantes) para tanque de expansão

Produto: Detergente alcalino clorado + Ácido peracético

<i>Parede lateral</i>			
<i>Repetição</i>	<i>Antes</i>	<i>Depois</i>	<i>RD</i>
1	5,23	2,54	2,69
2	6,82	3,34	3,48
3	8,30	2,00	6,30

<i>Pá</i>			
<i>Repetição</i>	<i>Antes</i>	<i>Depois</i>	<i>RD</i>
1	4,24	1,30	2,90
2	4,84	2,32	2,52
3	4,82	1,60	3,22

<i>Válvula</i>			
<i>Repetição</i>	<i>Antes</i>	<i>Depois</i>	<i>RD</i>
1	8,66	4,65	4,01
2	9,11	4,74	4,37
3	8,20	3,07	5,13

<i>Leite</i>					
<i>Mesófilos</i>			<i>Psicrotróficos</i>		
<i>Repetição</i>	<i>Antes</i>	<i>Depois</i>	<i>Repetição</i>	<i>Antes</i>	<i>Depois</i>
1	5,80	0	1	3,54	0
2	7,12	0	2	5,34	0
3	Contaminação alta	3,50	3	3,78	2,00

AVALIAÇÃO DAS CONDIÇÕES DE OBTENÇÃO DO LEITE E DA AÇÃO DE SANIFICANTES NO TANQUE DE EXPANSÃO EM UMA PROPRIEDADE LEITEIRA NO MUNICÍPIO DE CANDEIAS /BAHIA – ESTUDO DE CASO

G.A.Vieira^{1*};E. M. D. Oliveira²

RESUMO

O presente estudo objetivou: 1) Avaliar as condições de obtenção do leite em uma fazenda no Estado da Bahia; 2) Realizar análises microbiológicas e do pH da água utilizada na propriedade; 3) Realizar análises microbiológicas do leite cru armazenado no tanque de expansão; 4) Identificar as bactérias presentes no tanque de expansão; 5) Avaliar a eficiência da ação de um detergente (alcalino clorado) e três sanificantes (hipoclorito de sódio, clorexidina e ácido peracético) no tanque de expansão. Como resultado, para cada item obteve-se: 1) A avaliação da fazenda revelou condições que variaram de insatisfatórias a satisfatórias para produção de leite cru resfriado, contudo, diversas deficiências higiênico-sanitário foram identificadas; 2) Foram isoladas bactérias aeróbias mesófilas, coliformes totais e fecais da água proveniente da fonte e da torneira da propriedade, apresentando pH de 4,0 e 4,2 respectivamente; 3) Foram isoladas bactérias aeróbias mesófilas, coliformes totais e fecais do leite cru refrigerado; 4) Foram isoladas do tanque de expansão as bactérias: *Enterobacter spp.*; *Enterobacter hafnia*; *Pseudomonas spp.*; *Streptococcus spp.*; *Micrococcus spp* *Staphylococcus spp* e *Bacillus spp.*; 5) Apesar dos resultados estatísticos não apresentarem diferenças significantes quanto a eficiência dos produtos, observou-se uma média de 4,09 reduções decimais para o hipoclorito de sódio.

Palavras-chave: Qualidade do leite. Bactérias. Tanque de expansão. Detergentes. Sanificantes.

ABSTRACT

EVALUATION OF MILK OBTENTION CONDITIONS AND THE ACTION OF SANITARY ELEMENTS IN A BULK TANK OF A DAIRY FARM IN THE COUNTY OF CANDEIAS/BAHIA. A CASE STUDY. This study aimed: 1) Characterize conditions in which milk is harvested in a dairy farm of the State of Bahia; 2) Carry out microbiological and PH analysis of the water utilized in the property; 3) Carry out microbiological analisys in the raw milk stored in the bulk tank; 4) Identify the bacteria found in the bulk tank; 5) Evaluate the efficiency in the use of a detergent(alcaline clored) and three sanitary elements (sodium

hipoclorite, clorexidina, and peracetic acid) in the bulk tank. The results obtained for each item were: 1) The farm's appraisal revealed conditions that varied from unsatisfactory to satisfactory in raw cooled milk production; However, varied hygienic-sanitary deficiencies were identified; 2) There were aerobic mesophilic bacteria, total and faecal coliforms in the farm's stream and tap water showing a PH of 4.0 and 4.2 respectively; 3) The isolated items in the raw cooled milk were: aerobic mesophilic bacteria and coliforms total and faecal; 4) These bacteria were isolated in the bulk tank: *Enterobacter hafnia*.; *Pseudomonas ssp.*; *Streptococcus ssp.*; *Streptococcus ssp.*; *Micrococcus ssp.*; *Staphylococcus* and *Bacillus ssp.*; 5) In spite of the statistical results not showing significant differences considering the efficiency of the products, it was noticed an average of 4.09 decimal reduction for sodium hypochlorite use.

Key words: Milk quality. Bacteria. Bulk tank. Detergents. Sanitary elements.

¹Escola de Nutrição da Universidade Federal da Bahia, Mestrado em Alimentos, Nutrição e Saúde, Rua Araújo Pinho 32, Canela, CEP 40110-150 Salvador – Ba, Brasil. E-mail : gavet@uol.com.br

²Universidade Federal da Bahia, Escola de Medicina Veterinária, Salvador, Ba, Brasil

1 INTRODUÇÃO

A pecuária leiteira incorpora vários processos produtivos especializados ao longo de suas atividades, deixando de ser uma atividade simples e de subsistência para se tornar uma atividade com finalidade empresarial e econômica.

O Brasil alcançou a sexta posição entre os maiores produtores de leite no mundo, com uma produção estimada de 24,5 bilhões de litros de leite em 2005. Esse valor corresponde à participação de 4,9% na produção mundial de 495 bilhões de litros. O consumo interno de produtos lácteos é de 127 litros/hab/ano, apresentando um consumo médio *per capita de* leite fluído de 27 litros/hab/ano (NEVES et al., 2006).

O leite é um alimento rico em nutrientes contendo proteínas, carboidratos, gorduras, vitaminas e sais minerais. Sua qualidade microbiológica e físico-química é um dos temas mais discutidos atualmente no cenário nacional de produção leiteira. Depois de secretado do úbere, o leite pode ser contaminado por microrganismos a partir de três principais fontes: glândula mamária, superfície exterior do úbere e tetos, e superfície do equipamento e utensílios de ordenha e tanque (FONSECA; SANTOS, 2001).

A presença dos microrganismos do leite indica que o seu índice de contaminação microbiana pode ser usado na avaliação da qualidade intrínseca, bem como das

condições sanitárias de produção e saúde do rebanho. Considerando o potencial de se multiplicarem, as bactérias do leite podem causar alterações químicas, tais como a degradação de gorduras, de proteínas ou de carboidratos, podendo tornar o produto impróprio para o consumo humano e industrialização (COUSIN, 1982).

Fontes ambientais de contaminação do leite incluem a água utilizada na limpeza dos equipamentos, utensílios, ambiente e fornecimento aos animais. A água usada para estes fins deve ser potável, ausência de coliformes e baixas contaminações de outros gêneros bacterianos (COUSIN; BRAMLEY, 1981). O leite pode ser contaminado quando entram em contato com a superfície do equipamento e/ou utensílios de ordenha, assim como no próprio tanque de refrigeração do leite. A contagem bacteriana total do leite pode aumentar significativamente quando em contato com equipamentos nos quais a limpeza e sanitização são deficientes, pois os microrganismos proliferam nos resíduos de leite presentes em recipientes, borrachas, junções e qualquer outro local onde ocorra seu acúmulo (GUERREIRO et al., 2005).

A refrigeração do leite, por si só, não é garantia de qualidade. É extremamente importante que o leite cru seja obtido em condições higiênico sanitárias adequadas para diminuir a contaminação inicial e, desta forma, a redução da temperatura pode manter a contagem microbiana em níveis baixos. Salienta-se que, quanto maior o tempo de estocagem sob baixas temperaturas (7 a 10°C) de um leite apresentando alta contagem inicial de microrganismos, maiores serão as possibilidades de alterações no produto final (leite pasteurizado, leite ultra pasteurizado e queijos), pela ação de microrganismos psicrotróficos, com o predomínio do gênero *Pseudomonas* spp (FAGUNDES et al., 2006).

Entende-se por sanificação ou sanitização o conjunto de procedimentos empregados para diminuir o número de microrganismos a níveis considerados seguros para a saúde pública, dos equipamentos e utensílios, assim como dos ambientes e manipuladores, usados nas operações de elaboração e industrialização dos alimentos (GERMANO et. al, 2001). O uso de sanificantes é de vital importância na produção e processamento do leite, pois tem por objetivo eliminar microrganismos presentes em locais que não foram removidos pela limpeza (AMIOT, 1991; GERMANO et al., 2001).

Sendo o leite um importante alimento para o consumidor e de uma indiscutível presença na economia do Brasil com reflexos nos campos sociais, faz-se necessário um estudo que avalie a qualidade do leite estocado sob refrigeração em propriedades rurais frente aos padrões de produção, identidade e qualidade, como também análises

microbiológicas dos equipamentos que podem interferir na qualidade do produto e que causam sérios prejuízos econômicos para as indústrias e a saúde do consumidor, além disso, justifica-se necessário um estudo aprofundado e direcionado para avaliar a eficiência de produtos de higiene em tanques de expansão e a realização de diagnósticos dos níveis de contaminação do leite conservado em tanques de expansão através de análises microbiológicas.

Assim sendo, delineou-se o presente trabalho com os seguintes objetivos: avaliar a eficiência de sanificantes em um tanque de expansão; caracterizar as condições locais de obtenção do leite em uma fazenda localizada no Município de Candeias no Estado da Bahia; realizar análises microbiológicas e do pH da água utilizada na propriedade; realizar análises microbiológicas do leite cru refrigerado armazenado no tanque de expansão e isolar e identificar as bactérias presentes no tanque de expansão.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi desenvolvido em uma fazenda produtora de leite, localizada no Município de Candeias, na localidade da Boca da Mata no Km 37 da Rodovia BR 324 que liga Salvador a Feira de Santana, possui uma área de 60 hectares, com topografia acidentada e cercada em toda sua extensão perimétrica por arame liso em bom estado funcional. A fazenda é cortada por uma via de acesso interna com 500 metros de comprimento ligando a cerca principal até o curral e a sede. A fazenda apresenta 20% de sua área em reserva de floresta totalmente preservada e possui dois poços de petróleo em suas dependências.

2.1 Tipo de Estudo

De acordo com a proposta da pesquisa optou-se por um modelo de estudo de caso, no qual foi avaliada apenas uma unidade de análise (Fazenda) (LAZZARINI 1997).

2.2 Local das análises

As análises laboratoriais foram realizadas no Laboratório de Microbiologia da Faculdade de Tecnologia e Ciências de Salvador e no Laboratório de Bacterioses da Escola de Medicina Veterinária - UFBA

2.3 Verificação das condições locais de obtenção do leite

Para verificação das condições locais que poderiam contribuir na determinação da qualidade microbiológica do leite ordenhado, foi utilizado um formulário próprio, sob a forma de *check-list* (composto por questões objetivas), previamente testado, elaborado de acordo com as normas estabelecidas nas Portarias 368/97 e Instrução Normativa 51/2002, do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 1997, 2002).

2.4.1 Coleta de material para análise

2.4.1.1 – Coleta de água

Para as análises microbiológicas, foram coletadas amostras de água (em duplicata) de dois pontos: fonte e ponto de água (torneira) localizado próximo ao curral, na quantidade de 200 mL de cada local. As amostras foram coletadas assepticamente em recipientes esterilizados e, em seguida, acondicionadas sob resfriamento, em caixas isotérmicas com bolsas de gelo. As amostras foram então transportadas até o laboratório de análise, onde foram realizados a contagem total de aeróbios mesófilos (em placas) e o número mais provável (NMP) de coliformes fecais (*col.45°C*) e totais (*col.35°C*), conforme metodologias descritas pela *American Public Health Association – APHA* (WANDERZANT E SPLITTSTOESSER, 1992).

2.4.1.2 Coleta do leite

Amostras do leite resfriado foram coletadas assepticamente do tanque de expansão em recipientes esterilizados de 100 mL e em seguida, acondicionadas sob resfriamento, em caixas isotérmicas com bolsas de gelo. As amostras foram então transportadas até o laboratório de análise, onde foram realizados a contagem total de aeróbios mesófilos (em placas) e o número mais provável (NMP) de coliformes fecais

(col.45°C) e totais (col.35°C), conforme metodologias descritas pela *American Public Health Association* – APHA (WANDERZANT E SPLITTSTOESSER, 1992).

2.4.1.3 Coleta do *Swab* das superfícies do tanque de expansão

Para testar a eficiência do agente de limpeza e sanificantes, foram realizadas análises das superfícies (parede lateral, pá homogeneizadora e válvula) do tanque de expansão, através da técnica do *swab*, sendo executadas após a descarga do leite e após a utilização do agente de limpeza e sanificantes.

Para coletas na parede e na pá, de modo a uniformizar a técnica, foram empregados moldes de papel alumínio esterilizados, com área delimitada de coleta de 50cm². Na válvula, em virtude do desenho da peça, optou-se por uma coleta com movimentos circulares na superfície interna, nas aberturas interna e externa do tanque.

Nas amostras coletadas após o procedimento de higienização, a solução diluente foi acrescida de neutralizantes para os agentes sanificantes, sendo utilizado o tiosulfato de sódio a 0,25% (para o detergente alcalino clorado, derivado clorado e ácido peracético) e Tween 80 a 2,0% para a clorexidina

2.4.2 Pesquisas de aeróbios mesófilos e psicrotróficos

Para a contagem de microrganismos aeróbios mesófilos na água, no leite cru refrigerado e dos ‘swabs’ das superfícies do tanque de expansão (pá homogeneizadora, válvula e paredes laterais), semeou-se 1 mL da amostra pelo método tradicional, com o Agar Padrão para Contagem – (PCA Merck) incubando-se a 35°C por 48 horas. Para a contagem de microrganismos psicrotróficos, utilizou-se a semeadura em meio Agar Padrão para Contagem (PCA - Merck) incubando-se a 7° C por 10 dias.

2.4.3 Pesquisa de coliformes fecais (col.45°C) e totais (col.35°C) - Técnica do NMP

Para a contagem de coliformes totais e fecais na água e leite foram realizados testes presuntivos de coliformes, baseado na utilização de um meio de cultura rico em nutrientes, o caldo lauril sulfato triptose (LST). O teste confirmativo foi utilizado caldo verde brilhante bile lactose 2% estéril e caldo EC (*Escherichia coli*)

2.4.4 Isolamento e identificação das bactérias presentes no tanque de expansão

Com a finalidade de isolar e identificar as bactérias presentes no tanque de expansão foram coletadas amostras com *swabs* da pá homogeneizadora, parede interna e válvula, as quais foram semeadas nos meios de ágar sangue ovino (5%) desfibrinado e ágar Mac Conkey (Difco), incubadas em condições de aerobiose a 37°C, mantidas por 72 horas, com leituras 24, 48 e 72 horas, no Laboratório de Bacterioses da Escola de Medicina Veterinária-UFBA. Os microrganismos foram identificados segundo as características morfo-tintoriais, bioquímicas e de cultivo (QUINN et al., 1994; KRIEG; HOLT, 1994; MURRAY et al., 1999).

2.5 Análise físico-química – determinação do pH

Para análise do pH da água, foi utilizado um pHâmetro portátil marca Quimis, modelo Q-400A(2003), procedendo-se a prévia calibração do equipamento. As amostras foram coletadas em duplicata, sendo considerados nos resultados os valores médios destas medidas.

2.6 Avaliação da eficiência do uso de sanificantes no tanque de expansão

2.6.1 Produtos analisados

Foram avaliados quatro produtos comerciais, utilizados conforme recomendações dos fabricantes: um detergente alcalino clorado e três sanificantes, sendo um derivado clorado (hipoclorito de sódio), outro da biguanida (digluconato declorexidina) e um derivado de ácido orgânico peroxidado (ácido peracético). Após a utilização de cada produto, foi utilizado o detergente ácido.

A tabela 1 apresenta os produtos analisados com as recomendações dos fabricantes visando a sua utilização.

Tabela 1 – Produtos analisados e recomendações

Agente de Limpeza	Diluição	Tempo de contato	pH
--------------------------	-----------------	-------------------------	-----------

Detergente clorado	Alcalino	40 mL / 10 litros de água	2 minutos	-
Derivado (hipoclorito de sódio)	clorado	25 mL / 10 litros de água	2 minutos	4,0 - 7,5
Clorexidina		10 mL /10 litros de água	3 minutos	5-8
Ácido peracético		30 mL /30 litros de água	3 minutos	2 - 4
Detergente ácido		25 mL/ 10 litros de água	2 minutos	-

2.6.2 Avaliação da eficiência dos produtos

A eficiência dos procedimentos de higienização foi interpretada com base no número de reduções decimais (RD) apresentado por cada tratamento, considerando-se a diferença entre o logaritmo decimal do número inicial de microrganismos presentes (Momento 0) e o logaritmo decimal do número final de microrganismos sobreviventes (Momento 1).

2.7 Estudo estatístico – modelo de estudo

A instrumentalização dos dados para tornar possível seu diagnóstico foi baseada na análise de variância com modelo hierarquizado ou aninhado. A comparação das médias das diferentes soluções foi realizada através de contrastes ortogonais.

