UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos
Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Bioprospecção

Dissertação

Silagem de colostro bovino: aspectos físico-químicos e microbiológicos em diferentes tempos fermentativos

Rosana Basso Kraus

Pelotas, 2021

Rosana Basso Kraus

Silagem de colostro bovino: aspectos físico-químicos e microbiológicos em diferentes tempos fermentativos

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Bioprospecção do Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências (Área de Concentração: Bioquímica e Bioprospecção).

Orientador: Prof. Dr. Rafael Guerra Lund

Coorientadoras: Prof.ª Dr.ª Patrícia da Silva Nascente

Prof.ª Dr.ª Giniani Carla Dors

Pelotas, 2021

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação na Publicação

K91s Kraus, Rosana Basso

Silagem de colostro bovino: aspectos físico-químicos e microbiológicos em diferentes tempos fermentativos / Rosana Basso Kraus ; Rafael Guerra Lund, orientador ; Patrícia da Silva Nascente, Giniani Carla Dors, coorientadores. — Pelotas, 2021.

88 f. : il.

Dissertação (Mestrado) — Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Bioprospecção, Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas, 2021.

1. Bactérias ácido láticas. 2. Colostro. 3. Micro-organismos patogênicos. 4. Qualidade. I. Lund, Rafael Guerra, orient. II. Nascente, Patrícia da Silva, coorient. III. Dors, Giniani Carla, coorient. IV. Título.

CDD : 574.192

Elaborada por Gabriela Machado Lopes CRB: 10/1842

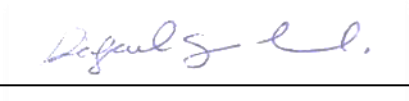
Rosana Basso Kraus

Silagem de colostro bovino: aspectos físico-químicos e microbiológicos em diferentes tempos fermentativos

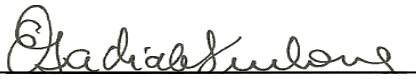
Dissertação aprovada, como requisito parcial, para obtenção do grau de Mestre em Ciências (Área de Concentração: Bioquímica e Bioprospecção) no Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Bioprospecção do Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos da Universidade Federal de Pelotas.

Data da defesa: 30/03/2021

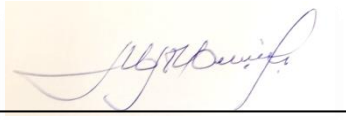
Banca examinadora:



Prof. Dr. Rafael Guerra Lund (Orientador)
Doutor em Odontologia pela Universidade Federal de Pelotas



Prof.ª Dr.ª Eliana Badiale Furlong
Doutora em Ciência de Alimentos pela Universidade Estadual de Campinas.



Prof. Dr. Mario Carlos Araújo Meireles
Doutor em Microbiologia e Imunologia pela Universidade Federal de São Paulo.

Dedico esta dissertação aos meus pais Ivanilde Basso Kraus e Luiz Kraus, a minha irmã Rose e ao meu sobrinho Bê por serem meu suporte e apoio.

Agradecimentos

Agradeço primeiramente a Deus, pois tudo na nossa vida acontece por um propósito e que a gente não perca a fé, mesmo nos momentos difíceis, pois no final tudo dá certo e se não deu certo é, porque ainda não chegou ao final.

Aos meus pais pelas inúmeras vezes que deixaram de fazer algo por eles, buscando me darem uma educação de qualidade. Por sempre me incentivarem a correr atrás dos meus sonhos. Obrigada pelo apoio e incentivo, pelo abraço nos momentos em que achei que não seria capaz. Pelas conversas, quando eu me sentia perdida e não sabia nem para que lado ir. Tudo que sou hoje eu devo a vocês! A minha irmã Rose pelo incentivo e apoio, desde o momento em que prestei o enem, pela parceria nos momentos de estudos e descontração, que o brigadeiro de colher fazia a nossa felicidade. Obrigada até pelos puxões de orelha, sei que todos foram pensando no melhor pra mim. Obrigada por existir e seres assim desse jeitinho. Obrigada pela parceria de vida!

Ao Rafael, a Patrícia e a Gini que me acolheram sem me conhecer, pela paciência em me introduzirem no mundo do colostro e da silagem, pelas inúmeras conversas, buscando a melhor forma de conduzir o trabalho, pelo suporte durante a execução e redação dos trabalhos desenvolvidos, pela oportunidade de participar em eventos únicos como o *Ideas for milk*. Obrigada pela confiança que depositaram em mim!

A Helenice e o grupo da Inspeção de Leite pela realização das análises físico-químicas e pelo auxílio no esclarecimento de dúvidas. A Giselda pelo apoio e explicação incansável nas análises estatísticas. A Silvia, a Amanda e a Patrícia do LRD pela paciência em ensinar como chegar à identificação dos micro-organismos, pelas conversas, pelo apoio e incentivo. A ajuda de todas vocês foi essencial para a realização deste trabalho. Muito obrigada!

Ao Pedro e a Isa meus companheiros de idas e vindas do campus, parceiros na hora do almoço na salinha. Obrigada por tornarem a rotina mais leve, pela companhia, pelos lamentos conjuntos dos experimentos que não estavam como gostaríamos e pela ajuda nos experimentos. Ahh e pelas risadas que a Polenta nos proporcionou, quando virava do avesso o apartamento.

A Paula, o Kevin e o Patrique pela companhia diária no laboratório e pela ajuda nos experimentos.

A minha amiga e irmã de coração Carol, meu presentinho da Furg. Obrigada pela parceria diária, mesmo sem nos vermos o quanto gostaríamos, pelas várias vezes que compartilhamos as conquistas e os perrengues da vida, pelo incentivo e apoio nos momentos em que tudo parecia estar dando errado. Que possamos comemorar ainda muitas vitórias que virão e repensar quando algo não sai como o planejado. E como tu diz: “um dia os humilhados serão exaltados”.

A Debora minha amiga de Pelotas, parceira de estudos no inglês. Obrigada pelas inúmeras conversas, por me mostrar o lado bom das coisas, pelos estudos descontraídos, pelo apoio e incentivo.

Obrigada a todos que de alguma forma torceram por mim!

“Talvez não tenha conseguido fazer o melhor, mas lutei para que o melhor fosse feito. Não sou o que deveria ser, mas Graças a Deus, não sou o que era antes”.

Marthin Luther King

Resumo

KRAUS, Rosana Basso. **Silagem de colostro bovino: aspectos físico-químicos e microbiológicos em diferentes tempos fermentativos.** 2021. 87f. Dissertação (Mestrado em Ciências - área Bioquímica e Bioprospecção) – Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Bioprospecção, Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2021.

