

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
DEPARTAMENTO DE APOIO À PESQUISA
PROGRAMA INSTITUCIONAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

AVALIAÇÃO DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DO LEITE DE
BUBALINO PRODUZIDO NA CIDADE DE PARINTINS/AM

Bolsista: Kellen Cativo Barros, Fapeam

PARINTINS

2014

AVALIAÇÃO DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DO LEITE DE BUBALINO
PRODUZIDO NA CIDADE DE PARINTINS/AM

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
DEPARTAMENTO DE APOIO À PESQUISA
PROGRAMA INSTITUCIONAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

RELATÓRIO FINAL
PIB-A/0148/2014

AVALIAÇÃO DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DO LEITE DE BUBALINO
PRODUZIDO NA CIDADE DE PARINTINS/AM

Bolsista: Kellen Cativo Barros, Fapeam
Orientador: Prof. Msc. Elton Augusto Lehmkuhl

PARINTINS
2014

TODOS OS DIREITOS DESTE RELATÓRIO SÃO RESERVADOS À UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS, AO NÚCLEO DE PESQUISA ÁGUA-SOLO-PLANTA-ANIMAL ALIADO A SUSTENTABILIDADE DA AMAZÔNIA – GASPASA. PARTE DESTE RELATÓRIO SÓ PODERÁ SER REPRODUZIDA PARA FINS ACADÊMICOS OU CIENTÍFICOS.

ESTA PESQUISA, FINANCIADA PELA FUNDAÇÃO DE AMPARO A PESQUISA DO AMAZONAS– FAPEAM, ATRAVÉS DO PROGRAMA INSTITUCIONAL DE BOLSAS DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS, FOI DESENVOLVIDA PELO NÚCLEO DE PESQUISA ÁGUA-SOLO-PLANTA-ANIMAL ALIADO A SUSTENTABILIDADE DA AMAZÔNIA – GASPASA.

RESUMO

O presente trabalho teve como objetivo, avaliar as características microbiológicas do leite cru de bubalinos produzido em Parintins/AM. As propriedades envolvidas na realização das coletas do leite localizam-se na Cidade de Parintins, Amazonas. As análises microbiológicas foram contagens para fungos e leveduras, coliformes totais e termotolerantes a 36°C e 45°C e *Salmonella*. Todas as 12 amostras apresentaram contaminação por coliformes totais e termotolerantes. Para *Salmonella*, esta não foi identificada em nenhuma das amostras analisadas. E para fungos e leveduras, apresentaram os seguintes valores $1,0 \times 10^4$, $1,2 \times 10^3$, $1,3 \times 10^3$, $2,9 \times 10^3$ e $3,4 \times 10^3$, $3,3 \times 10^3$, $1,2 \times 10^3$, $2,1 \times 10^3$, $1,2 \times 10^3$, 3×10^3 e $3,6 \times 10^3$ UFC/mL respectivamente, sendo que na 4 amostra não houve crescimento.

Palavras-chave: *Bubalus bubalis*, microrganismos, leite *in natura*

Abstract

This study aimed to evaluate the microbiological characteristics of raw milk of buffaloes produced in Parintins / AM. The properties involved in the collections of the milk are located in the city of Parintins, Amazonas. Microbiological analyzes were counts for fungi and yeasts, total and fecal coliforms at 36 ° C and 45 ° C and *Salmonella*. All 6 samples had total coliforms and thermotolerant. For *Salmonella*, this was not identified in any of the samples analyzed. And for fungi and yeasts showed the following $1,0 \times 10^4$ $1,2 \times 10^3$ $1,3 \times 10^3$, $2,9 \times 10^3$ to $3,4 \times 10^3$ CFU / mL respectively, and the fourth sample showed no growth.

Key words: *Bubalus bubalis*, microrganismo, raw milk

Sumário

1 INTRODUÇÃO.....	7
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	9
3 METODOLOGIA	13
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	15
5. CONCLUSÃO.....	18
6. AGRADECIMENTOS.....	18
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFICAS	19
8 CRONOGRAMA.....	24

1 INTRODUÇÃO

No Brasil, a criação de búfalos (*Bubalus bubalis*) nos últimos anos, tem se tornado uma alternativa econômica, principalmente para a produção leiteira, devido à qualidade biológica de seus componentes que atribui a este um alimento altamente nutritivo e benéfico para a saúde humana. Com o conhecimento do valor nutricional do leite de búfala, há uma grande preferência por parte da população, o que o torna valioso para o consumo *in natura* e para a elaboração de seus derivados, tais como queijos, produtos fermentados, leite em pó, manteiga, doce de leite e sorvete.

De acordo com a FAOSTAT (2005), o rebanho brasileiro de bubalinos possui mais de 1,2 milhões de cabeças, onde o maior volume se encontra na região Norte destacando-se a ilha de Marajó e o Baixo e o Médio Amazonas. Por serem animais produtivos, rústicos, resistentes a doenças contagiosas e parasitárias, e bastante adaptáveis às diversas condições ambientais, encontra-se na Amazônia um habitat propício ao seu desenvolvimento.