Para estas comparações e avaliação global dos tratamentos, os testes de hipóteses foram processados através das estatísticas (distribuições) F e t, respectivamente, sendo o nível de significância para F fixado em 5% e para cada teste t fixado em 2 % para cada comparação, o que resulta num nível de significância simultâneo de 6%, de acordo com o ajuste de Bonferroni.

As análises foram processadas utilizando o *software estatístico R* (*Software de domínio público disponível em* <http://www.r-project.org>).

2.8 Delineamento experimental

A Fazenda no qual foi realizado o experimento realiza ordenha manual duas vezes ao dia, onde o leite extraído é acondicionado em latões e transportados até ao

tanque de expansão. O leite armazenado no tanque de expansão é recolhido a cada 48 h e enviado para o laticínio.

O experimento foi conduzido segundo o delineamento dos procedimentos operacionais de higienização realizados no tanque de expansão da propriedade, que obedecia as seguintes composições :

- a) Detergente Alcalino clorado;
- b) Detergente Alcalino clorado + Clorexidine;
- c) Detergente Alcalino clorado + Derivado Clorado;
- e) Detergente Alcalino clorado + Ácido Paracético.

Foram higienizadas as superfícies internas e externas do equipamento, utilizando-se como recursos auxiliares da higienização as escovas de cerdas de náilon, esponjas de poliuretano e a esfregação manual.

Foram realizadas três repetições em três partes diferentes do tanque de expansão (parede lateral, válvula e pá homogeneizadora) para cada produto antes de iniciar a higienização e após a higienização.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os dados referentes as condições de obtenção do leite da propriedade estão apresentados na tabela 2, de acordo com a Instrução Normativa 51/2002.

Tabela 2 - Características da propriedade produtora de leite utilizada para a pesquisa

Características		
1. Rebanho	1. Raça dos animais	Girolando
	2.Total de animais	30
	3.Animais em lactação	15
	4.Nutrição	Pasto + Ração
	5.Tipo de criação-produção	Semi-intensiva
	6.Reprodução	Inseminação artificial
2. Produção	7.Produção diária/média	400 l

	8. Tipo de leite	Cru refrigerado
	9. Destino produção	Laticínio
	10. Tipo de refrigeração	Tanque de expansão
	11. Capac. tanque de expansão	1000 l
	12. Coleta de leite (frequência)	Dias alternados
	13. Local apropriado para o tanque	Não
3. Ordenha	14. Local da ordenha	Estábulo concretado
	15. Tipo de ordenha	Manual
	16. N° ordenhas diárias	2
	17. Teste da caneca	Sim
	18. Realiza pré-dipping	Não
	19. Realiza pós-dipping	Não
	20. Realiza Contagem cel.som.	Não
	21. Higiene mãos ordenhador	Não
	22. Higiene do local ordenha	Regular (nsatisfatório)
4. Destino de dejetos e controle de pragas	23. Destino dos dejetos orgânicos	Céu aberto
	24. Possui esterqueira	Não
	25. Frequência do recolhimento	Diária
	26. Presença de pragas	Sim
	27. Pragas mais frequentes	Insetos alados
5. Água	28. Origem da água da fazenda	Fonte
	29. Destino	Tanque central/ Caixas d'água
	30. Tratamento e análise da água	Não
	31. Realiza limpeza dos reservatórios	Não
	32. Localização da Fonte	Área da capineira
6. Condições da Fazenda para atividade	33. Instalações (currais, estábulos, etc)	Bom
	34. Localização	Bom
	35. Higiene ambiental	Regular
7. Funcionários	36. Apresentam-se uniformizados	Não
	37. Treinados para a função	Sim
	38. Possui práticas de higiene/ordenha	Não
	39. Possuem carteira de saúde	Não
	40. Trato com os animais	Bom

Os resultados demonstraram a necessidade de adoção de medidas corretivas, como preconiza a Instrução Normativa 51/2002, no que se refere ao controle de pragas, higiene na ordenha com a adoção de ações junto aos ordenhadores e no ambiente em geral. Quanto às condições do abastecimento de água da propriedade há necessidade de se adotar medidas de proteção contra a contaminação da água, incluindo o tratamento da água, análises periódicas e uma rotina de higienização do tanque central e reservatórios.

Os resultados indicam que a propriedade não possui esterqueiras e que os armazenamentos dos dejetos são feitos a 'céu aberto' próximo a área de ordenha. A

legislação em vigor recomenda construção de esterqueira para tratamento dos resíduos orgânicos e se possível afastado do local de ordenha.

De acordo com a IN51/2002, a propriedade apresenta condições estruturais satisfatórias e adequadas para realização da atividade leiteira. Quanto às condições de limpeza do ambiente, principalmente no local onde é realizada a ordenha e demais instalações, observam-se a necessidade da adoção de medidas higiênico-sanitárias mais efetivas: limpeza e higienização dos pisos, paredes e locais de preparo das rações.

As análises microbiológicas e do pH da água utilizada apresentaram os seguintes resultados (média das amostras em duplicata) descritos nas tabelas 3 e 4, a seguir:

Tabela 3: Resultados das análises microbiológicas da água utilizada na fazenda*

Ponto de coleta	Análises		
	CTAM** (UFC/mL)	Coliformes totais (<i>col.35°C</i>) (NMP/100mL)	Coliformes fecais (<i>col.45°C</i>) (NMP/100mL)
Fonte	$3,5 \times 10^2$	>23	>23
Torneira	$1,6 \times 10^2$	1,6	1,6

* Média das amostras em duplicata

**CTAM – Contagem total de aeróbios e mesófilos

Tabela 4: Valores de pH das amostras de água em diferentes pontos da propriedade. *

Ponto de coleta	pH da água
Fonte	4,0
Torneira	4,2

* Média das amostras em duplicata

As análises microbiológicas da água revelaram altas contagens de microrganismos mesófilos e coliformes totais e fecais, estando além do padrão requerido pela Portaria 1469/01 que estabelece a ausência de coliformes totais e fecais em 100mL de amostra (BRASIL, 2001). De acordo com Sanches (2000), a ausência de coliformes totais (*col.35°C*) e fecais (*col.45°C*) é indicador de uma água

bacteriologicamente potável. O estudo evidencia que a água da propriedade estudada é considerada imprópria para consumo, limpeza e outras finalidades.

A origem da água da fazenda (Fonte) e a ausência de tratamentos específicos, sem dúvidas, contribuíram para esses resultados. Outro fator que deve ser considerado é a adubação orgânica realizada na área da capineira onde se localiza a fonte, provavelmente favoreceu a infiltração de microrganismos no solo, e pode ser responsável pelo elevado índice de contaminação verificado. Resultados similares foram observados por Larsen et al. (1994 apud BOWLING; JONES, 2003), que observaram a capacidade de coliformes fecais migrarem para água subterrânea, a partir de esterco do gado presente no pasto.

A qualidade microbiológica inadequada da água utilizada em propriedades leiteiras também foi observada por Amaral et al. (2001) onde ao avaliarem a qualidade higiênico-sanitária da água utilizada para consumo humano e produção de leite em quatorze propriedades rurais na região nordeste do estado de SP, verificaram que a maior parte das amostras apresentavam-se fora dos padrões estipulados pela Portaria GM 36 de 19/01/90 substituída pela Portaria 1469/01 no que se refere a potabilidade e níveis de contaminação de coliformes totais, fecais e mesófilos. Picinnin (2003) analisando a qualidade microbiológica de amostras de água em 31 propriedades leiteiras de Minas Gerais verificou que 87,10% das amostras não apresentaram níveis aceitáveis para coliformes totais (*col.35°C*) e fecais (*col.45°C*) de acordo com a Portaria 1469/01.

Com relação ao potencial hidrogeniônico (acidez da água), a água apresentou nível elevado, com pH próximo a 4,0. Este fato pode ser justificado pela contaminação com resíduos orgânicos devido a infiltração por dejetos no solo próximo à fonte, fato descrito por Macedo (2001) que descreve como uma das causas de acidez das águas naturais à presença de resíduos orgânicos. A acidez da água da propriedade também pode estar relacionada ao fato da propriedade conter poços de produção de petróleo, onde a presença de compostos orgânicos e gases poderiam favorecer o aumento da acidez da água conforme descrito por Kirby, et al (2002).

As análises microbiológicas do leite coletado do tanque de expansão apresentaram os seguintes resultados (Tabela 5).

Tabela 5: Contagem total de aeróbios mesófilos, psicrotróficos e estimativa de coliformes fecais e totais para caracterização inicial do leite no tanque de expansão.

CTAM*	Psicrotróficos	Coliformes	Coliformes totais
-------	----------------	------------	-------------------

(UFC/mL)	(UFC/mL)	fecais(<i>col.</i> 45°C) (NMP/mL)	(<i>col.</i> 35°C) (NMP/mL)
2,6 x 10 ⁵	Sem crescimento	> 2,4 x 10 ⁴	> 2,4 x 10 ⁴

*CTAM – Contagem total de aeróbios e mesófilos

Os resultados encontrados indicam alta carga de mesófilos (2,6x10⁵ UFC/mL), embora esteja em conformidade com os limites legais estabelecidos na Instrução Normativa 51/2002, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, que estabelece 1.000.000 UFC/mL de amostra de leite (BRASIL, 2002).

Ao comparar os resultados apresentados nas tabelas 3 e 5 identificou-se correlação entre as contagens bacterianas presentes nas amostras de água e a carga microbiana presente no leite, o que demonstra a influência direta ou indireta da qualidade da água sobre a qualidade do leite. Agüero e Pedraza (1987) e Picinin (2003), ratificam esta afirmação, ao verificarem em seus estudos altas contagens bacterianas em amostras de água correlacionadas a altas contagens bacterianas em amostras de leite.

A alta contagem de microrganismos mesófilos refletiu as condições de higiene do local da ordenha (tabela 1) assim como o tipo de ordenha realizada. Fonseca e Pereira (1999) afirmam que a qualidade do leite e o seu padrão microbiológico podem ser expressos pela contagem bacteriana total do leite do tanque de resfriamento, tendo como variável dependente da carga microbiana inicial (contaminação após ordenha até o seu depósito no tanque) e da taxa de multiplicação bacteriana relacionados a fatores como: higiene da ordenha, condições da limpeza e higienização dos utensílios utilizados na ordenha, qualidade da água e temperatura x tempo de armazenamento do leite.

O estudo conjectura com a realidade da produção de leite de qualidade insatisfatória no Brasil e em outros países, demonstrado por diversos autores como: Nero et al. (2005), que ao analisar amostras de leite cru oriundas de 210 propriedades de diferentes regiões do Brasil verificaram que uma parcela significativa das amostras (48,6%) apresentou contagens acima dos limites determinados pela Instrução Normativa 51/2002 do MAPA e Boor et al (1998) analisando 855 amostras de leite provenientes de 11 cooperativas de leite do Estado de Nova York, constataram que 5% do total das amostras apresentaram contagens de mesófilos acima de 100.000 UFC/mL.

As análises microbiológicas (identificação dos microrganismos) das superfícies do tanque de expansão após o período de estocagem 48 horas a 4°C, antes da higienização, apresentaram os resultados descritos na Tabela 6.

Tabela 6: Microrganismos identificados no leite no tanque de resfriamento (expansão), antes da utilização dos sanificantes.

Locais de análise	Microrganismos		
	1ª coleta -	2ª coleta	3ª coleta
Pá homogeneizadora	Enterobacter spp	<i>Enterobacter spp.</i> ; <i>Pseudomonas spp.</i> ; <i>Streptococcus spp.</i> ; <i>Micrococcus spp</i>	<i>Enterobacter spp.</i> ; <i>Enterobacter hafnia</i> ; <i>Pseudomonas</i> <i>Staphylococcus spp</i>
Parede interna	<i>Enterobacter spp</i>	<i>Enterobacter spp.</i>	<i>Enterobacter spp.</i> ; <i>Staphylococcus spp.</i> ; <i>Pseudomonas spp.</i> ; <i>Bacillus spp.</i> ; <i>Streptococcus spp</i>
Válvula	<i>Enterobacter spp</i>	<i>Enterobacter spp.</i> ; <i>Pseudomonas spp</i>	<i>Enterobacter spp.</i> ; <i>Staphylococcus spp</i>

A partir das análises realizadas no tanque de resfriamento identificou-se diferentes gêneros de microrganismos. O que pode ser explicado por falhas de higiene na ordenha (ambiental e dos ordenhadores) e qualidade microbiológica insatisfatória da água.

Catão e Cebalos (2001) ao analisarem amostras de leite cru e pasteurizados no Estado da Paraíba, verificaram níveis elevados de coliformes fecais e totais e *Listeria spp*, evidenciando a má qualidade microbiológica do leite. Jayarao et al. (1999), ao analisarem amostras de leite procedentes de 131 propriedades leiteiras de Dakota e Minnessota, isolaram cepas de *Salmonella spp.*, *Listeria spp.*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas spp.* e *Staphylococcus aureus*.

O isolamento de *Staphylococcus spp* em diferente pontos do tanque de expansão está de acordo com os resultados de Lamaita et al. (2005), que isolaram este microrganismo em 100% das amostras de leite cru refrigerado e estocado por 48 horas a 4°C em tanques de refrigeração em fazendas do Estado de Minas Gerais.

A ocorrência de *Staphylococcus spp* no leite está associada a vários fatores, principalmente a falta de higiene dos ordenhadores (FONSECA; SANTOS, 2000), fato comprovado por Rapini et al. (2005), que isolaram diversas espécies de estafilococos das mãos, fossas nasais e membrana orofaringe de manipuladores de queijo de cabra.

Outro fator que provavelmente contribuiu para a presença de *Staphylococcus* no leite é sua contaminação através da água, relatado por Amaral et al. (2003), que isolaram *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus coagulase negativa* em amostras de água de fazendas leiteiras do Estado de São Paulo.

Cousin (1982), ressalta que os microrganismos psicotróficos estão comumente presentes na natureza e água, solo, poeira, fezes e vegetação são potenciais fontes de

contaminação do leite; evidenciando assim as possíveis fontes de contaminação do leite analisado no presente trabalho, dada às condições higiênicas – sanitárias da propriedade.

Quanto a análise da ação dos sanificantes no tanque de expansão, a tabela 7 e a figura 1 apresentam os resultados médios de redução decimal (RD) da população microbiana presentes no tanque de expansão da propriedade após a análise do detergente alcalino clorado e sanificantes.

Tabela 7: Média de reduções decimais da população microbiana após uso do detergente alcalino clorado e composição com sanificantes

Tratamentos	Parede lateral	Pá	Válvula	Total	Média
	1.86	3.56	4.08		
<i>Detergente Alaclino-clorado</i>	1.59	0.85	2.21	19.67	2.19
	1.63	2.31	1.58		
Total	5.08	6.72	7.87		
<i>Det.Alcalino clorado + Derivado clorado</i>	5.04	3.93	4.87		
	6.16	3.83	3.17	36.82	4.09
	3.22	3.81	2.79		
Total	14.42	11.57	10.83		
<i>Det.Alcalino clorado + Clorexidina</i>	3.62	2.70	5.51		
	3.34	1.08	2.72	26.27	2.92
	2.49	1.09	3.72		
Total	9.19	4.87	11.95		
<i>Det.Alcalino clorado + Ácido Paracético</i>	2.69	2.9	4.01		
	3.48	2.52	4.37	34.62	3.85
	6.30	3.22	5.13		
Total	12.47	8.64	11.51	117.38	

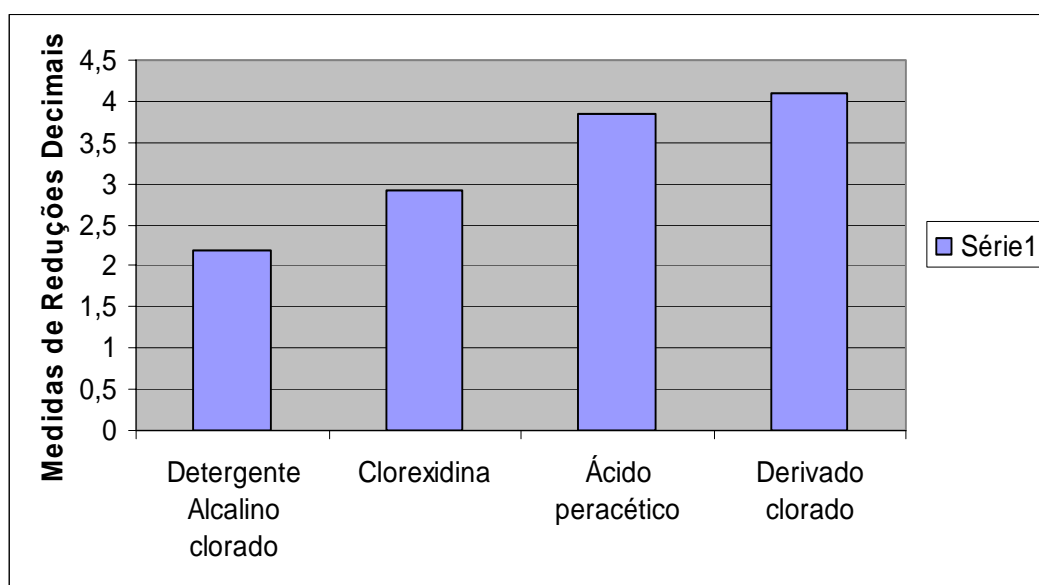


Figura 1: Médias de reduções decimais após avaliação da utilização do detergente alcalino-clorado e sanificantes

Na perspectiva da avaliação da eficiência dos sanificantes, segundo critérios da Association of Official Analytical Chemist (AOAC), referida por Schmidt (2001), define como bom sanificante para superfícies em contato com alimentos, aquele que reduz o nível de contaminação em 99,999% (5 reduções decimais) em trinta segundos, os conjuntos apresentaram *performance* distintas.

Neste contexto, destaca-se que nenhum dos produtos alcançou o valor de referência, sendo o produto clorado o que mais se aproximou do número de reduções preconizado.

De acordo com a análise estatística, na análise de variância considerando-se um nível de significância a 5% não houve diferença significativa entre as médias, apesar de o derivado clorado apresentar a maior média de redução decimal.

Partindo-se do pressuposto de que a eficiência dos agentes sanificantes é afetada por diversos fatores como condições de uso (concentração e temperatura), fatores químicos (pH e dureza da água) e contaminação biológica (presença de microrganismos e matéria orgânica na água) (MELLO, 1987; BILL, 1993; MCDONNELL; RUSSEL, 1999); O pH 4,0 e 4,2 da água, além da contaminação da água da propriedade possivelmente explicam o desempenho inferior da clorexidina ((pH ótimo 5-8 e presença de matéria orgânica).

Por outro lado, considerando a boa atividade exibida pelos sanificantes à base de cloro (pH ótimo 4,0-7,5) e ácido peracético (pH ótimo 2-4) e tendo em conta as características de boa atividade destes produtos em meios ácidos, é provável que a acidez da água usada na fazenda tenha favorecido estes resultados. Entretanto, conforme Andrade e Macedo (1996); McDonnell e Russel (1999) tanto os derivados clorados como o ácido peracético tem sua efetividade alterada pela presença de matéria orgânica na água. De acordo com a realidade apresentada, a água da propriedade apresentou uma grande carga microbiana além de considerável quantidade de matéria orgânica em

decorrência da proximidade do armazenamento do esterco e da adubação orgânica próxima à fonte, fator que pode ter interferido na eficiência dos sanificantes avaliados.

4 CONCLUSÕES

Apesar de apresentar estruturas físicas adequadas e satisfatórias para operacionalização da atividade leiteira, além de funcionários treinados para suas funções, as avaliações das condições ambientais da fazenda identificaram diversas situações em desacordo às recomendações estabelecidas pela legislação (Portaria 368/97 e Instrução Normativa 51/2002 do MAPA, Portaria 1469/2001 do MS) como: ausência de esterqueira, acúmulo de fezes próximo ao estábulo, presença de moscas, uso de água sem tratamento e em condições insatisfatórias de armazenamento e uso de procedimentos de higiene incorretos, principalmente durante os processos de ordenha, o que dificulta a proteção contra a contaminação microbiológica do leite produzido;

Na medida em que a higiene constitui fator primordial na determinação da qualidade inicial do leite, os resultados evidenciam necessidades, tanto para o estabelecimento de critérios na adoção de programas de higienização quanto de investimentos em atividades de apoio e orientação aos produtores, com o propósito de corrigir os problemas encontrados e alcançar maior eficiência nos métodos de obtenção do leite nas propriedades;

Foram isoladas bactérias aeróbias mesófilas, coliformes totais e fecais da água proveniente da fonte e da torneira da propriedade, apresentando um pH de 4,0 e 4,2 respectivamente;

Foram isoladas bactérias aeróbias mesófilas, coliformes totais (*col.35°C*) e fecais(*col.45°C*) do leite cru refrigerado;

Foram isoladas do tanque de expansão as bactérias: *Enterobacter spp.*; *Enterobacter hafnia*; *Pseudomonas spp.*; *Streptococcus spp.*; *Micrococcus spp* *Staphylococcus spp* e *Bacillus spp.*;

Apesar dos resultados estatísticos não apresentarem diferenças significantes quanto a eficiência do produto, observou-se uma média de 4,09 reduções decimais para o produto à base de hipoclorito de sódio, enquanto que o detergente clorado apresentou a menor média com 2,18 reduções decimais.

Considera-se que o simples uso de tanques de expansão na atividade leiteira não significa necessariamente leite de melhor qualidade, devendo os produtores ficar atentos quanto aos aspectos de higiene em todos os processos da fazenda, investir no melhoramento da qualidade da água e educar os colaboradores no tocante a higiene pessoal e do ambiente.

REFERÊNCIAS

AGUERO, H. E. et al. Calidade higiênica del água y su relacion con el contenido microbiano de leche. **Revista Agricultura Tecnica de Chiler**, v. 47, n. 2, p. 136-141, abr./jun./1987.

AMARAL, L.A. Avaliação da qualidade higiênico-sanitária da água utilizada para o consumo humano e na produção de leite em propriedades rurais situadas na região nordeste do estado de SP. **Revista Higiene Alimentar**, Guarapari, ES, v. 15, n. 80/81, p. 91-146, 2001.

_____. Ocorrência de *Staphylococcus* sp em água utilizada em propriedades leiteiras do Estado de São Paulo, **Arquivos Brasileiros de Med. Veterinária e Zootecnia**, São Paulo, v. 5, n. 5, p. 620-623, out. 2003.

AMIOT, Jean. **Ciencia y tecnología de la leche**. Zaragoza: Acríbia, 1991

ANDRADE, N. de; MACÊDO, J. B. **Higienização na Indústria de Alimentos**. São Paulo: Varela, 1996.

BILL, R. **Pharmacology for veterinary technicians**. Goleta: American Veterinary Publications, 1993.

BOOR, K. J. et al. Microbiologia and chemical quality of raw milk. **New Yor State - Journal Dairy Science**, n. 81, p. 1743-1748, dez./1998.

BOWLING, Lee; JONES, Hugh – Impacts of cattle quality at Glennies Creek Storage, **Center for Natural Resources**, New South Wales Department of land and Water Conservation :Parramata, February- 2003;

BRASIL. Ministério da Agricultura. Instrução Normativa nº 51 de 18 de setembro de 2002. Aprova os regulamentos Técnicos de Produção, Identidade e Qualidade do Leite tipo A, Leite tipo B, do Leite tipo C, do Leite Pasteurizado e do Leite Cru Refrigerado e seu Transporte a Granel. **Diário Oficial da União**, Brasília, D.F. 2002.

_____. Ministério da Agricultura. Portaria nº 368/97 de 4 de Setembro de 1997. Regulamento Técnico sobre as condições Higiénico-Sanitárias e de Boas Práticas de Fabricação para Estabelecimentos Elaboradores / Industrializadores de Alimentos. **Diário Oficial da União**. Brasília, D.F, 1997.

_____. Ministério da Saúde. Diretoria Colegiada da Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Portaria nº 1469 de 29 de dezembro de 1999. Estabelece os Procedimentos e Responsabilidades Relativas ao Controle e Vigilância da Qualidade da Água para Consumo Humano e seu Padrão de potabilidade. **Diário Oficial da União**, Brasília, D.F., 2001.

CATÃO, R. M.; CEBALLOS, B. S. *Listeria spp*, Coliformes fecais e totais e *E. Coli* no leite cru e pasteurizado de uma indústria de laticínios, no Estado da Paraíba. **Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 21, n. 3, p. 281-287, set./dez./2001.

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

COUSIN, M. A., BRAMLEY, A. J. The microbiology of raw milk. In: ROBINSON, R. K. (Ed.), *The Microbiology of Milk*. **Dairy Microbiology**, London: Applied Science Publishers, v. 1, p. 119-163, 1981.

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

FONSECA, L. F.; SANTOS, M. V. **Qualidade do leite e controle da mastite**. São Paulo: Lemos Editorial, 2000.

FONSECA, L. F.; SANTOS, M. V. Importância e efeito de bactérias psicotróficas sobre a qualidade do leite. In: _____. **Higiene alimentar**, v. 15, n. 82, p. 13-19. Março 2001.

GERMANO, P. M. L.; GERMANO, M. I. S. **Higiene e vigilância sanitária de alimentos**. São Paulo: Varela, 2001.

GUERREIRO, P. et al. Qualidade microbiológica de leite em função de técnicas profiláticas no manejo de produção, **Revista Ciências e Agrotecnologia**, Lavras, v. 29, n. 1, p. 216-222, jan./fev. 2005

HAYES, P. R., **Microbiologia e higiene dos alimentos**, Zaragoza: Acríbia, 1993.

JAY, J. J. **Microbiologia de alimentos**. 6 ed. Porto Alegre: Artmed, 2005.

JAYARAO, B.; WANG, Ling. A study on the prevalence of gram-negative bacteria. In: Bulk Tank Milk; National Mastitis Council Annual Meeting Proceedings. **Anais...** 1999, p.150151.

KIRBY, R. M.; BARTRAM, J.; CARR, R. Water in food production and processing: quantity and quality concerns. **Food Control**, v. 14, p. 283-299, 2002.

KRIEG, N. R.; HOLT, J. C. **Bergey's manual of systematic bacteriology**. 9. ed. Baltimore: Williams & Wilkins, 1994.

LAMAITA, H. C. Contagem de *Staphylococcus* sp e detecção de enterotoxinas estafilocócicas e toxina da síndrome do choque tóxico em amostras de leite cru refrigerado. **Arquivos Brasileiros de Méd. Veterinária e Zootecnia**, v. 57, n. 5, p. 702-709, out. 2005.

LANGE, C.; BRITO, J. R. Microrganismos que deterioram a qualidade do leite. **Revista Balde Branco**, n. 489A, p. 36-38, ago. 2005. Edição Especial.

LAZZARINI, S.G. – Estudos de caso para fins de pesquisa : aplicabilidade e limitações do método In : Estudos de caso em agribusiness, - São Paulo : Ed. Pioneira, 1997;

MACEDO, J. A. B. **Águas & Águas**. Juiz de Fora: Ortofarma, 2001. mar./ 2001.

MELLO, C. A. **Avaliação da eficiência de sanificantes químicos em condições de uso simulado sobre psicrotróficos acidificantes**. 1997. 63 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Viçosa

McDONNELL, G.; RUSSEL, D. Antiseptics and disinfectants: activity, action and resistance. **Clinical microbiology reviews**, v. 12, n. 1, p. 147-179, jan./1999.

MURRAY, P. R. et al. **Manual of Clinical Microbiology**. 7 ed. Washington, D. C.; American Society for Microbiology, 1999.

NERO, L. A. et al. Leite cru de quatro regiões brasileiras. **Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 25, n. 1, p. 191-195, mar. 2005.

NEVES, M. F. et al. Mapeamento do sistema agroindustrial do leite em 2005. Disponível em: <<http://www.fundacaofia.org.br>>. Acesso em: 23 de março de 2006.

PICININ, L. **Qualidade do leite e da água de algumas propriedades leiteiras de Minas Gerais**. 2003, 89 f. Dissertação (Mestrado) - Escola de Medicina Veterinária – Universidade Federal de Minas Gerais – Minas Gerais.

QUINN, P. J. et al. **Clinical Veterinary Microbiology**. London: Wolfe, 1994.

RAPINI, L. S. et al. Presença de *Staphylococcus* spp. produtores de enterotoxinas e da toxina da síndrome do choque tóxico em manipuladores de queijo de cabra. **Arquivos Brasileiros de Méd. Veterinária e Zootecnia**, v. 57, n. 6, p.825-829, dez./2005.

SANCHES, P. S. Fundamentos biológicos do saneamento. **Curso de Pós-Graduação Controle da Poluição Ambiental**. São Paulo: FAAP, 2000. 215 p. (Mimeo).

SCHMIDT, R.H. **Basics elements of equipment clening and sanitizing in food processing and handling operations**. Institute of Food and Agricultural Services, University of Florida. Disponível em <http://edis.ifas.ufl.edu/BODY_FS077> acesso em 06 de jan 2001.

WANDERZANT, C.; SPLITTFTOESSER, D. F. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 3. ed. Washington: American Public Health Association, 1992.