

Comparação entre o CMP, a contagem de psicotróficos e o tempo de rota de leite cru refrigerado

Correlation between CMP, psychotrophics counting and route time of chilled raw milk

Michelly Alves CORREA [1](#); Karyne Oliveira COELHO [2](#); Fernanda Rodrigues Taveira ROCHA [3](#); Aracele Pinheiro Pales dos SANTOS [4](#); Claudia Peixoto BUENO [5](#); Rodrigo Balduino Soares NEVES [6](#)

Recibido: 29/11/16 • Aprobado: 12/12/2016

Conteúdo

- [1. Introdução](#)
 - [2. Material e métodos](#)
 - [3. Resultados e discussão](#)
 - [4. Conclusão](#)
- [Referências](#)

RESUMO:

Objetivou-se avaliar a ocorrência de amostras de leite cru refrigerado, positivas para caseinomacropéptido (CMP) e comparar à contagem de microrganismos psicotróficos e ao tempo de transporte do leite (menor ou superior a 24h). Foram analisadas 88 amostras de leite cru refrigerado, de caminhões isotérmicos. A correlação entre o CMP e a contagem de microrganismos psicotróficos foi de 0,11. Observou-se um aumento do teor de CMP ao longo do tempo de rota de captação do leite, no entanto, não foi observada correlação entre a contagem de microrganismos psicotróficos e a presença de CMP.

Palavras-chaves: Armazenamento. Fraude. Leite. Proteolíticas. Soro.

ABSTRACT:

The objective of this study is to evaluate the occurrence of positive results for caseinomacropéptide in chilled raw milk and correlate it to psychophilic microorganism and transport time of the milk. This study analyzed 88 samples of chilled raw milk in an isothermal truck from 30 milk collection routes. The correlation between caseinomacropéptide and psychotrophic count was 0,11 while for the route time was 0.71. Therefore, it is observed that an increased level of caseinomacropéptide along the milk collection time route. However, there was no significant correlation between psychotrophic bacteria count and caseinomacropéptide content.

Keywords: Fraud. Milk. Proteolytic. Storage. Whey.

1. Introdução

A adulteração de leite e produtos lácteos por adição de soro de queijo tem sido alvo de pesquisas (Prata e Prata, 2012; Lobato, 2014, Motta et al., 2014). O Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) estabelece que o soro não pode ser adicionado ao leite cru,

pasteurizado, esterilizado ou em pó (Brasil, 2006a). Porém devido à disponibilidade e baixo custo do soro de queijo, a adição deste torna uma alternativa economicamente atraente, prejudicando os consumidores e a indústria laticinista que cumpre a lei (Carvalho et al., 2015).

A legislação brasileira utiliza como critério para a avaliação de qualidade do leite quanto à presença de soro, a determinação quantitativa do caseinomacropéptido (CMP) e considera inadequado ao consumo humano o leite com concentração de CMP superiores a 75 mg/L (Brasil, 2006a; Brasil, 2006b). O MAPA estabeleceu na portaria nº 124, de 23 de setembro de 1991 dois métodos oficiais para detecção de soro no leite, sendo um qualitativo e o outro quantitativo. O primeiro procedimento é realizado utilizando o reativo de Ehrlich para a determinação do ácido siálico, enquanto, o método quantitativo detecta e quantifica o CMP, por meio da cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) (Brasil, 1991).

Em caso de fraude por adição de soro de queijo ao leite, os índices de CMP se apresentam aumentados, por ser este resultante da hidrólise da k-caseína na etapa de coagulação enzimática do processo de fabricação de queijo (Oliveira et al., 2009). A ação de proteases produzidas por microrganismos psicrótrópicos proteolíticos pode interferir na determinação do CMP; estes microrganismos também atuam hidrolisando a k-caseína liberando para o leite diversos peptídeos semelhantes ao CMP, o que pode comprometer a identificação daquele proveniente da fraude, determinando um resultado "falso positivo" (Amorim, 2007, Santos et al., 2009).

Problemas associados à produção, qualidade da matéria prima, processamento tecnológico e outros, ao longo da cadeia produtiva do leite tem eventualmente prejudicado a exatidão, precisão, sensibilidade ou a especificidade dos métodos analíticos, consistindo ainda um desafio a ser vencido. Closs e Sousa (2010) e Friedrichi et al., (2010) destacaram que o tempo de armazenamento e a temperatura da amostra podem influenciar no resultado final da pesquisa de CMP.

Objetivou-se com a realização deste trabalho, avaliar a frequência de amostras de leite cru refrigerado, positivas para CMP, comparando-as a contagem de microrganismos psicrótrópicos e ao tempo de rota de captação do leite.

2. Material e métodos

O presente trabalho foi desenvolvido em parceria com uma indústria de laticínio do Estado de Goiás, submetida à inspeção sanitária permanente, por meio do Serviço de Inspeção Federal (SIF). Foram coletadas 88 amostras de forma aleatória, de leite cru refrigerado, de caminhões isotérmicos, proveniente de 30 rotas de captação de leite de 18 municípios do Oeste Goiano. No momento de coleta, foi observado o tempo de rota de captação do leite, que foi anotado em planilhas específicas; separaram-se os tempos em menor que 24h e maior ou igual à 24h.

As amostras coletadas foram submetidas, imediatamente após a chegada à unidade processadora para realização da análise de determinação do CMP e a contagem de microrganismos psicrótrópicos aeróbios estritos facultativos viáveis. O método utilizado para realizar a análise de CMP foi a determinação espectrofotométrica, que utiliza a ninidrina ácida, oficializada através da Instrução Normativa nº 22 (Brasil, 2003). Para a análise de microrganismos psicrótrópicos utilizou-se o método de contagem em placa de *Petri* preconizados pelo Manual do Laboratório Nacional de Referência Animal – LANARA (Brasil, 1981).

3. Resultados e discussão

O percentual de amostras de leite cru refrigerado em não conformidade foi de 68,2% (≥ 30 a < 75) conforme pode ser visualizado na Tabela 1.

Tabela 1 – Percentual de amostras de leite cru refrigerado de acordo com os padrões de CMP

Quantidade de CMP (mg/L)	Número de	Percentual (%)
--------------------------	-----------	----------------

	amostras	
<30	28	31,8
≥30 a <75	60	68,2
≥75	0	0

Observa-se na Tabela 1 que 68,2% das amostras analisadas 60/88 apresentaram-se com índices superiores ao preconizado por Brasil (2006a), ou seja, somente quando o índice de CMP for de até 30 mg/L o leite poderá ser destinado ao abastecimento direto. Caso o índice de CMP apresente entre 30 e 75 mg/L de leite este poderá ser destinado à produção de derivados lácteos, superior a 75 mg/L poderá ser destinado à alimentação animal, à indústria química em geral ou a outro destino a ser avaliado pelo Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal. Os resultados expressos na Tabela 1 indicam que existe uma considerável não conformidade do produto, o que pode prejudicar o consumidor final e a Legislação brasileira não permite estes valores de CMP para o abastecimento direto, pois determinam um produto adulterado ou de má qualidade, devido à sua alta atividade proteolítica.

Na Figura 1, observa-se a ocorrência de correlação fraca de $r=0,11$ entre resultados de CMP e a contagem de microrganismos psicotróficos.

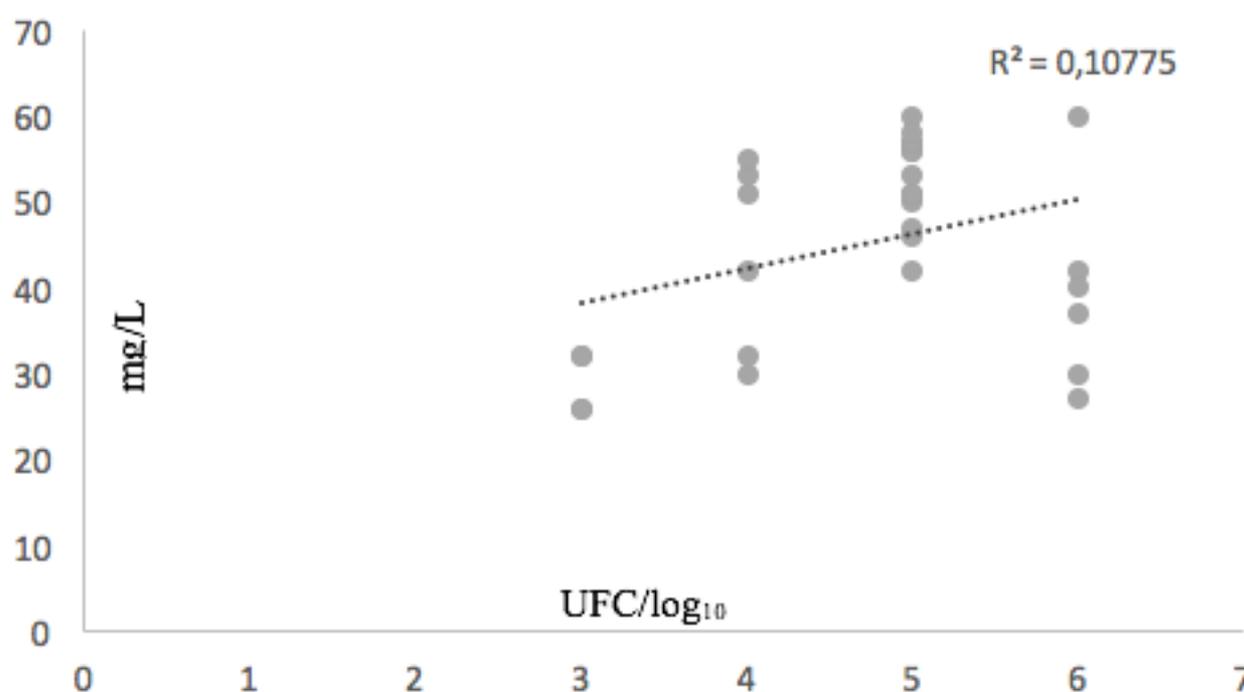


Figura 1 – Correlação entre a determinação do CMP (mg/L) e a contagem de psicotróficos (UFC/log₁₀) em leite cru refrigerado

A contagem média de microrganismos psicótróficos obtida foi de $4,0 \times 10^5$ UFC/mL-1. Ressalta-se que não existe legislação específica para este parâmetro no Brasil. No entanto, Pinto et al. (2006) relataram que contagens de até 5×10^5 UFC.mL-1 não são suficientes para promover alterações significativas no leite e em seus derivados. Os resultados obtidos são análogos aos determinados por Casarotti et al. (2009) que avaliaram amostras de leite e verificaram que 94,7% apresentavam contagens $\geq 10^5$ UFC.mL-1, porém são inferiores aos observados por Menezes et al., (2015) $26,4 \times 10^6$ UFC.mL-1 que avaliaram leite cru refrigerado na bacia leiteira de Minas Gerais.

Acredita-se que a baixa correlação entre a contagem de microrganismos psicotróficos e o CMP ($r=0,11$) pode ser devida a contagem obtida ou ao tipo prevalente de microrganismos nas amostras de leite cru refrigerado, colhidas e analisadas no presente experimento, de modo a ter essa quantidade menor de bactérias psicotróficas com capacidade proteolíticas; outro fator

que pode ser mencionado é a má qualidade tanto da energia elétrica disponível em grande parte das propriedades rurais como de várias marcas de tanques resfriadores de leite comercializados no país, o que leva ao resfriamento marginal do leite. Amorim (2007) verificou correlação significativa entre a contagem de bactérias psicrotróficas aeróbias e a concentração de soro em amostras de leite cru refrigerado em tanques de expansão, resultado também verificado por Santos et al., (2009).

As análises de CMP que apresentaram resultados superiores a 30mg/L, ficaram em média com concentração de ≤ 50 mg/L, o que sugere que as mesmas não foram fraudadas, pois geralmente em casos de fraudes, conforme descrito por Oliveira et al., (2009), que fizeram o teste controlado, com adição de soro em leite genuíno, em percentual de 5 a 30%, e observaram valores mínimo de CMP de 100 mg/L e máximo de 541,2 mg/L.

Observou-se ainda que das 30 rotas avaliadas, as que possuíam tempo de captação do leite, superiores a 24 horas de transporte, apresentaram resultados de CMP em desacordo com os padrões (entre 30 mg.L-1 e 75 mg.L-1.) e foram significativamente diferentes ($p < 0,05$) das rotas com tempo inferior a 24h, conforme pode ser visualizado na Tabela 2.

Tabela 2 – Resultado médio de CMP de acordo com o tempo de rota (captação) de leite cru refrigerado

Tempo de rota	Resultado Médio de CMP (mg.L-1)
< 24 horas	19a
≥ 24 horas	53b

Médias com letras diferentes são diferentes estatisticamente ($p < 0,05$) ao Teste T

Essa formação mais expressiva de CMP no leite com o tempo igual ou superior a 24 horas pode estar relacionada à ação das enzimas proteolíticas, no entanto, observa-se a baixa contagem de microrganismos psicrotróficos, considerando tal aspecto, pode se pensar em questão mecânica, considerando o transporte e agitação do leite.

Friedrich et al. (2010) afirmaram que o leite fresco apresenta um baixo índice de CMP, o qual tende a aumentar com o tempo de armazenamento e transporte, devido à ação proteolítica do próprio leite.

Uma alternativa que pode ser utilizada para preservar as amostras é citada por Villanoeva et al., (2014) que destacaram que o congelamento (-12°C) pode retardar a ação proteolítica, e que a amostra é preservada e fica viável para análise até 30 dias após a coleta, tal procedimento não foi utilizado no presente experimento, mas torna-se oportuno ressaltar tal alternativa, para que não ocorra resultados falso positivos nas avaliações de controle realizadas pelas indústrias do país.

Closs e Souza (2011) analisaram amostras de leite UAT de diferentes procedências e tempo de armazenamento e verificou que o teor de CMP aumenta com o tempo de armazenamento e que em um mês já foi suficiente para ultrapassar o limite de 30 mg.L-1. Diante dos resultados encontrados e os contidos na literatura, torna-se essencial que seja feita uma análise do resultado obtido considerando a forma de obtenção e o tempo de manutenção das amostras para que se consiga um resultado fidedigno.

4. Conclusão

Não foi observada relação entre a contagem de microrganismos de psicrotróficos e o índice CMP; no entanto, houve um aumento proporcional da concentração de CMP de acordo com o tempo de rota ou captação do leite.

Referências

- Amorim, Henrique Esteves. (2007) Influência do tempo de estocagem de leite cru refrigerado sobre a pesquisa de CMP (caseinomacropeptídeo). 2007. 57f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos)- Escola de Agronomia e Engenharia de alimentos, Universidade Federal de Goiás, Goiânia/GO.
- Brasil. (1981) Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Laboratório Nacional de Referência Animal. Métodos analíticos oficiais para o controle de produtos de origem animal e seus ingredientes: Métodos físicos e químicos. v. 2, Brasília.
- Brasil. (1991). Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Portaria n. 124, 23 set. 1991. Aprova métodos analíticos qualitativo e quantitativo de detecção de soro em leite. Diário Oficial da União, 20 nov. 1991, 26245-6.
- Brasil. (2002) 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, do Leite tipo B, do Leite tipo C, do Leite Pasteurizado e do Leite Cru Refrigerado e o Regulamento Técnico da Coleta de Leite Cru Refrigerado e seu Transporte a Granel. Diário Oficial da União. Brasília, DF.
- Brasil. (2006a). Instrução Normativa nº68, de 12 de dez. 2006. Oficializa os Métodos Analíticos Oficiais Físico-Químicos, para o Controle de Leite e Produtos Lácteos, determinando que sejam utilizados nos Laboratórios Nacionais Agropecuários. Diário Oficial da União, Brasília, 14 dez. Seção 1, 8.
- Brasil. (2006b) Instrução Normativa nº69, de 13 de dez. 2006. Institui Critério de Avaliação da Qualidade do Leite in natura, Concentrado e em Pó, Reconstituídos, com base no Método Analítico Oficial Físico-Químico denominado "Índice CMP", de que trata a Instrução Normativa nº68, de 12 de dezembro de 2006. Diário Oficial da União, Brasília, 15 dez. Seção 1, 67.
- Brasil. (2011) Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal. Instrução Normativa nº62, de 29 de dezembro de 2011. Aprovar o Regulamento Técnico de Produção, Identidade e Qualidade do Leite tipo A, o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite Cru Refrigerado, o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite Pasteurizado e o Regulamento Técnico da Coleta de Leite Cru Refrigerado e seu Transporte a Granel, em conformidade com os Anexos desta Instrução Normativa. Diário Oficial da União, Brasília.
- Casarotti, Sabrina; Paula, Aline; Grandi, Aline; Rossi, Daise. (2009). Enumeração de bactérias psicrófilas em leite cru bovino com a utilização da metodologia tradicional e do sistema compact dry®. Revista do Instituto de Laticínios "Cândido Tostes", v. 369, n. 64, 19-25.
- Carvalho, Bruna Mara Aparecida; Carvalho, Lorendane Millena; Coimbra, Jane Sélia dos Reis; Minim, Luis Antonio; Barcellos, Edilton de Souza, Junior Silva, Willer Ferreira; Detman, Edenio. Rapid detection of whey in milk powder samples by spectrophotometric and multivariate calibration, Food Chemistry, v. 174, 1-7.
- Friedrich, Maria Tereza; Franken, Rafaela Barbosa Carvalho; Azevedo, Mônia Stremel; Presta, Michele Antoniuk; Agnol, Carine Dall* (2010). Avaliação da estabilidade do leite in natura e UAT quanto ao índice de CMP. Revista de Ciências Exatas Aplicadas e Tecnológicas, v. 2, n. 1, 21-27.
- Lobato, Paula Rita (2014). Pesquisa da adição de soro de queijo ao leite pasteurizado comercializado em minas gerais: determinação de CMP por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) e comparação dos métodos imunoquímicos (STICK cGMP e BRW ELISA). 2014. 41f. Dissertação (Mestre em Ciência Animal) - Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte/MG.
- Menezes, Isabela Rocha; Almeida, Anna Christina de; Morão, Rodrigo Pereira; Reis, Soraya, Vanely. Santos, Claudinei Alves; Lopes, Isabella Luiza Nascimento. Qualidade microbiológica do leite cru produzido no Norte de Minas Gerais. Revista Brasileira de Ciência Veterinária, v. 22, n.

1, 58-63.

Motta, T M C; Andrade, R B S, Lorenzini, D M; Meneghini, L Z; Pizzolato, T M (2014). Detection and confirmation of milk adulteration with cheese whey using proteomic-like sample preparation and liquid chromatography–electrospray-tandem mass spectrometry analysis. *Talanta*, v. 120, 498–505.

Oliveira, Gislene Bremer; Souto, Maria Dutra do; Valadão, Rômulo Cardoso Gatti; Martins, José Francisco Pereira; Luchese, Rosa Helena (2009). Detecção da adição fraudulenta de soro de queijo em leite: interferência da atividade de proteases. *Revista do Instituto de Laticínios “Cândido Tostes”*, v. 64, n. 367/368, 56-65.

Prata, Luis Francisco; Prata, Camila Barbieri. (2012). Determinação de GMP e CMP no leite por métodos espectrofotométrico (ANSM) e cromatográfico (HPLC) – parâmetros metodológicos. *Acta Veterinaria Brasilica*, v. 17, n. 2, 29-39.

Pinto, Cláudia Lúcia de Oliveira; Martins, Maurílio Lopes; Vanetti, Maria Cristina Dantas (2006). Qualidade microbiológica de leite cru refrigerado e isolamento de bactérias psicotróficas proteolíticas. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 26, n. 3, 645-651.

1. Zootecnista. Especialista em Segurança de Alimentos/SENAC/GO. e-mail: michellyzootec@yahoo.com.br

2. Professora Doutora da Universidade Estadual de Goiás – Campus São Luís de Montes Belos. Bolsista *Probip/UEG*. Brasil, e-mail: kocoelho@yahoo.com.br

3. Professora Doutora da Universidade Estadual de Goiás – Campus São Luís de Montes Belos. Brasil, e-mail: fernanda.rocha@ueg.br

4. Professora Doutora da Universidade Estadual de Goiás – Campus São Luís de Montes Belos. Bolsista *Probip/UEG*. Brasil, e-mail: aracele.pales@ueg.br

5. Professora Doutora da Universidade Estadual de Goiás – Campus São Luís de Montes Belos. Brasil, e-mail: vetcpb@gmail.com

6. Professor Doutor da Universidade Estadual de Goiás – Campus São Luís de Montes Belos. Brasil, e-mail: nevesrbs@gmail.com

Revista ESPACIOS. ISSN 0798 1015
Vol. 38 (Nº 24) Año 2017

[Índice]

[En caso de encontrar algún error en este website favor enviar email a webmaster]

©2017. revistaESPACIOS.com • Derechos Reservados