O colostro bovino apresenta em sua composição proteínas, lipídios, lactose, imunoglobulinas, fator de crescimento semelhante à insulina I, fator de crescimento transformante beta-2, hormônio do crescimento, leucócitos, entre outros, sendo esses essenciais aos animais recém-nascidos, principalmente nas primeiras horas de vida. Entretanto, durante a lactação o colostro tem sua composição reduzida e o volume produzido pelos animais é superior ao consumido pelos bezerros. A silagem de colostro bovino é uma alternativa para conservar através da fermentação anaeróbia e possui composição físico-química superior ao colostro e ao leite cru, permitindo o armazenamento por até dois anos. Entretanto há poucos estudos sobre a silagem de colostro bovino, proporcionando uma lacuna com relação à cinética de transformação da composição e microbiota ao longo do tempo de fermentação. Assim, o objetivo do presente trabalho foi avaliar as características físico-químicas e microbiológicas da silagem de colostro bovino em diferentes intervalos de fermentação. As amostras de colostro bovino (n=21) foram colocadas em garrafas plásticas de 500 mL, armazenadas e fermentadas por 61 a 437 dias. Os parâmetros físico-químicos avaliados na silagem foram acidez, proteína, sólidos totais e cinzas, utilizando os métodos do Instituto Adolfo Lutz (2008). A caracterização microbiológica seguiu a metodologia de Saalfeld et al. (2013) com adaptações, e a identificação dos micro-organismos isolados foi realizada por meio da coloração de Gram e provas bioquímicas. A acidez, proteína e sólidos totais ao logo dos intervalos de fermentação (grupo 1: 61 a 154, grupo 2: 200 a 273 e grupo 3: 280 a 437 dias) não foram significativas. A concentração de cinzas teve redução significativa ($P<0,05$) nos grupos 1 e 3. Houve correlação positiva entre sólidos totais, concentração de proteínas e cinzas com os intervalos de fermentação. Os micro-organismos encontrados na silagem foram: *Lactobacillus* spp. (95,2%), *Staphylococcus* spp. (42,9%), *Corynebacterium* spp. (19,0%), *Enterococcus* spp. e *Bacillus* spp. (14,3%), *Lactococcus* spp. e não identificado (9,5%), *Leuconostoc* spp., *Streptococcus* spp., *Actinomadura* spp. e *Escherichia* spp. (4,8%). A composição da silagem de colostro foi superior ao colostro e ao leite conforme relatado em estudos disponíveis na literatura. Entretanto, a presença de micro-organismos patogênicos como *Streptococcus* spp., *Staphylococcus* spp. e *Bacillus* spp. na silagem é preocupante, levando em consideração a saúde dos animais que podem receber este alimento, sendo necessário buscar meios de controlar a contaminação do colostro e consequentemente da silagem.

Palavras-chave: bactérias ácido láticas; colostro; micro-organismos patogênicos; qualidade do leite.

Abstract

KRAUS, Rosana Basso Kraus. **Bovine colostrum silage: physical-chemical and microbiological aspects in different fermentation times.** 2021. 87f. Dissertation (Master Degree in Sciences – area Biochemistry and Bioprospecting) – Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Bioprospecção, Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2021.

Bovine colostrum contains proteins, lipids, lactose, immunoglobulins, insulin-like growth factor I, transforming growth factor beta-2, growth hormone, leukocytes, among others, these being essential to newborn animals, mainly in the first hours of life. However, during lactation, colostrum has a reduced composition and the volume produced by animals is higher than that consumed by calves. Bovine colostrum silage is an alternative to preserve through anaerobic fermentation and has a physicochemical composition superior to colostrum and raw milk, allowing storage for up to two years. However, there are few studies on bovine colostrum silage, providing a gap in relation to the transformation kinetics of the composition and microbiota over the fermentation time. Thus, the objective of the present work was to evaluate the physicochemical and microbiological characteristics of bovine colostrum silage at different fermentation intervals. The samples of bovine colostrum (n=21) were placed in 500 mL plastic bottles, stored and fermented for 61 to 437 days. The physicochemical parameters evaluated in the silage were acidity, protein, total solids and ash, using the methods of the Adolfo Lutz Institute (2008). The microbiological characterization followed the methodology of Saalfeld et al. (2013) with adaptations, and the identification of isolated microorganisms was performed by means of Gram stain and biochemical tests. The acidity, protein and total solids during the fermentation intervals (group 1: 61 to 154, group 2: 200 to 273 and group 3: 280 to 437 days) were not significant. The ash concentration had a significant reduction ($P < 0.05$) in groups 1 and 3. There was a positive correlation between total solids, protein concentration and ash with fermentation intervals. The microorganisms found in the silage were: *Lactobacillus* spp. (95.2%), *Staphylococcus* spp. (42.9%), *Corynebacterium* spp. (19.0%), *Enterococcus* spp. and *Bacillus* spp. (14.3%), *Lactococcus* spp. and unidentified (9.5%), *Leuconostoc* spp., *Streptococcus* spp., *Actinomadura* spp. and *Escherichia* spp. (4.8%). The composition of colostrum silage was superior to colostrum and milk as reported in studies available in the literature. However, the presence of pathogenic microorganisms such as *Streptococcus* spp., *Staphylococcus* spp. and *Bacillus* spp. in silage it is worrying, taking into account the health of the animals that can receive this food, being necessary to look for ways to control the colostrum contamination and consequently of the silage.

Key-words: lactic acid bacteria; colostrum; pathogenic microorganisms; milk quality.

Lista de Figuras

Figura 1 Rota bioquímica da fermentação anaeróbia..... 31

Manuscrito “Silagem de colostro bovino: características físico-químicas e microbiológicas em diferentes tempos de fermentação”

Figura 1 Gêneros de micro-organismos isolados da SCB em diferentes tempos fermentativos..... 50

Lista de Tabelas

Tabela 1 Concentração microbiana permitida no colostro bovino..... 22

Manuscrito “Silagem de colostro bovino: características físico-químicas e microbiológicas em diferentes tempos de fermentação”

Tabela 1 Composição físico-química e contagem de células somáticas do leite produzido após o CB pelos animais da raça Jersey (n = 21) na propriedade leiteira localizada na região sul do Brasil, na cidade de Pelotas..... 48
Tabela 2 Composição físico-química da SCB oriunda da fermentação do CB de animais da raça Jersey (n = 21) na propriedade leiteira localizada na região sul do Brasil, na cidade de Pelotas..... 49
Tabela 3 Análise de variância das concentrações de proteína, cinzas, sólidos totais e acidez em diferentes tempos fermentativos da SCB..... 49

Material Suplementar do Manuscrito “Silagem de colostro bovino: características físico-químicas e microbiológicas em diferentes tempos de fermentação”

Tabela Suplementar S1 Descrição dos animais de acordo com o tempo de fermentação da SCB obtidas de animais da raça Jersey (n = 21) na propriedade leiteira localizada na região sul do Brasil, na cidade de Pelotas..... 52
Tabela Suplementar S2 Temperatura média da fermentação da SCB obtido de animais da raça Jersey (n = 21) na propriedade leiteira localizada na região sul do Brasil, na cidade de Pelotas..... 53
Tabela Suplementar S3 Identificação dos micro-organismos isolados da SCB..... 54

Lista de Quadros

Quadro 1 Composição físico-química do colostro bovino e informações dos animais..... 20

Artigo de Revisão “Bactérias ácido láticas na descontaminação de aflatoxinas em leite bovino: uma revisão”

Quadro 1 Frequência e ocorrência de aflatoxinas em leite e derivados lácteos relatadas na literatura..... 68
Quadro 2 Uso de bactérias ácido láticas na descontaminação de aflatoxinas em leite e derivados lácteos..... 72

Lista de Abreviaturas e Siglas

AFLA	Aflatoxina
AFLAB	Aflatoxina B
AFLAG	Aflatoxina G
AFLAM	Aflatoxina M
BAL	Bactérias ácido láticas
CB	Colostro bovino
CCS	Contagem de células somáticas
CRUE	Comissão da Regulamentação da União Europeia
FDA	Food and Drug Administration
IARC	International Agency for Research on Cancer
Ig	Imunoglobulina
IgA	Imunoglobulina A
IgG	Imunoglobulina G
IgM	Imunoglobulina M
LMT	Limites Máximos Tolerados
PET	Polietileno de tereftalato
PLA	Polietileno laminado de alumínio
SCB	Silagem de colostro bovino
UFC	Unidades formadoras de colônias
UV	Ultravioleta
W	Watts

Sumário

1 Introdução 17
2 Objetivos 19
2.1 Objetivo geral 199
2.2 Objetivos específicos 19
3 Revisão bibliográfica 20
3.1 Colostro bovino 20
3.1.1 Composição físico-química do colostro bovino x qualidade x transferência de imunidade 20
3.1.2 Excedente do colostro bovino e estabilidade ao longo do tempo 23
3.1.3 Métodos de conservação do colostro bovino 24
3.1.3.1 Conservantes químicos 25
3.1.3.2 Conservação por métodos físicos 26
3.1.3.3 Conservação por fermentação 28
3.2 Silagem de colostro bovino 33
3.2.1 Composição físico-química da silagem de colostro bovino 33
3.2.2 Micro-organismos na silagem de colostro bovino 34
4 Manuscrito 37
1 Introdução 40
2 Materiais e métodos 41
2.1 Colostro bovino 41
2.2 Silagem de CB 41
2.3 Preparo das amostras para as análises físico-químicas e microbiológicas 41
2.4 Análises físico-químicas e microbiológicas 41
2.5 Análise estatística 42
3 Resultados e Discussão 42
3.1 Análises físico-químicas 42
3.2 Análises microbiológicas 44
4 Conclusões 45
Referências bibliográficas 45
Material suplementar do manuscrito 522
5 Artigo 55
6 Discussão 56

7 Conclusão e perspectivas futuras 56
Referências 57
Anexo A.....64
Anexo B.....86

1 Introdução

O colostro bovino (CB) é o primeiro fluido produzido após o parto e é considerado fonte de nutrientes contendo imunoglobulinas (Ig), lactoferrina, lactoperoxidase, peptídeos, fatores de crescimento, sendo estes essenciais aos animais recém-nascidos, por contribuírem para a transferência de imunidade aos bezerros (PLAYFORD; MACDONALD; JOHNSON, 2000).

Alguns fatores como a raça dos animais, o número de partos, a produtividade das vacas e a alimentação dos animais influenciam na composição, concentração de Ig e na qualidade do CB (ZARCULA et al., 2010; MORRILL et al., 2012; SILVA-DEL-RÍO et al., 2017; ZAREI et al., 2017; WASOWSKA; PUPPEL, 2018). A composição físico-química do CB sofre alterações ao longo do tempo após o parto, principalmente a concentração de sólidos totais, lipídios, proteínas, lactose e vitaminas (GEORGIEV, 2005; MARNILA; KORHONEN, 2011).

Ainda que os bezerros consumam a quantidade adequada de CB, a produção deste é superior ao volume consumido e o excedente, muitas vezes é descartado, devido à dificuldade de conservação e armazenamento (FERREIRA et al., 2013a). Por isso, tem-se buscado alternativas de técnicas conservação do CB e, entre estas tem-se a fermentação (SAALFELD et al., 2013).

A fermentação anaeróbia do CB ou silagem de colostro bovino (SCB) é uma alternativa promissora para utilização do excesso de CB produzido pelas vacas e permite a conservação por períodos acima de dois anos. O processo fermentativo, com tempo mínimo de fermentação de 21 dias, utiliza garrafas plásticas como fermentador, não necessitando de refrigeração, congelamento ou uso de aditivos, e resulta na eliminação de micro-organismos patogênicos, permanecendo somente bactérias ácido láticas (BAL) e outros organismos benéficos. Outra vantagem da SCB está relacionada à sua composição físico-química, quando comparada ao CB e o leite (SAALFELD et al., 2013).

Alguns estudos relatam que a SCB propicia maior ganho de peso diário aos animais, quando comparado com o leite ou sucedâneos lácteos (FERREIRA et al., 2013b; SAALFELD et al., 2013), além de proporcionar a transferência de Ig da mesma forma que o CB *in natura* (SAALFELD et al., 2014). A ocorrência de BAL na SCB em diferentes tempos de fermentação tem sido relatada em diversos estudos (FERRERIA et al., 2013a; SAALFELD et al., 2013, AZEVEDO et al., 2014; SAALFELD et al., 2016).

Além da aplicabilidade das BAL nos alimentos, também têm sido avaliadas na descontaminação de aflatoxinas (AFLA), que são compostos tóxicos produzidos por fungos do gênero *Aspergillus* spp. e encontradas em leite e derivados lácteos (CREPPY, 2002; PRANDINI et al., 2009; SEVIM et al., 2019; WOCHNER et al., 2019; GONÇALVES et al., 2020).

Há alta variabilidade na composição físico-química e presença de micro-organismos na SCB nos poucos estudos encontrados na literatura e isto pode estar relacionado as condições de tempo e temperatura empregadas no processo fermentativo (FERREIRA, 2011; FERREIRA et al., 2013a; SAALFELD et al., 2013; AZEVEDO et al., 2014; GOMIDE, 2017). Dessa forma, o presente estudo busca preencher esta lacuna verificando a composição físico-química e da microbiota ao longo de diferentes intervalos de fermentação do CB.

2 Objetivos

2.1 Objetivo geral

O objetivo do presente trabalho foi avaliar as características físico-químicas e microbiológicas da silagem de colostro bovino em diferentes intervalos de fermentação.

2.2 Objetivos específicos

1) Caracterizar físico-química e microbiologicamente a silagem de colostro bovino em diferentes intervalos de fermentação;
2) Co-relacionar a composição físico-química e perfil da microbiota da silagem de colostro bovino;
3) Relatar estudos relacionados a descontaminação de aflatoxinas por bactérias ácido láticas.

3 Revisão bibliográfica

3.1 Colostro bovino

3.1.1 Composição físico-química do colostro bovino x qualidade x transferência de imunidade

O CB tem a sua composição físico-química afetada por diversos fatores, dentre eles pode-se destacar a raça dos animais e a quantidade de partos, consequentemente a qualidade também é diretamente afetada pelas alterações na composição (PUPPEL et al., 2019). O Quadro 1 apresenta a composição nutricional do CB e dados de raça dos animais e número de partos.

Quadro 1 - Composição físico-química do colostro bovino e informações dos animais

Amostras / Número de partos	Lipídios	Proteína	Matéria seca	Lactose	Raça dos animais	Dia da ordenha	Autores
16 / NI	70,5 g L^{-1}	52,0 g L^{-1}	159,0 g kg^{-1}	43,9 g L^{-1}	Holandês e Simental	2	*Ontsouka; Bruckmaier; Blum, 2003
10 / 3	4,6 a 4,8%	11,1 a 11,9%	18,7 a 19,3%	1,7 a 2,1%	Holandês	1	*Georgiev, 2005
	5,3 a 5,9%	5,0 a 5,4%	15,1 a 15,3%	3,5%		3	
55 / NI	6,7%	14,9%	-	2,5%	Holandês	1	Kehoe; Jayarao; Heinrichs, 2007
11 / 2, 3 e 4	9,0 / 8,3 / 6,0%	22,3 / 23,6 / 22,1%	41,9 / 41,8 / 35,7%	1,5 / 1,6 / 1,6%	Romenas e Holandês	NI	Zarcula et al., 2010
18 / 2, 3 e 4	7,9 / 5,4 / 5,2%	17,6 / 16,7 / 13,4%	35,6 / 29,8 / 26,7%	2,2 / 2,3 / 2,9%	Holandês	NI	
581 / 1, 2 e 3	6,6 / 4,2 / 5,1%	12,4 / 12,1 / 13,1%	-	3,0 / 2,8 / 3,1%	Holandês e Jersey	1	*Morrill et al., 2012

Continuação do Quadro 1.

Quadro 1 - Composição físico-química do colostro bovino e informações dos animais

Amostras / Número de partos	Lipídios	Proteína	Matéria seca	Lactose	Raça dos animais	Dia da ordenha	Autores
10 / NI	6,1%	16,7%	26,1%	2,7%	Jersey e Holandês	1	*Saalfeld et al., 2012a
1239 / NI	6,4%	14,0%	-	2,7%	Holandês, Ayrshire e mestiço	1	*Dunn et al., 2017
66 / NI	-	15,1 a 21,5%	22,1 a 27,3%	-	Zebu e Holandês	NI	*Santos et al., 2017
365 / NI	4,6%	18,5%	-	2,0%	Holandês	1	Zarei et al., 2017
1 / NI	36,0 g kg^{-1}	163,0 g kg^{-1}	-	6,5 mg 1000 mL^{-1}	NI	1	Preeti et al., 2018
40 / 2	A:4,5% B:5,0%	A:16,2% B:14,3%	-	A:2,8% B:2,5%	Holandês	1**	Wasowska; Puppel, 2018
	A:4,5% B:4,1%	A:13,6% B:9,0%	-	A:2,9% B:2,5%		1**	
	A:2,9% B:2,6%	A:8,6% B:6,0%	-	A:3,6% B:3,9%		2**	
	A:2,5% B:2,1%	A:6,4% B:5,2%	-	A:3,9% B:4,1%		2**	
	A:5,4% B:2,9%	A:5,1% B:4,4%	-	A:3,8% B:4,2%		3***	
	A:3,2% B:3,7%	A:4,5% B:4,5%	-	A:4,1% B:4,0%		4***	
	A:2,6% B:3,7%	A:3,8% B:4,5%	-	A:4,4% B:4,0%		5***	

-: análise não realizada, *: os autores não diferiram o colostro de acordo com as raças dos animais, **:amostra coletada duas vezes ao dia, ***: amostra coletada uma vez ao dia, NI: dado não informado, A: propriedade 1, B: propriedade 2.

Pode-se observar no Quadro 1, a influência da propriedade e das raças dos animais, destacando-se principalmente Holandês e Jersey. O CB da raça Holandesa apresentou composição nutricional semelhante e o aumento do número de partos ocasionou uma redução na concentração de lipídios, proteína e matéria seca, por outro lado houve um aumento dos teores de lactose. Em alguns estudos foi analisado o CB de animais de diferentes raças, como Jersey e Holandês, que tiveram composição semelhante e redução dos níveis de lipídios, proteína e lactose do

primeiro para o segundo parto, mas do segundo para o terceiro parto houve aumento destes parâmetros.

Outros estudos têm demonstrado a influência de fatores como estação do ano, clima do celeiro, alimentação previamente ao parto, duração do período seco e escore corporal na composição físico-química no CB (ZAREI et al., 2017; ZENTRICH et al., 2019).

A ingestão do CB pelos animais recém-nascidos é importante, pois é somente através do colostro que os bezerros adquirem Ig, células imunes e citocinas e absorvem a imunidade passiva adequada, esta troca não ocorre antes do parto, devido a estrutura sindesmocorial presente na placenta da vaca (BARRINGTON; PARISH, 2001; STELWAGEN et al., 2009). Outros derivados de CB já foram avaliados, entretanto estes compostos não tem a mesma eficiência de transferência de imunidade (PRIESTLEY et al., 2013).

As Ig são proteínas mono ou poliméricas constituídas por duas cadeias polipeptídicas, ligadas por ligações dissulfeto, e são classificadas de acordo com as propriedades físico-químicas, biológicas e imunológicas (FARRELL et al., 2004). Em bovinos encontra-se as Ig do tipo G (IgG), M (IgM) e A (IgA) e, cerca de 65 a 90% são lg do tipo G, que possui dois isotipos, G_1 e G_2 (JASTER, 2005). A absorção das Ig pelos neonatos ocorre simultaneamente com outras macromoléculas, não sendo um processo específico, e a eficiência desta absorção diminui com o tempo (BESSER; GAY, 1985).

Além da importância do consumo do CB pelos animais recém-nascidos a qualidade deve ser adequada. O CB é considerado de qualidade quando apresenta contaminação microbiana dentro dos limites estabelecidos (Tabela 2) e a concentração de Ig adequada (50 mg mL^{-1}, IgG_1) (PRITCHETT et al., 1994; MCGUIRK; COLLINS, 2004).

Tabela 1 - Concentração microbiana permitida no colostro bovino

Contagem (UFC/mL)	Limite permitido (UFC/mL)
Bactérias totais	<100.000
Coliformes fecais	<10.000
Gram negativos (outros)	<50.000
Streptococcus não agalactiae	<50.000
Staphylococcus coagulase negativa	<50.000
Outros	<5.000

Fonte: McGuirk; Collins (2004).

Alguns estudos têm avaliado a contaminação microbiana e a concentração de Ig no CB, verificando a porcentagem de amostras que atendem as especificações exigidas e concluindo que o CB fornecidos aos bezerros é de baixa qualidade e com contaminação de micro-organismos elevada (JOHNSON et al., 2007; MORRILL et al., 2012; PHIPPS et al., 2016; MELLADO et al., 2017). Isto é preocupante, visto que é por meio da transferência das Ig da vaca aos bezerros, que estes animais recebem a capacidade imunológica inicial (HURLEY; THEIL, 2011).

3.1.2 Excedente do colostro bovino e estabilidade ao longo do tempo

O volume de CB produzido pelas vacas é superior ao consumido pelos bezerros e devido à dificuldade de conservação e armazenamento, alguns produtores realizam o descarte do excedente (FERREIRA et al., 2013a). Diversos estudos avaliam a composição nutricional do CB ao longo do tempo (GEORGIEV, 2005; SAALFELD et al., 2012a; ZAREI et al., 2017; WASOWSKA; PUPPEL, 2018).

Saalfeld et al. (2012a) realizaram a composição centesimal de dez amostras de CB (raça Jersey e Holandesa) do momento do parto até 60 h. Os parâmetros avaliados foram: pH (6,42 a 6,31), lactose (2,7 a 3,4%), cinzas (1,8 a 1,3%), proteína (16,7 a 6,9%), sólidos totais (75,8 a 86,0%), lipídios (6,1 a 5,9%), matéria seca (26,1 a 14,1%) e acidez (30,0 a 25,0 °D). Todas as variáveis analisadas demonstram diminuição ao longo do tempo, exceto lactose e sólidos totais.

Zarei et al. (2017) determinaram o volume do CB, lgG, lgM, lipídios, proteína, lactose, sólidos totais, cálcio e fósforo de 365 vacas Holandesas durante a primavera, verão, outono e inverno. O volume do colostro foi 7,7; 7,1; 6,5; 6,8 L na primavera, verão, outono e inverno, respectivamente. A lgG e lgM apresentaram as concentrações 23,3 e 6,1; 41,2 e 5,4; 23,8 e 3,0 e 50,8 e 8,4 mg mL^{-1} nas estações da primavera, verão, outono e inverno, respectivamente, diferindo significativamente entre elas. Os percentuais de lipídios e proteína na primavera, verão, outono e inverno foram 4,2 e 18,1; 4,8 e 18,9; 4,6 e 18,7; 4,6 e 18,8%, respectivamente. Os níveis de lactose e sólidos totais foram 1,8 e 27,9; 1,8 e 27,2; 2,1 e 28,4; 2,0 e 27,0%, respectivamente nas estações primavera, verão, outono e inverno, sendo que no outono houve diferença estatística nos teores de lactose quando comparado com as outras estações. As concentrações do sódio e fósforo nas estações de primavera, verão, outono e inverno foram 2443 e 1906; 3086 e 2200; 2629 e 1833; 2694 e 1731

mg kg^{-1}, respectivamente, essas concentrações foram superiores no verão em relação as outras estações. Os autores atribuem as menores concentrações da IgG na primavera e no outono as condições de estresse, como clima e temperatura que os animais estavam em período final de gestação, a IgM depende das células imunológicas no úbere e em virtude da complexidade da composição nutricional do CB, a variabilidade entre animais não foi encontrada uma justificativa para a variação nesses parâmetros.

Wasowska e Puppel (2018) analisaram duas propriedades, sendo uma de alta (8000 kg de leite por vaca por ano) e outra de baixa produção (5500 kg de leite por vaca por ano), totalizando 40 amostras e determinando caseína, lipídios, proteína, lactose e densidade. Na propriedade de baixa produção a caseína e a proteína apresentaram uma queda nas concentrações de 10,1 para 2,9% e 16,2 para 3,8%, respectivamente. A lactose apresentou um aumento de 2,8 a 3,9% até a quarta coleta, seguido de uma redução a 3,8%, com posterior aumento até 4,4%. Os lipídios e a densidade tiveram uma queda nos percentuais até a quarta coleta (4,5 para 2,5%) e quinto dia de coleta (1,06 para 1,03 g mL^{-1}), finalizando em 2,6% e 1,03 g mL^{-1}, respectivamente. Na propriedade de alta produção a caseína, os lipídios e a proteína obtiveram o mesmo comportamento da propriedade de baixa produção, com teores de 10,1 para 3,3; 5,0 para 3,6% e 14,2 para 4,4%, respectivamente. A lactose teve aumento nas concentrações até a quinta coleta (2,5 para 4,1%), finalizando em 4,0% e a densidade diminuiu de 1,05 a 1,03 g mL^{-1}. Os autores atribuem os resultados encontrados as ordenhas subsequentes ou com o aumento da produtividade das vacas (WASOWSKA; PUPPEL, 2018).

3.1.3 Métodos de conservação do colostro bovino

Vários estudos têm sido realizados para conservar o CB: pasteurização (ARMENGOL; FRAILE, 2016; CUMMINS et al., 2017), congelamento (EL-FATTAH et al., 2014; KRYZER; GODDEN; SCHELL, 2015), liofilização (EL-FATTAH et al., 2014), processamento a alta pressão (FOSTER et al., 2016), conservantes químicos (MULLER; SMALLCOMB, 1977), irradiação (NGUYEN et al., 2019; PEREIRA et al., 2014), refrigeração e *spray drying* (RAMYA; RAMASAMY; DHINESHKUMAR, 2016) e fermentação (FERREIRA et al., 2013a; SAALFELD et al., 2013; AZEVEDO et al., 2014; GOMIDE, 2017).

3.1.3.1 Conservantes químicos

Bush, McQueen e Nicholson (1980) avaliaram a conservação do CB por *Streptococcus lactis* ML3, cultura de iogurte (*S. thermophilus* e *Lactobacillus bulgaricus*) e a formalina armazenados em plástico selado e garrafas plásticas. Foi utilizado: 1% de formalina, 40 mL de *S. lactis* ML3, 40 mL cultura de iogurte e 1,5 mL de formalina, 20 mL de *S. lactis* e 20 mL da cultura de iogurte, respectivamente. A temperatura ambiente variou entre 20 a 24 °C. Os parâmetros determinados foram: pH, acidez titulável, ácidos orgânicos e lactose durante 24 dias. O pH teve comportamento similar em ambas as embalagens de armazenamento, mas o pH foi inferior nas garrafas com a cultura do iogurte e *S. lactis*, com pH final de 3,8 e 4,5, respectivamente e a formalina reduziu o pH, finalizando em 5,6. Isso pode estar relacionado com os recipientes onde o CB foi armazenado, pois pode ter ocorrido o escape de vapor da formalina não mantendo concentrações bacteriostáticas eficientes. Foi possível observar um aumento inicial na acidez nas amostras fermentadas em ambos os experimentos, enquanto a formalina apresentou menor acidez. O ácido orgânico que se destacou nos ensaios foi o butirato para a cultura do iogurte (61,7 μmols mL^{-1}) e *S. lactis* (53,4 μmols mL^{-1}). No plástico selado, destacaram-se o acetato seguido do propionato, enquanto nas garrafas foram o propionato e o acetato. Os ácidos orgânicos são resultados do metabolismo da lactose, o uso do plástico selado e das garrafas plásticas com formalina teve reduções de 10 e 50% da concentração de lactose.

Muller e Smallcomb (1977) avaliaram a conservação do CB utilizando benzoato de sódio, propionato de sódio, formato de sódio, acetato de sódio, ácido benzóico, sorbitol e lactona de ácido glucônico. Benzoato de sódio e ácido benzóico propiciaram uma redução mais lenta no pH, mantendo-o constante por 21 dias, quando comparado com o controle e aos conservantes propionato de sódio, formato de sódio, acetato de sódio, sorbitol e lactona de ácido glucônico. Além disso, o benzoato de sódio e o ácido benzóico também resultaram em uma menor degradação de proteínas e, menor contagem de fungos e leveduras, quando comparado com propionato de sódio, formato de sódio, acetato de sódio, sorbitol e lactona de ácido glucônico. Todos os compostos avaliados reduziram a contagem de coliformes em 14 dias.

O uso de conservantes químicos afeta a qualidade nutricional do CB, diminuindo parâmetros como proteína, e consequentemente apresenta menor período de preservação, quando comparado a um processo fermentativo.

3.1.3.2 Conservação por métodos físicos

El-Fattah et al. (2014) realizaram a pasteurização do CB sob três diferentes formas de tempo e temperatura (63 °C por 30 min, 60 °C por 60 min ou 72 °C por 15 s) e aplicaram como forma de armazenamento o congelamento (-20 °C) ou a liofilização, determinando os seguintes parâmetros: viscosidade, concentração de lgG e lgM, fator de crescimento semelhante à insulina e lactoferrina. O processo de pasteurização a 60 °C por 60 min não ocasionou efeito na lgG e na viscosidade do CB, quando comparado com os outros tempos e temperaturas de pasteurização. O congelamento do CB pasteurizado (60 °C por 60 min) não afetou os níveis de lgG e lactoferrina, mas causou uma diminuição de 32,9 e 13,4% na lgM e fator de crescimento semelhante a insulina. Ao avaliar o congelamento ao longo do tempo, verificaram a redução de 6,5% do fator de crescimento semelhante à insulina em três meses de armazenamento e também a diminuição das lgG, lgM e lactoferrina em 14,6; 60,5 e 21,4%, respectivamente aos seis meses de armazenamento. A liofilização do CB pasteurizado (60 °C por 60 min) não alterou as concentrações de lgG, lgM, fator de crescimento semelhante à insulina e lactoferrina, quando comparado com o controle, entretanto o CB liofilizado armazenado a 7 °C teve os teores de lgG, lgM e fator de crescimento semelhante à insulina reduzidos significativamente em 3 meses. Os autores concluem que a melhor forma de armazenamento do CB é a pasteurização (60 °C por 60 min) e congelamento podendo ser armazenado por três meses sem efeito nas concentrações das lgG e lgM.

Balthazar et al. (2015) aplicaram como método de armazenamento o congelamento e avaliaram técnicas de descongelamento como: banho-maria a 40, 50, 60 e 70 °C e microondas a 200 e 350 watts (W), em CB classificados com alta, média e baixa concentração de lg. Dentre as técnicas usadas no descongelamento do CB, destacou-se o banho-maria a 40 °C, pois afetou menos a concentração de lgG, apesar de demandar mais tempo. As temperaturas superiores exigiram menos tempo, entretanto houve maior impacto na concentração de lg ou ocorreu a formação de

coágulos. O microondas a 200 W por 30 min, também pode ser recomendado como forma de descongelar o CB sem causar perdas com relação as Ig.

Donahue et al. (2012) analisaram o efeito do tratamento térmico a 60 °C por 60 min no CB, através da contagem de bactérias e coliformes e concentração de IgG. As amostras de CB pré e pós-tratadas termicamente em um pasteurizador foram inoculadas com cultura microbiana e foi realizada a determinação de IgG. Houve redução da contagem de bactérias e coliformes em 2,25 log_{10} e 2,49 log_{10}, respectivamente após o tratamento e as concentrações de Ig não foram reduzidas pelo tratamento térmico.

Resultados semelhantes foram encontrados por Armengol; Fraile (2016), e Kryzer, Godden, Schell (2015) complementando a pasteurização com o armazenamento a -20 °C. Nguyen et al. (2019) obteve resultados semelhantes utilizando 63 °C por 30 min e radiação gama. Gelsinger et al (2014) também atingiu resultados semelhantes fazendo uso da temperatura de 60°C por 30 min.

O uso das técnicas de congelamento ou resfriamento faz com que ocorra menores alterações dos alimentos, além de reduzir o crescimento microbiano, aumentando a vida útil do CB. Além disso, o congelamento causa menor efeito na concentração da IgG, porém requer grande disponibilidade de instalações e equipamentos, tornando este método limitado. O processamento térmico é amplamente empregado nas indústrias de alimentos, pois geram produtos microbiológicos seguros, porém ao fazer uso de temperatura mais alta por menos tempo, podem ocasionar alterações nas propriedades nutritivas, físico-químicas e reológicas dos produtos, principalmente lácteos, sendo as proteínas mais susceptíveis ao uso de temperaturas (BORAD; SINGH, 2018).

Chelack, Morley, Haines (1993) realizaram a secagem do CB por liofilização, evaporação a vácuo por micro-ondas e *spray drying*. A liofilização foi o método mais eficiente comparado aos outros métodos de secagem avaliados e proporcionou a maior manutenção da concentração de Ig e recuperação de sólidos totais. A evaporação por micro-ondas foi a metodologia menos eficiente e devido o uso moderado de temperaturas causou maior perda de Ig.

Hayes, Hughes, Greene (2012) avaliaram a população microbiana de quatro marcas de CB desidratado disponíveis comercialmente. Foram isolados 42 micro-organismos, desses 20 não puderam ser identificados, os demais foram caracterizados como as seguintes espécies: *Bacillus lichenformis*, *Bacillus badius*,

Kocuria rhizophila, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas fluorescens*, *Enterococcus faecium*, *Bacillus massiliensis*, *Pseudomonas* spp. e *Bacillus pumilis.* Houve a prevalência de organismos formadores de esporos, resistentes ao calor, Gram-positivos, essas condições sugerem que o tratamento térmico aplicado afetou a população microbiana.

Yu, Zheng, Li (2013) determinaram a vida útil e a estabilidade físico-química e bioquímica do CB seco por *spray drying* e embalado em bolsas de polietileno laminado de alumínio (PLA) e polietileno de tereftalato (PET) e armazenado sob diferentes condições (25 °C e 50% de umidade relativa, 50 °C e 20-50% de umidade relativa e 4 °C 40-70% de umidade relativa). A vida útil do CB em pó foi 425,5 e 86,5 dias para PLA e PET a 25 °C e 50% de umidade relativa. O teor de umidade e a alteração de cor do CB em pó aumentaram com o aumento do tempo de armazenamento. Por outro lado, a concentração de IgG teve concentrações reduzidas com o aumento do tempo. Os autores recomendam o uso da PLA para armazenar o CB em pó e a melhor condição de armazenamento foi 4 °C e 40-70% de umidade relativa.

Uma das vantagens dos métodos de secagem envolve a redução da atividade de água dos alimentos, reduzindo a taxa das reações químicas, enzimáticas e microbiológicas (BORAD; SINGH, 2018).

Pereira et al. (2014) aplicaram em escala piloto luz ultravioleta (UV) com fluxo de 45 J/cm^2 para avaliar a capacidade de redução de contagem bacteriana do CB. Foram inoculados *Listeria innocua*, *Mycobacterium smegmatis*, *Salmonella* sorovar Typhimurium, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae* e *Acinetobacter baumannii*. Houve diminuição significativa na contagem de *Listeria* spp., *Salmonella* spp. e *Acinetobacter* spp., exceto para *Escherichia coli*, *Streptococcus agalactiae* e *Staphylococcus aureus*. A incidência desta radiação também resultou na diminuição de aproximadamente 50% das lgG.

3.1.3.3 Conservação por fermentação

A fermentação do CB vem sendo estudada ao longo dos anos, inicialmente avaliou-se- a possibilidade do uso da fermentação aeróbia do CB, entretanto devido à variabilidade dos resultados e a recusa de ingestão pelos animais essa técnica foi deixando de ser utilizada pelos produtores (JENNY; O'DELL; JOHNSON, 1976; THOMPSON; MARTH, 1976; FOLEY; OTTERBY, 1978).

Thompson, Marth (1976) avaliaram o CB de cinco vacas coletado durante dez ordenhas após o parto e armazenado em recipientes a temperatura ambiente (15 a 25 °C) durante três semanas. Os parâmetros determinados foram: pH, contagem padrão em placa e contagem de micro-organismos (Gram-negativos, leveduras e fungos, coliformes, *Streptococcus* e BAL). O pH inicial variou de 6,2 a 6,5 e finalizou em aproximadamente 4,0, a contagem padrão em placa aumentou rapidamente nos dois primeiros dias, atingindo 10^9 UFC mL^{-1}, logo após esse período houve uma estabilização até 7 dias, seguido de um declínio. As BAL aumentaram durante os primeiros 7 dias, atingindo a concentração de 10^7 UFC mL^{-1}. Foram isolados 87 e 60 no ágar *All Purpose Tween 80 Media* (APT) e no meio específico para *Streptococcus*, todas identificadas como *Streptococcus faecalis* esses micro-organismos tiveram aumento nas concentrações nos primeiros dias, entretanto as concentrações variaram entre 10^4 a 10^8 UFC mL^{-1} em todas as amostras. A contagem de coliformes aumentou durante os três primeiros dias atingindo 10^8 UFC mL^{-1}. As colônias isoladas foram identificadas como: 98% coliformes, 44% *Escherichia coli*, 8% *Enterobacter aerogenes* e 48% formas intermediárias. As bactérias Gram-negativas tiveram aumento nas concentrações até os três primeiros dias, seguido de uma redução e finalizaram em 10^6 UFC mL^{-1}. Os fungos e leveduras apresentaram concentrações crescentes (10^3 a 10^6 e 10^5 a 10^6 UFC mL^{-1}, respectivamente) até o décimo dia e logo após mantiveram-se constantes.

Jenny, O'dell, Johnson (1976) determinaram o efeito de duas faixas de temperaturas (inverno: 8 a 15 °C com média de 12 °C, primavera: 20 a 27 °C com média de 24 °C) na fermentação natural do CB armazenado durante 32 dias. O CB de seis ordenhas foi coletado de quatro vacas no inverno e quatro na primavera, foram determinados o pH, acidez titulável, contagem padrão em placa, coliformes, BAL total, *Lactobacillus*, leveduras e fungos. A contagem de micro-organismos foi aproximadamente 10^9 UFC mL^{-1} e houve redução no armazenamento no inverno e 1,5 log a menos entre os dias 2 e 16 do armazenamento na primavera. As BAL totais diminuíram 1,5 log nos dias 4 e 16 na primavera e ao final do período de armazenamento a contagem de *Lactobacillus* foi de 9×10^7 e 4×10^7 UFC mL^{-1} e representavam 30% e 7% das BAL na primavera e inverno. Os coliformes apresentavam uma diferença de 2 log a menos nas amostras da primavera do que no inverno e ao final do armazenamento a concentração estava abaixo de 10^4 UFC mL^{-1}. Com relação aos fungos e leveduras a contagem foi a mesma para as duas faixas

de temperatura, atingindo 10^6 UFC mL^{-1}, e houve aumento na acidez titulável de 1,1 a 3,8% nas amostras da primavera e 0,9 a 1,9% nas amostras de inverno. Por fim, os autores sugerem a aplicação da temperatura da primavera, pois favorece o crescimento de micro-organismos mais desejáveis no CB.

Uma alternativa ao processo fermentativo aeróbico é a fermentação anaeróbia do CB, denominada silagem de colostro bovino (SCB). Alguns trabalhos tem demonstrado ser um método eficaz, permitindo o armazenamento do CB por mais de dois anos. Outra vantagem da SCB está relacionada à sua composição físico-química, apresentando teores de matéria seca (17,9 a 23,3%), proteína (6,4 a 14,4%) e lipídios (2,7 a 4,9%) maiores, após análise aos 21 dias e 24 meses de fermentação a temperatura ambiente, quando comparados ao CB, além de ser um processo de baixo custo (SAALFELD et al., 2012a, 2012b).

Apesar da importância nutricional da SCB, essa apresenta uma população microbiana, vinda previamente do CB, entretanto alguns micro-organismos, como enterobactérias, leveduras e fungos contaminam o CB e consequentemente afetam o processo fermentativo da SCB por falta de cuidados no período pré e pós ordenha (FERREIRA, 2011). A SCB ao final do período fermentativo possui apenas BAL (SAALFELD et al., 2013), essas bactérias se utilizam da lactose presente no meio e hidrolisam em glicose e galactose. A glicose inicia a glicólise e a galactose é metabolizada pela via de Leloir, ambas são convertidas a ácido lático (NEVES et al., 2010; ALEKSANDRZAK-PIEKARCZYK, 2013), conforme ilustra a Figura 1.

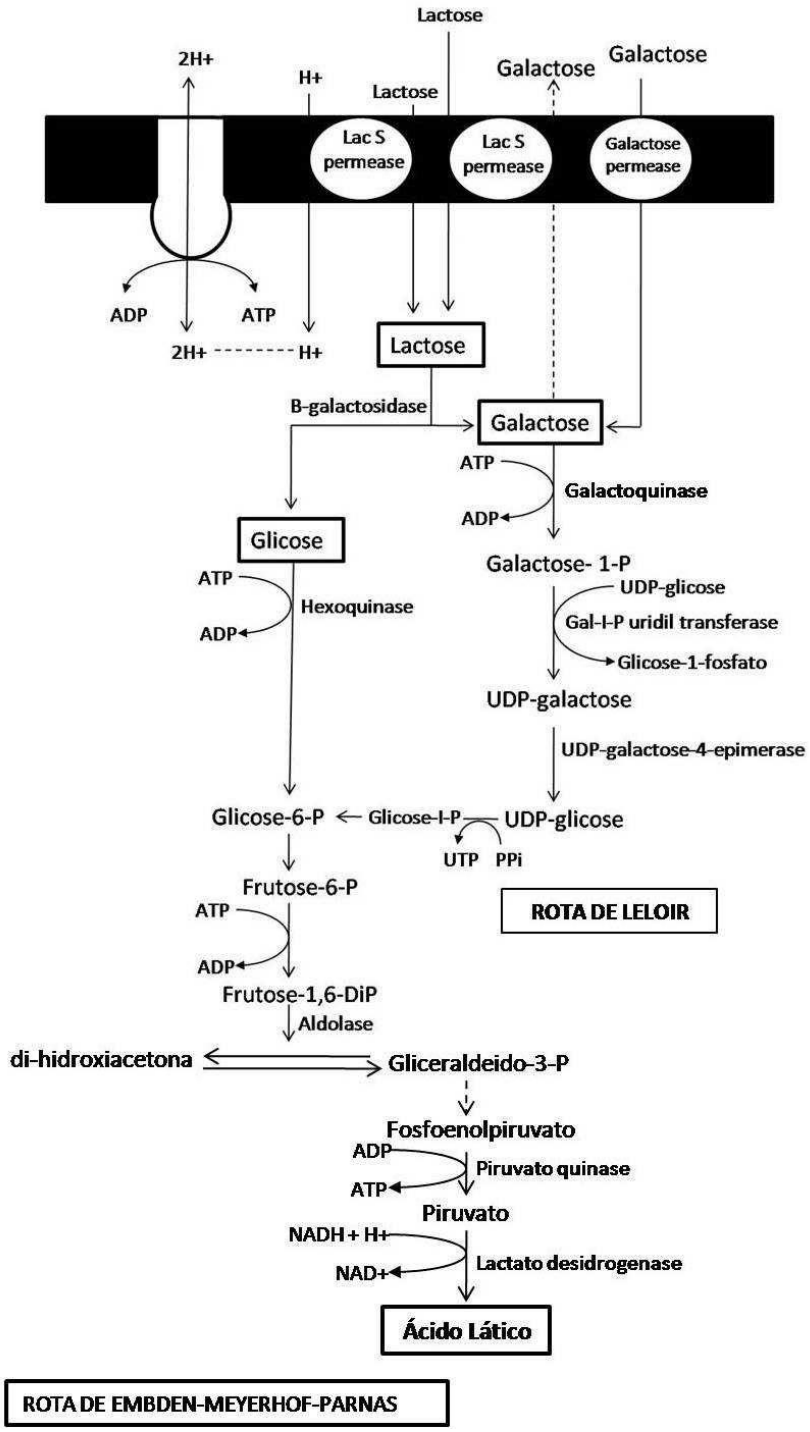


Figura 1 - Rota bioquímica da fermentação anaeróbia.
Fonte: Ferreira (2011).

Além disso, a SCB tem sido avaliada quanto ao ganho de peso diário do animal comparado ao leite ou outros substitutos lácteos (FERREIRA et al., 2013b; SAALFELD et al., 2013). Ferreira et al. (2013b) determinaram o desempenho e os parâmetros sanguíneos de 18 bezerros alimentados com 4 L de sucedâneo lácteo ou SCB. A SCB foi elaborada a temperatura ambiente durante 30 dias e diluída em água

(1:1) no momento do fornecimento aos animais. A SCB afetou significativamente o consumo de concentrado, quando comparado com o sucedâneo, com isso os animais alimentados com SCB ganharam peso a partir da quarta semana, enquanto os animais que receberam o sucedâneo lácteo ganharam peso a partir da terceira semana, somente a partir da quinta semana não houve diferença no ganho de peso entre os dois grupos de animais. O escore fecal foi afetado na segunda semana, os animais alimentados com o sucedâneo tinham maior escore comparado aos animais que consumiram SCB, apesar dos animais alimentados com SCB apresentarem fezes com aspecto anormal e muito secas e sintomas de dor abdominal. O β-hidroxibutirato, ácidos graxos livres, nitrogênio ureico e glicose foram significativos entre os tratamentos, exceto as proteínas totais. O β-hidroxibutirato demonstrou valores crescentes com o aumento da idade dos animais, os ácidos graxos livres apresentaram redução ao longo das semanas. A SCB como dieta exclusiva aos animais com concentração de lactose 1,1% resultou em baixos teores de glicose, abaixo do comportamento adequado para os animais em aleitamento. As proteínas totais foram afetadas significativamente pela idade dos animais. Por fim os autores sugerem que a SCB não seja utilizada como dieta exclusiva para bezerros em aleitamento.

Por outro lado, Saalfeld et al. (2013) avaliaram a SCB como alimento para 31 animais com cinco dias de vida (alimentados com CB do primeiro ao quinto dia), fornecendo 4,5 L de SCB e ao grupo controle foi fornecido leite integral, ambos fornecidos duas vezes ao dia até o décimo quarto dia, a partir do décimo quinto dia foi dado 3,5 L de leite e SCB, apenas uma vez no dia. A partir do sétimo dia os animais receberam 50 g dia^{-1} de ração comercial e essa quantidade foi dobrada a cada cinco dias até atingir 800 g dia^{-1}. A SCB foi fermentada por 21 dias e os recipientes abertos, homogeneizados e diluídos em água na proporção 1:1. Os animais foram pesados no nascimento e após 60 dias, o ganho de peso diário foi calculado pela diferença entre o peso final e inicial, dividido pelo número de dias entre o período de pesagens. Os ganhos de peso para animais alimentados com SCB foi 0,7 kg dia^{-1} tanto para machos, quanto para fêmeas, sendo significativamente maior, quando comparado com os animais que receberam leite.

Outro aspecto importante relacionado à SCB é a transferência de Ig, nesse sentido Saalfeld et al. (2014) analisaram as concentrações de Ig no CB fresco, SCB e a absorção pelos bezerros recém nascidos. Os teores das Ig na SCB de primeira

ordenha não diferiram significativamente do CB *in natura*, já no soro sanguíneo coletado no nascimento do animal as Ig estavam em concentrações menores do que na SCB e no CB. A SCB da terceira ordenha apresentou menor concentração de Ig, quando comparada com a SCB de primeira ordenha. Somente após 24 h do fornecimento do CB e da SCB os níveis de Ig estavam elevados, mas não houve diferença entre os grupos.

3.2 Silagem de colostro bovino

3.2.1 Composição físico-química da silagem de colostro bovino

Saalfeld et al. (2012b) avaliaram a composição físico-química da SCB aos 21 dias e aos 24 meses de fermentação a temperatura ambiente e obtiveram: matéria seca que variou de 17,9 a 23,3%, proteína de 6,3 a 14,4%, lipídios de 2,7 a 4,9%, pH de 3,7 a 4,3, ácido lático de 10,5 a 22,9% e lactose de 0 a 1%. Estes resultados destacam-se, quando comparados à avaliação da composição do CB (matéria seca: 26,1 a 14,1%, proteína: 16,7 a 6,9%, lipídios: 6,1 a 5,9%, pH: 6,4 a 6,3 e lactose: 2,7 a 3,4%), que apresentou diminuição ao longo do tempo para todos os constituintes analisados, exceto a lactose (SAALFELD et al., 2012a). O leite também apresenta níveis centesimais inferiores a SCB e ao CB (sólidos totais: 12,9%, lipídios: 4,0%, proteína: 3,1%, lactose: 5,0%, exceto os teores de lactose) (MARNILA; KORHONEN, 2011).

Ferreira et al. (2013a) determinaram a composição físico-química da SCB em diferentes temperaturas (17,4 a 21,5; 22,5 e 32,5 °C) até 35 dias de fermentação. As concentrações de lactose, lipídios, nitrogênio total, proteína e caseína foram reduzidas com o aumento da temperatura de fermentação, exceto a proteína não nitrogenada. A lactose e a caseína foram significativas a 32,5 °C, quando comparada com a temperatura de 17,4 a 21,5 e 22,5 °C, o nitrogênio total e a caseína mostraram diferença significativa nas três temperaturas avaliadas, enquanto a proteína não nitrogenada teve concentração significativamente maior na maior temperatura, quando comparada com as temperaturas mais amenas. Para todas as temperaturas avaliadas o pH decresceu com o aumento do tempo de fermentação, consequentemente a acidez titulável e a concentração de ácido láctico aumentaram. