Aspectos microbiológicos de leite de transição bovino fermentado conforme tempo de fermentação

Fernanda Antunes Martins[1]; Ingrid Caroline da Silva[2]; Gabrielle Marcondes[3]; Alana Cristine de Sousa[4]; Valquiria Nanuncio Chochel[5]; Bianca Letícia Barbosa[6]; Luciana da Silva Leal Karolewski[7]; Ester Moura Rios[8]

[1]Universidade Estadual de Ponta Grossa-UEPG. E-mail: fernandaantunesmartins@outlook.com; [2]Zootecnista. E-mail: ingrid_caroline95@hotmail.com; [3]Universidade Estadual de Ponta Grossa-UEPG. E-mail: gabriellemarcondes1996@gmail.com; [4]Universidade Estadual de Ponta Grossa-UEPG. E-mail:cristine.lanasousa@gmail.com; [5]Bióloga e Mestre em Gestão do Território-UEPG. E-mail: vmnanuncio@uepg.br; [6]Zootecnista. E-mail: bialet_barbosa@hotmail.com; [7]Médica Veterinária, Docente do Curso de Zootecnia-UEPG. E-mail:lu_s_leal@yahoo.com.br; [8]Engenheira Agrônoma, Docente do Curso de Biologia-UEPG. E-mail:estermourarios@yahoo.com.br

Resumo

O uso do leite de transição fermentado é uma alternativa para reduzir os custos de produção de bezerras, pois não carece de investimentos em refrigeração para a conservação do alimento, visto que o processo fermentativo pode manter o leite adequado para o consumo. O objetivo do trabalho foi quantificar os principais grupos microbianos e identificar as principais colônias em oito amostras de leite de transição *in* natura e aos 21, 30 e 60 dias de fermentação. Foram utilizadas diluições seriadas das amostras e inoculação em meios de cultura enriquecidos e seletivos. Após incubação e quantificação procederam-se à caracterização morfotintorial e bioquímica. Os micro-organismos patogênicos reduziram, enquanto que as bactérias ácido-láticas (BAL) aumentaram significativamente. Estas são importantes porque ao fermentarem a lactose, produzem o ácido lático, responsável pela redução do pH e inibição do crescimento de micro-organismos patogênicos, mas enterobactérias, leveduras e estafilococos ácido-tolerantes viáveis foram detectados aos 21 e aos 30 dias de fermentação. Portanto, o leite de transição fermentado por 60 dias pode ser utilizado como sucedâneo em bezerros, pois reduz a população de patógenos e mantêm viáveis as bactérias láticas, importantes agentes probióticos.

Palavras-chave: Aleitamento; Anaerobiose; Bezerras; Microbiologia.

1. Introdução

Após o parto a vaca produz o colostro, que é a primeira secreção da glândula mamária, sendo rico em proteínas, imunoglobulinas, minerais, vitaminas, sólidos totais e cinzas (ANDRADE; ANSELMI; MENDES, 2010). Nas próximas ordenhas o colostro passa a ser denominado leite de transição e a partir da 7ª ou 8ª ordenha se obtém o leite (SANTOS et al., 2002).

Segundo Saalfeld et al. (2013) o colostro é uma ótima opção como susbstituto do leite na alimentação de bezerras, pois ele apresenta características nutricionais e imunológicas superiores ao leite, além de não representar custo ao produtor. O colostro excedente não é comercializado, assim técnicas de armazenamento vêm sendo estudadas há muitos anos e uma delas é a fermentação obtida com o armazenamento de forma anaeróbica (AZEVEDO; DUARTE, 2013).

A contaminação por micro-organismos na alimentação de bezerros pode reduzir o desempenho animal e aumentar as taxas de morbidade e mortalidade (SANTOS et al., 2017).

Deste modo, o presente estudo objetivou quantificar os principais grupos microbianos e identificar as colônias microbianas prevalentes presentes no leite de transição *in* natura e fermentado por até 60 dias.

2. Material e Métodos

O experimento foi realizado na Fazenda Escola "Capão da Onça", localizada em Ponta Grossa/PR no período de junho de 2017 a junho de 2018. Foram utilizados os leites de transição de oito vacas leiteiras, obtidos assepticamente entre o 1º e o 3º dia pós-parto e armazenados em garrafas plásticas PET de 500 mL, previamente higienizadas com detergente neutro, enxaguadas com água quente e secadas naturalmente. O líquido preencheu completamente o volume da garrafa, para não ocorrer o acúmulo de ar e consequentemente proporcionar um ambiente anaeróbico. As garrafas foram armazenadas em local escuro, à temperatura ambiente.

As amostras do leite de transição *in* natura foram mantidas refrigeradas até o momento da análise. O leite de transição foi analisado *in* natura (D0) e nos dias 21 (D21), 30 (D30) e 60 (D60) após o envase, totalizando oito repetições em quatro momentos diferentes. As análises microbiológicas foram realizadas no Laboratório de Anatomia e Reprodução Animal, Departamento de Zootecnia, na Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa – PR.

Para as análises microbiológicas, as amostras diluidas em série foram inoculadas nos seguintes meios de cultura: MRSA (bacterias láticas), ágar sangue (bactérias totais), ágar fungo acrescido de enrofloxacina (fungos e leveduras), ágar macconkey (enterobactérias), ágar cetrimide (*Pseudomonas*) e ágar manitol (estafilococos). Após incubação a 35ºC por 24 a 48 h para bactérias e 25ºC por 5 dias para fungos e leveduras, procedeu-se à caracterização morfotintorial e bioquímica das amostras prevalentes.

Para avaliar o efeito do tempo de fermentação as médias foram submetidas à análise de variância (ANOVA). Para as variáveis que apresentaram resposta significativa, as médias foram comparadas entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância. Utilizou-se o programa estatístico Minitab18®.

3. Resultados e Discussão

As contagens dos principais grupos de micro-organismos isolados do leite de transição *in* natura e fermentado estão listadas na tabela 1.

Tabela 1 – Grupos de micro-organismos em leite de transição bovino *in* natura (D0) e fermentado por 21 (D21), 30 (D30) e 60 (D60) dias. Fazenda Escola "Capão da Onça", Ponta Grossa/PR, 2018.

Grupos de micro-organismos **	**Tempo de fermentação**			
	D (0)	**D (21)**	**D (30)**	**D (60)**
Bactérias totais	4,973c*	7,770a	7,135ab	5,790bc
Bactérias ácido láticas	3,843b	7,724a	6,920a	6,581a
Enterobactérias	3,001a	2,729a	1,553ab	0,000b
Leveduras	0,000b	1,533a	0,530ab	0,000b
Estafilococos	0,400	1,342	0,747	0,000
Pseudomonas	0,870	0,000	0,000	0,000

* Médias que não compartilham uma letra na linha são significativamente diferentes por Tukey a 5%
**Log UFC.ml^{-1}

A quantidade de bactérias totais no leite *in* natura foi de 4,973 log UFC. mL^{-1}. Níveis de contaminação acima deste valor não são adequados para alimentação de bezerros (SANTOS et al., 2017). Durante a fermentação as contagens de bactérias totais aumentaram significativamente, mas as mudanças foram também qualitativas. O meio ágar sangue é um meio de enriquecimento, por isso, as contagens de bactérias totais neste meio não refletiram a mudança na composição da microbiota que ocorreu durante o processo fermentativo observada nos meios seletivos. Os grupos patogênicos reduziram enquanto que as bactérias láticas aumentaram significativamente.

As colônias crescidas no ágar MRS foram isoladas e caracterizadas como bacilos ou cocos Gram positivos, não esporulados e catalase negativos, características presuntivas para bactérias ácido-láticas (BAL). Santos et al. (2017) relataram quantidades de bactérias láticas em colostro entre 4,5 a 5,1 log UFC ml^{-1}.

Houve aumento significativo das BAL aos 21 dias e esta população manteve-se viável aos 60 dias de fermentação. A sobrevivência desse grupo no alimento fermentado é fundamental, pois as BAL são importantes agentes probióticos e antagonistas das bactérias patogênicas e ao fermentarem a lactose do leite produzindo ácido lático, podem impedir a deterioração do produto e a transmissão de doenças e toxinas (WOUNTERS, 2002). A ação antimicrobiana das BAL deve-se também à biossíntese de compostos antimicrobianos (HUERTAS, 2010). Estes fatores podem explicar a redução significativa das enterobactérias e a ausência de leveduras e *Staphylococcus* sp aos 60 dias de fermentação. O grupo das *Pseudomonas* sp, aeróbios estritos, foram eliminados com o processo fermentativo.

Enterobactérias, leveduras e estafilococos ácido-tolerantes viáveis foram detectados aos 21 e aos 30 dias de fermentação. Os morfo-tipos predominantes em ágar macconkey foram isolados e caracterizados como bacilos Gram-negativos e oxidase-negativos.

No leite de transição *in* natura foram identificadas bioquimicamente as espécies: *Hafnia alvei, Enterobacter amnigenus, Enterobacter cloacae, Citrobacter diversus, Serratia rubidae* e *Escherichia coli*, importantes agentes de diarréia em bezerros. Aos 21 dias de fermentação foram isoladas seis enterobactérias predominantes e dentre elas foram identificadas *Hafnia alvei* e *Escherichia coli*. Com 30 dias de fermentação foram isoladas *Citrobacter diversus* e *Serratia rubidaea*. Houve redução significativa das enterobactérias apenas aos 60 dias.

4. Conclusão

O leite de transição fermentado por 60 dias pode ser utilizado como sucedâneo em bezerros, pois reduz a população de patógenos e mantêm viáveis as bactérias láticas.

5. Referências

ANDRADE, E. A.; ANSELMI, R.; MENDES, C. Q. Silagem de colostro: alternativa sustentável para a bovinocultura leiteira. *SR Rural – Caderno Rural*, n. 49, 2010.

AZEVEDO, R. A. de; DUARTE, E. R. Aspectos microbiológicos do colostro bovino em diferentes técnicas de conservação e armazenamento: uma revisão. *Revista Electrônica de Pesquisa Animal*, v. 1, n. 2, p. 84-98, 2013.

HUERTAS, R. A. P. Bacterias acido lacticas: papel funcional en los alimentos. *Facultad de Ciências Agropecuárias*. v. 8, n. 1, enero-junio, 2010.

SAALFELD, M. H. et al. Anaerobically fermented colostrum: an alternative for feeding calves. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 43, n.9, p.1636-1641. set. 2013.

SANTOS, G. T. dos. et al. Importância do manejo e considerações econômicas na criação de bezerras e novilhas. In: SUL-LEITE: SIMPÓSIO SOBRE SUSTENTABILIDADE DA PECUÁRIA DE LEITE NA REGIÃO SUL DO BRASIL, 2., 2002, Maringá. Anais...Toledo: NUPEL, 2002. p. 239-267.

SANTOS, H. L. et al. Nutritional and microbiological quality of bovine colostrum samples in Brazil. *Revista Brasileira de Zootecnia*. v. 46, n. 1, p.72-79, 2017.

WOUTERS, J. T. M. et al. Microbes from raw milk for fermented dairy products. *International Dairy Journal*, v. 12, p.91-109, 2002.