Como as demais regiões amazônicas, Parintins sofre o efeito do ciclo das águas havendo dois períodos ao ano, a enchente e a vazante, onde os búfalos no período da enchente são transportados da área de várzea para a terra firme, no qual o transporte dos mesmos ocorre de forma rudimentar em balsas e/ou barcos. Pelo fato do transporte ser coletivo, as búfalas ficam vulneráveis a grande quantidade de esterco e urina, podendo provocar uma possível contaminação do leite, visto que as búfalas ficam sujas em virtude do contato direto com as excretas corporais supracitadas. Com isso, o município de Parintins está inserido em um contexto com pequenas propriedades, nas quais a produção leiteira é ainda exercida com baixa tecnologia, e uma comercialização de forma artesanal e informal.

Dessa forma, o estudo da qualidade desse produto que é consumido na forma *in natura* se torna indispensável, uma vez que a contaminação do leite pode levar à disseminação

de doenças em humanos como: intoxicação alimentar, entéricas e, em casos mais extremos, leptospirose, tuberculose e, em animais, a brucelose.

Segundo Souza e colaboradores (1995), a obtenção higiênica do leite cru é essencial na manutenção da boa qualidade microbiológica e nutricional do produto, o qual está geralmente associado de forma mais específica à higiene empregada no manejo de ordenha e desinfecção dos equipamentos e utensílios utilizados durante a ordenha, assim como no armazenamento, resfriamento e transporte do leite. Algumas das fontes de contaminação estão diretamente relacionadas ao manejo de ordenha como: partículas de esterco, terra e pêlos contendo microrganismos que podem entrar em contato com o leite, utilização de baldes sem alça para o armazenamento durante a ordenha. Pois, ao utilizarem estes vasilhames, os trabalhadores rurais o manejam pelos fundos que normalmente estão sujos, e ainda, há a contaminação pelo próprio trabalhador rural, uma vez que estes podem negligenciar o hábito básico de lavar as mãos, tornando-se o principal veículo de contaminação do produto (VIEIRA *et al.*, 2004). Dessa forma, a comprovação e manutenção da qualidade do leite podem ser feitas por meio do controle microbiológico do produto. Este procedimento é realizado em amostras de leite, principalmente, através das pesquisas de microrganismos indicadores que, quando presentes, fornecem informações sobre as condições sanitárias da produção, do processamento, ou armazenamento (TAMANINI *et al.*, 2007).

Os microrganismos, tais como os coliformes totais e termotolerantes, *Salmonella*, fungos filamentosos e leveduras, estão entre os principais grupos indicadores da qualidade do leite. Os coliformes totais podem ser representado pelos microrganismos pertencentes à família *Enterobacteriaceae*, que possuem a capacidade de fermentar lactose a temperaturas de 35-37°C. A presença desses microrganismos indica o nível de contaminação do ambiente que o alimento juntou. Além disso, por serem sensíveis à temperatura de pasteurização, a sua presença em produtos tratados termicamente indica contaminação após o processo. Os coliformes termotolerantes correspondem aos coliformes totais que continuam fermentando a lactose quando incubados a 45° C. E a presença desses coliformes indica uma provável contaminação

de origem fecal, assim como a eventual ocorrência de enteropatógenos (FRANCO & LANGRAF, 1996). A *Salmonella*, também se insere na família Enterobacteriaceae, juntamente com os coliformes totais, entretanto, esta é determinada em uma análise mais específica. Pois, o simples fato dessa bactéria, indica contaminação de origem fecal, relacionada diretamente à higiene do trabalhador rural que executa a ordenha, podendo também estar associada à ocorrência de mastite no rebanho. Da mesma forma, a presença de fungos filamentosos e leveduras, podem ser associadas à ocorrência de casos de mastite no rebanho, ou podem estar relacionada ao nível de higiene da ordenha, do ambiente, ou ainda a problemas no processo de armazenamento do leite (MELVILLE, *et al.*, 2006).

Desse modo, o conhecimento da boa prática de ordenha, higiene e saúde animal, relacionada à políticas públicas direcionadas ao setor agropecuário, garantem uma produção leiteira de boa qualidade. Além disso, a adoção de uma política de pagamento diferenciada ao produtor, que apresente um leite com maior qualidade poderia estimular os produtores rurais, e como isso, intensificar a seleção daqueles animais que produzam em maior volume e qualidade. (Duarte *et al.*, 2001). Portanto, verifica-se a importância da análise microbiológica do leite bubalino no município de Parintins, uma vez que a comercialização desse produto se dá na forma *in natura*, ou seja, sem passar por qualquer tratamento térmico que poderia minimizar a contaminação por microrganismos causadores de doença.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

No Brasil a introdução dos Bubalinos ocorreu no final do século XIX, procedentes da Ásia, Itália e América Central, pela região norte do país (Belém/Pará) e pela região Sudeste (São Paulo e Minas Gerais), e atualmente possui uma população de aproximadamente 1.100.000 cabeças (Anualpec, 2009).

No ano de 2009, o rebanho bubalino apresentou 1.131.986 cabeças, encontrando-se a maior parte na Região Norte do país (62,2%), seguido da região Sul (11,3%), Nordeste (10,5%), Sudeste (9,8%), e por último a Centro - Oeste com 5,2% do rebanho. No entanto, a Associação Brasileira dos Criadores de Búfalos estima o rebanho em 3 milhões de cabeças (BERNARDES, 2006).

O búfalo foi considerado pela FAO (Organização das Nações Unidas para Alimentação) como o animal doméstico mais dócil do planeta. Trata-se, ainda, de um excelente conversor de forragens de reduzido valor nutritivo, transformando-a, com maior eficiência que os bovinos, em matéria-prima de destacada qualidade (PARDO, 2007).

Os bubalinos domésticos têm se constituído numa valiosa alternativa na agropecuária em diferentes países do mundo, isto devido a sua versatilidade para a produção de leite (PL), carne e tração, mantendo-se a base de pastos naturais e resíduos de plantações. Além disso, possuem alta rusticidade, tolerância e resistência a doenças contagiosas e parasitárias. Este conjunto de vantagens tem permitido que sua manutenção seja muito econômica, somado à fácil adaptação a terras inundáveis, costeiras, montanhosas, planícies e condições edafológicas ruins (Cockrill, 1974).

No Brasil, o volume médio de leite bubalino produzido diariamente é de 100 mil litros. Essa atividade agropecuária depende, em mais de 80%, da produção na pequena propriedade, de base familiar. Segundo a Associação Brasileira de Criadores de Búfalos, os pequenos criadores (com rebanho entre dez e 50 cabeças) representam 70% dos criatórios (DAMÉ, 2007).

Para comprovar que o volume e a composição do leite são sensíveis a todo tipo de alteração sanitária ou zootécnica, que caracteriza o manejo leiteiro, alguns autores delinearão estudos para demonstrar influências positivas e negativas da raça, da composição do alimento oferecido, da higiene de ordenha e mesmo do método de oferta deste alimento (TZANKOVA & PETROVA, 2000; VIANNI et al., 2000; FRANCIÀ et al., 2003; SALIMEI et al., 2005)

O leite de búfala exibe excelente qualidade nutricional destacando-se, como principais características, elevado teor de proteínas com 25,55% mais aminoácidos essenciais que o leite de

vaca (VERRUMA e SALGADO, 1994), alto teor gordura apresentando maior valor calórico que o leite bovino, alta porcentagem de minerais sendo, o mais importante o cálcio. O elevado teor de extrato seco total do leite possibilita um alto rendimento de derivados. Outra particularidade é o sabor adocicado e a coloração branca, em virtude da ausência de pigmentos carotenóides.

Faria (1997), também destaca, que por apresentar altos teores de proteína, gordura e sólidos totais, vem despertando cada vez mais interesse de pequenas e médias agroindústrias do ramo, interessadas na fabricação de produtos diferenciados. Estes se destacam pela qualidade e, por isso é um mercado em franca expansão.

O consumo de leite "per capita" é de apenas 60 g/dia, quando a Organização Mundial da Saúde recomenda 400g/dia (CARVALHO; LOURENÇO JUNIOR, 2001). Esta situação reflete a necessidade de alternativas para exploração da pecuária leiteira no Norte do Brasil. Além do fato de na composição do leite estar presentes muitos nutrientes essenciais para a dieta humana, sua flora microbiana natural torna esse alimento um excelente meio para o crescimento de microrganismos, o que faz com que esse alimento seja de grande palatabilidade, necessitando de procedimentos tecnológicos adequados, capazes de garantir sua integridade e proteger sua capacidade como matéria-prima essencial para a produção de derivados (AMARAL et al., 2005; FREITAS, 2001; GONÇALVES; VIEIRA, 2002).

A qualidade microbiológica do leite de búfala está intimamente relacionada aos hábitos do animal e ao manejo de ordenha. Um fator de grande relevância é o comportamento do animal de imergir em água (TEIXEIRA et al., 2005) ou o hábito de chafurdar-se à procura de conforto térmico, que dificulta a higienização dos tetos da búfala.

As características microbiológicas do leite de búfalas são, relativamente, pouco conhecidas, principalmente quando comparadas as do leite bovino. É importante ressaltar que o leite bubalino *in natura* apresenta também alta palatabilidade e está sujeito às mesmas fontes de contaminação microbiana que podem existir na bovinocultura leiteira, principalmente na ordenha e no transporte do leite até a indústria de processamento. Algumas peculiaridades do comportamento das búfalas podem contribuir para aumentar significativamente a concentração

microbiana inicial do leite cru, como, a tendência natural em se banhar na água ou lama quando a água não está disponível, diminuindo assim a qualidade e a validade do produto, limitando seu emprego na indústria (CUNHA NETO, 2003). Em contrapartida, Mesquita *et al.* (2001) afirmam que o leite bubalino possui maior atividade antibacteriana do que o bovino, pelo fato de possuir mais lactoferrina, substância que mantém o ferro iônico fora do alcance das bactérias.

Outro fator importante é na desinfecção dos equipamentos e utensílios utilizados durante a ordenha, assim como, no armazenamento, resfriamento e transporte do leite (SOUZA *et al.*, 1995). Mas a proliferação microbiana será inevitável, a menos que o leite seja armazenado sob temperatura de congelamento. Embora o desenvolvimento microbiano seja lento na temperatura entre 0 a 5°C, ainda podem ocorrer mudanças indesejáveis, que dependem do tipo e da quantidade de microrganismo presente. Por outro lado, apesar dos tratamentos térmicos destruírem vários tipos de bactérias, suas enzimas permanecem ativas e podem originar modificações inconvenientes nos derivados (MACEDO *et al.*, 2001; SÁ, 2004; VIEIRA *et al.*, 1994).

E segundo VIEIRA *et al.*, (2004) , pode haver também a contaminação pelo próprio trabalhador rural, uma vez que estes podem negligenciar o hábito básico de lavar as mãos, tornando-se o principal veículo de contaminação do produto (VIEIRA *et al.*, 2004).

A qualidade microbiológica do leite e derivados é um termo muito amplo e genérico. Os principais microrganismos envolvidos com a contaminação do leite são bactéria, vírus e fungos (mofos e leveduras) (FONSECA & SANTOS, 2000).

A contagem de microrganismos mesófilos é maior no verão, Cunha Neto e Oliveira (2003) citam valores entre $5,0 \times 10^4$ a $1,3 \times 10^3$ UFC/ml no inverno, e $1,5 \times 10^5$ a $3,2 \times 10^7$ UFC/ml no verão. Mas no inverno pode ocorrer aumento do número de microrganismos no leite, em virtude do aumento das chuvas onde ocorre a formação de lama e somado ao hábito de chafurdar do bubalino há maior dificuldade da limpeza dos tetos, desta forma o cuidado com a higiene e limpeza durante o procedimento de ordenha deve ser rigoroso para que o leite mantenha a qualidade.

A Instrução Normativa 51(18/12/2002) (BRASIL, 2002) estabelece as condições higiênico-sanitárias que devem ser seguidas para a correta obtenção do leite para, posteriormente, ser consumido e/ou processado, e estabelece os conteúdos mínimos e máximos de microorganismos que este produto pode conter.

Do ponto de vista tecnológico, os microrganismos de maior importância são os que contaminam o leite durante e após a ordenha. Essa contaminação é variável, tanto qualitativa quanto quantitativa, em função das condições de higiene existentes (Froeder et al., 1985). E ao lado do aporte tecnológico, representado principalmente pela adoção de práticas higiênicas, implementação de mudanças na área tecnológica da produção, métodos adequados de conservação, e inovação na produção de derivados, as indústrias devem incorporar e tornar parte obrigatória o sistema de controle de qualidade (FREITAS, 2001; GONÇALVES; VIEIRA, 2002).

Contudo, a contaminação do leite por microrganismos indesejáveis pode causar alterações físico-químicas no mesmo, e, conseqüentemente de suas propriedades organolépticas, o que limita sua durabilidade e de seus derivados, ocasionando problemas econômicos e de saúde pública. Desse modo, a avaliação da qualidade do leite pode ser feita por meio da análise microbiológica (CITADIN, et al., 2009).

3 METODOLOGIA

As propriedades envolvidas na realização das coletas do leite localizam-se na Cidade de Parintins, Amazonas. Foram avaliadas 12 amostras de leite de búfala de 12 propriedades produtoras de leite cru, sendo que as mesmas correspondem ao período que os animais permanecem na várzea durante os meses de julho a dezembro e nos meses de janeiro a junho em terra firme. Em cada coleta a amostra foi referente à produção total da propriedade no dia da coleta.

Cada amostra de leite (volume de aproximadamente 100 mL) foi colhido em frasco esterilizado e transportado sob refrigeração (2 a 8°C), até o laboratório de microbiologia do Instituto de Ciências Sociais, Educação e Zootecnia onde foram processadas as análises.

Para determinação de coliformes totais e termotolerantes a técnica utilizada foi a fermentação em tubos múltiplos, com o cálculo do número mais provável de unidades formadoras de colônia segundo o que preconiza a legislação em vigor (BRASIL, 2003).

A princípio, foram aliqüotados 25 mL de leite da amostra refrigerada e adicionados a 225 mL de solução salina peptonada (NaCl 0,9%, Peptona 1,0%) sendo posteriormente diluída na proporção 1:10, e nas diluições seriadas 1:100 (ou 10^{-2}) e 1:1000 (ou 10^{-3}).

Para o teste de coliformes totais, foram inoculadas 1,0 ml de cada diluição em 9 tubos contendo 9,0 ml com caldo bile verde brilhante lactose 2% (CVB), com tempo de incubação de 24-48 horas, $36\pm 0,5^{\circ}\text{C}$. E para determinação de coliformes termotolerantes, as diluições foram inoculadas em caldo EC (*Escherichia coli*), incubados a $45\pm 0,2^{\circ}\text{C}$ por até 48 horas. A presença de coliformes totais e termotolerantes foram confirmadas pela formação de gás (mínimo 1/10 do volume total do tubo de Durhan) ou efervescência quando agitados gentilmente. Os resultados utilizados foram para o cálculo do número mais provável (NMP) de unidades formadoras de colônia por mL de leite (NMP/mL).

Para detecção de *Salmonella* sp. foi utilizada a metodologia descrita por Michael colaboradores (2003). As amostras a princípio, foram submetidas a stress térmico (4°C , 48 h), sendo adicionados em seguida água peptonada tamponada (37°C , 24 h). Posteriormente, 1,0 mL dessa suspensão foi inoculada em tubos contendo 9,0 mL dos meios seletivos Caldo Selenito-Cistina (SC) e Caldo Tetrionato Müller-Kauffmann (TMK). Os tubos foram incubados por 24 horas em diferentes temperaturas, sendo 37°C para os tubos contendo Caldo SC e 42°C para os tubos com Caldo TMK. Uma alíquota de 100 μL foi semeada em placas contendo Agar Rambach, Agar Xilose-Lisina-Tergitol 4 e Agar Sacarose-Lactose Vermelho-Fenol Verde-Brilhante (37°C , 24 h), onde, a avaliação realizou-se a cada 24 horas para a formação de colônias típicas de *Salmonella* sp.

Para o meio seletivo de fungos filamentosos e leveduras utilizou-se o Agar Batata Dextrose (BDA) com 2% de glicose, suplementado com cloranfenicol (40 µg/mL). Em cada placa foi adicionado 100 µL e espalhados com o auxílio da alça de Drigalski, onde foram incubadas a 25±1 °C por um prazo de 5-7 dias. Para a contagem das colônias foi efetuada de acordo com o que preconiza a legislação (BRASIL, 2003), sendo determinado o número de UFC/mL.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Apartir das 12 amostras analisadas, foi observado que todas apresentaram valores mesmo que mínimos de coliformes totais e termotolerantes, assim como de fungos e leveduras, não havendo crescimento em apenas uma das amostras para fungos e leveduras. E para *Salmonella*, esta não foi identificada em nenhuma das amostras, ou seja, 100% ausentes. Os resultados das análises microbiológicas podem ser observados na tabela 1.

Tabela 1. Resultados das análises microbiológicas do leite de búfala “in natura”

Amostra	Coliformes		<i>Salmonella</i>	Fungos e Leveduras (UFC/mL)
	Totais(NMP/mL)	Termotolerantes(NMP/mL)		
1	43	43	Ausente	304
2	210	1.100	Ausente	38
3	64	93	Ausente	39
4	7,4	3,6	Ausente	Ausente

5	240	460	Ausente	87
6	93	460	Ausente	103
7	1.100	240	Ausente	100
8	23	64	Ausente	37
9	38	15	Ausente	64
10	64	23	Ausente	37
11	93	150	Ausente	90
12	93	93	Ausente	110

Para coliformes totais e termotolerantes, as amostras 2, 5, 6 e 7 obtiveram maior contaminação em relação a amostras 1, 3, 4, 8, 10, 11, 12. Os resultados encontrados foram os seguintes valores, $4,3 \times 10^3$, $>1,1 \times 10^3$, $2,1 \times 10^2$, $2,4 \times 10^2$, $9,3 \times 10^1$, $9,3 \times 10^1$, $9,3 \times 10^1$, $6,4 \times 10^1$, $6,4 \times 10^1$, $3,8 \times 10^1$, $2,3 \times 10^1$, 7×10^1 para coliformes totais e $1,1 \times 10^3$, $4,6 \times 10^2$ e $4,6 \times 10^2$, $2,4 \times 10^2$, $1,5 \times 10^2$, $9,3 \times 10^1$, $9,3 \times 10^1$, 3×10^1 , $4,3 \times 10^1$, $6,4 \times 10^1$, $2,3 \times 10^1$, $1,5 \times 10^1$, para coliformes termotolerantes. Para Brito et al. (2002), a presença de coliformes são indicadores de contaminação do ambiente e das fezes, indicando a importância na contribuição da higiene durante a ordenha para a contagem bacteriana total do leite. Maciel et al. (2008) analisando amostras de leite cru obtidas em três pontos de venda no município de Itapetinga – BA verificaram resultados semelhantes e superiores aos encontrados no trabalho, onde todas as amostras estavam contaminadas com coliformes a 35°C e coliformes termotolerantes, de $1,5 \times 10^3$ a $2,4 \times 10^5$ e de $1,5 \times 10^3$ a $9,3 \times 10^3$ NMP/mL, respectivamente.

CITADIN et al (2009), por sua vez, também encontrou resultados semelhantes em análises de leite cru, sendo estes $1,50 \times 10^3$, $2,50 \times 10^2$, $6,00 \times 10^1$, $2,00 \times 10^2$ para coliformes totais e $4,50 \times 10^1$, $1,10 \times 10^2$, $4,50 \times 10^2$ para coliformes termotolerantes.

Não foi encontrada a presença de *Salmonella* sp. nas 12 amostras analisadas. Para a detecção destes microrganismos é necessário que o rebanho esteja doente ou que o homem que manipula o leite seja portador, ou ainda que se utilize água não potável no processamento (Pereira et al., 1999). Analisando a presença deste microrganismo, Figueiredo et al. (2010) também não detectaram *Salmonella* no leite de búfala em Belém e Ilha do Marajó-Pará.

Em relação à presença de leveduras e fungos, em geral são frequente, mesmo em quantidades mínimas, pois a contaminação por fungo é muito mais abrangente do que por bactérias, pois o simples fato de o leite ficar ao ar livre por alguns segundos já permite que o mesmo seja contaminado, uma vez que as leveduras e os bolores podem ser propagados de diversas formas, entre as quais, por esporos (Machado et al., 2012).

Os resultados encontrados no presente estudo, obtiveram maiores valores nas amostras 1, 6, 7, 11 e 12 sendo respectivamente $1,0 \times 10^4$, $3,4 \times 10^3$, $3,3 \times 10^3$, 3×10^3 e $3,6 \times 10^3$ UFC/mL. Ruz-Perez. (2005), analisando a presença de fungos e leveduras em amostras de leite cru encontrou valores superiores ao do trabalho, sendo estes de $92,5 \times 10^4$ e $127,8 \times 10^4$ UFC/mL. Citadin et al. (2009) por sua vez, encontrou resultados tanto inferior de $5,5 \times 10^1$ quanto superior de $1,2 \times 10^5$ UFC/mL nas amostras de leite, constatando-se que 64,51% das amostras apresentaram contagem de bolores e leveduras acima de 100 UFC/mL, o que indica higiene insatisfatória durante o processo de ordenha e deficiências do equipamento de ordenha.

Já nas amostras 2, 3, 4, 5, 8, 9, e 10 os resultados obtidos foram menores, sendo $1,2 \times 10^3$, $1,3 \times 10^3$, $1,2 \times 10^3$, $2,9 \times 10^3$, $2,1 \times 10^3$ e $1,2 \times 10^3$ UFC/mL respectivamente, sendo que na amostra 4 o crescimento de fungos e leveduras foi ausente. Em estudo semelhante, Figueiredo et al. (2010) encontrou resultados parecidos, sendo estes de $1,5 \times 10^3$ e $1,6 \times 10^3$. Por outro lado, Mutukumira et al. (1996) constataram contagens de leveduras e fungos filamentosos inferiores a 100 UFC/mL em sete das 10 amostras analisadas. E Desmaures et al. (1997), avaliaram 20 propriedades leiteiras, sendo de $6,9 \times 10^1$ UFC/mL de leite.

Sendo assim, deve-se atentar para a presença de fungos e leveduras no leite, pois, uma alta proliferação pode implicar em riscos potenciais à saúde humana.

5. CONCLUSÃO

De acordo com as análises microbiológicas realizadas, constatou-se que houve proliferação de coliformes totais e termotolerantes em 100% das amostras, onde a maioria se mostrou com valores inferiores as normas exigidas pela legislação. Assim também, as análises de fungos e leveduras apresentaram em sua maioria valores inferiores. Porém, em apenas uma das amostras o crescimento de fungos e leveduras se mostrou ausente, bem como, em nenhuma das amostras foi identificada a presença de *Salmonella*. Portanto, com base nos dados realizados, a maioria do leite das propriedades analisadas se encontra em condições boa para o consumo, de acordo com a legislação. Mesmo assim, ainda é necessário o cuidado com a limpeza do ambiente e a realização de uma boa prática de ordenha higiênica para garantir um leite de boa qualidade.

6. AGRADECIMENTOS

Primeiramente á **Deus** que guiou meus passos em mais uma etapa da vida. Aos meus **Pais** que me deram apoio incondicional. Ao professor Msc.Elton Augusto Lehmkuhl pela orientação oportuna profissional, amizade e pelo bom convívio e a sua esposa professora Msc.Ângela Maria da Silva Lehmkuhl. Á cada um dos meus amigos e colegas que de alguma forma me ajudaram na realização desse projeto. E á Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas (FAPEAM) pelo apoio financeiro para que o projeto em questão fosse realizado.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMARAL, F. R.; CARVALHO, L. B.; SILVA, N. et al. Qualidade do leite de búfalas: composição. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.29, p.106-110, 2005.

ANUALPEC: **anúário da pecuária brasileira**. São Paulo: FNP Consultoria e Comércio, 2009. 304 p.

BERNARDES, O. **Os Búfalos no Brasil**. In: II SIMPÓSIO DE BÚFALO DE LAS AMÉRICAS E, II SIMPÓSIO EUROPA-AMERICA, 2006, Medellín, **Proceedings...**, Medellín/Colombia; v.3, p.18-23, CD ROM, 2006.

BRASIL. Ministério Da Agricultura, Pecuária E Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária (DISPOA). Instrução Normativa nº 62, de 26 de agosto de 2003. **Oficializa os Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água**. Diário Oficial da União, Brasília, 26 de agosto de 2003. Seção 1.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal. Instrução Normativa nº 51, de 18 de setembro de 2002. **Aprova e oficializa o Regulamento Técnico de identidade e qualidade de leite pasteurizado tipo C refrigerado**. **Diário Oficial da União**, Brasília, 20 de setembro de 2002. Seção 1.

BRITO, M.A.V.P.; BRITO J.R.F.; PORTUGAL J.A.B. Identificação de contaminantes bacterianos no leite cru de tanques de refrigeração. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v.57, p.47-52, 2002.

CARVALHO, L. O. D. M.; LOURENÇO JUNIOR, J. B. Produção leiteira de bubalinos como opção para a Amazonia. In: SEMINARIO DE ZOOTECNIA DA FACULDADE DE CIENCIAS AGRARIAS DO PARA, 1., 2001, Belem. Producao leiteira na Amazonia: desafios e novas perspectivas. Belem : FCAP, 2001. p.61-69.

CITADIN, A. S.; POZZA, M. S. S.; POZZA, P. C.; NUNES, R. V.; BORSATTI, L.; MANGONI, J. **Qualidade microbiológica de leite cru refrigerado e fatores associados.** Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal, v.10, n.1, p.52-59, 2009.

COCKRILL, R. **The husbandry and health of the domestic buffalo.** Rome: Ed. Food and Agriculture Organization of the United Nations, 1974.

CUNHA NETO, O. C.; OLIVEIRA, C. A. F. Aspectos da qualidade microbiológica do leite de búfala. **Higiene Alimentar**, v. 17, n. 110, p. 18-23, 2003.

CUNHA NETO, O. C. Avaliação físico-química e sensorial do iogurte natural produzido com leite de búfala contendo diferentes níveis de gordura. **Dissertação de Mestrado.** 71p. Universidade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos de São Paulo. Pirassununga. 2003.

DALMÉ, M.C.F. O búfalo na pequena propriedade. **Embrapa Clima Temperado**, Pelotas, 09 jan. 2007. Disponível em: <<http://www.portaldoagronegocio.com.br>>. Acesso em: 22 abr. 2007.

DESMASURES, N.; OPPORTUNE, W.; GUEGUEN, M. *Lactococcus* spp., yeasts and *Pseudomonas* spp. on teats and udders of milking cows as potential sources of milk contamination. **International Dairy Journal**, v.7, p.643- 646, 1997.

FAOSTAT data. [2005]. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/faostat/servlet>>. Acesso em: 20/4/2013.

FARIA, M.H. de **Produção de leite e seus constituintes em diferentes grupos 27 genéticos nos bubalinos (*Bubalus bubalis*).** Jaboticabal, SP: Universidade Estadual Paulista. ,1997. 75p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia)-Universidade Estadual Paulista. 29 Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 1997.

FIGUEIREDO, E. L. JUNIOR, J.B.L. TORO, M. J.U. **Caracterização físico-química e microbiológica do leite de búfala “in natura” produzido no estado do Pará.** Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial., v.04, n.01, p. 19-18, 2010.

FRANCIA, A. DI; MASUCCI, F.; SERRACAPRIOLA, M.T.M. DI; GIOFFRE, F.; PROTO, V. Nutritional factors influencing milk urea in buffaloes. **Italian Journal of AnimalScience**, v. 2, n. 1, p. 225-7, 2003.

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

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

GONÇALVES, C.A., VIEIRA, L.C. **Obtenção e higienização do leite in natura.** Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Embrapa Amazônia Oriental, Belém: Documento 141. 2002. 28p.

LOPES, C. R. A. BARBOSA, S. B. P; PEREIRA, R. G. A.;SANTORO, K. R.; LIRAS, A. V. **Eficiência reprodutiva e influência de fatores de meio e de herança sobre a variação no peso ao nascer de bubalinos no estado de Rondônia.** R. Bras. Zootec., v.37, n.9, p.1595-1600, 2008.

LUGO, N. A. H. **Interação Genótipo-Ambiente para a Produção de Leite em Bubalinos no Brasil e na Colômbia.** Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2009.

MACEDO, M. P., WECHSLER, F. S., RAMOS, A. A., AMARAL, J. B, SOUZA, J. C., RESENDE, F. D., OLIVEIRA, J. V. Composição físico-química e produção do leite de búfalas da raça Mediterrâneo no Oeste do Estado de São Paulo. **Revista Brasileira de Zootecnia.** Viçosa. v. 30, n. 3. sup. 1, mai. 2001.

MACIEL, J.F.; CARVALHO, E.A.; SANTOS, L.S.; ARAUJO, J.B.; NUNES, V.S. Qualidade microbiológica do leite cru comercializado em Itapetinga. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.9, n.3, p.443-448, 2008.

MACHADO, N. J. B. LAUREANO, M. M. M. MOTA, D. A. MATOS, I. T. S. R. BRASIL, R. J. M. HOSHIBA, M. A. **Caracterização da qualidade microbiológica do leite cru de propriedades do município Parintins-AM. Revista de Ciências Agrárias.**, v. 55, n. 4, p. 327-331, 2010.

MELVILLE, P. A.; RUZ-PERES, M.; YOKOIA, E.; BENITES, N. R. **Ocorrência de fungos em leite cru proveniente de tanques de refrigeração e latões de propriedades leiteiras, bem como de leite comercializado diretamente ao consumidor.** Arquivos do Instituto Biológico, v. 73, n. 3, p. 295-301, 2006.

MESQUITA, A. J.; TANEZINI, C. A.; FONTES, I. F.; PONTES, I. S.; ROCHA, J. de M.; SOUZA, J. T.; D'ALESSANDRO, W. T. **Qualidade físico-química e microbiológica do leite cru bubalino.** Goiânia: UFGO, 2001. 77 p. 2001

MICHAEL, G. B.; SIMONETI, R.; COSTA, M.; CARDOSO, M. **Comparison of different selective enrichment steps to isolate *Salmonella sp.* from feces of finishing swine.** *Brazilian Journal of Microbiology*, v. 34, n. 2, p. 138 – 142, 2003.

MUTUKUMIRA, A.N.; FERESU, S.B.; ABRAHANSEN, R.K. Chemical and microbiological quality of raw milk produced by smallholder farmers in Zimbabwe. **Journal of Food Protection**, v.59, n.9, p.984-987, 1996.

PARDO, R. B. **Conteúdo celular do leite bubalino proveniente de quartos mamários sadios e portadores de mastite.** Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2007.

PEREIRA, M. L.; GASTELOIS, M. C. A.; BASTOS, E. M. A. F.; CAIAFFA, W. T.; FALEIRO, E. S. C. **Enumeração de coliformes fecais e presença de *Salmonella sp.* em queijo Minas.** Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia. v. 51, 1999^a, p. 427-431.

RUZ-PERES, M. **Avaliação da presença de fungos em amostra de leite cru e estudo da susceptibilidade destes microrganismos as relações temperatura/tempo empregadas nos processos de pasteurização e fervura.** Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-graduação em Epidemiologia Experimental Aplicadas às Zoonoses da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo. 2005.

SÁ, E. Análises realizadas para o controle da qualidade de leite in natura de acordo com os parâmetros legais. **Revista Leite & Derivados**, ano XIV, n. 81, p. 67-72. 2004.

SALIMEI, E.; MAGLIERI, C.; SIMONI, A.; CAPPUCCIO, A. Feeding installation for total mixed ration: effects on buffalo milk yield and composition. **Italian Journal of AnimalScience**, v. 4, n. 2, p. 322, 2005

SOUZA, M. R.; RODRIGUES, R.; FONSECA, L. M.; CERQUEIRA, M. M. O. P. Pasteurização do leite. **Caderno Técnico da Escola de Veterinária UFMG**, n. 13, p.85-93, 1995.

TAMANINI, R.; SILVA, L. C. C.; MONTEIRO, A. A.; MAGNANI, D. F.; BARROS, M. A. F.; BELOTI, V. **Avaliação da qualidade microbiológica e dos parâmetros enzimáticos da pasteurização de leite tipo "C" produzido na região norte do Paraná**. Semina: Ciências Agrárias, v. 28, n. 3, p. 449-454, 2007.

TEIXEIRA, L. V.; et al. Leite de Búfala na Indústria de Produtos Lácteos. **Rev. Bras. Reprod. Anim.**, Belo Horizonte, MG, v. 29, n. 2, p. 96-100, abril/jun 2005. Disponível em <http://www.cbra.org.br>.

TZANKOVA, M.; PETROVA, N. Production and composition of milk from three breeds of buffaloes in Shoumen Region. **Bulgarian Journal of Agricultural Science**, v. 6, n. 1, p. 103-6, 2000.

VIANNI, M.C.E.; LÁZARO, N.S.; SANTANA, D.M.N.; AFONSO, J.A.B.; MENDONCA, C.L. Qualidade microbiológica do leite "in natura" de rebanhos bubalinos do Estado do Rio de Janeiro. **Higiene Alimentar**, v, 14, n. 70, p :69-72, mar. 2000.

VIEIRA, L. C.; VEIGA, J. B.; FREITAS, C. M. K. H. **Qualidade do leite nas propriedades do município de Uruará, Pará**. Comunicado Técnico 69, EMBRAPA, Belém, 2004.

VIEIRA, L. C., LOURENÇO JUNIOR, J. B., HUHN, S., BATISTA, H. A. M., HANTANI, A. K. Microbiology of buffalo milk under different hygienic conditions. In: WORLD BUFFALO CONGRESS, 4, 1994, São Paulo. **Anais**. São Paulo: ABCB/IBF/FAO/FINEP, v. 2, p.174-176, 1994.

VERRUMA, M.R.; SALGADO J.M. Análise química do leite de búfala em comparação ao leite de vaca. **Sci. Agric.**, v.51,p.131-137, 1994.

8. CRONOGRAMA DE ATIVIDADE (ATIVIDADES EXECUTADAS)

	Ago 2013	Set	Out	Nov	Dez	Jan 2014	Fev	Mar	Abr	Mai	Jun	Jul
Revisão de literatura	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	
Coleta das amostras				x	x	x	x	x	x	x		
Análise do material				x	x	x	x	x	x	x		
Tabulação e análise dos resultados				x	x	x	x	x	x	x		
Elaboração do relatório parcial					x	x						
- Elaboração do Resumo e Relatório Final (atividade obrigatória)											x	x
- Preparação da Apresentação Final para o Congresso (atividade obrigatória)											x	x

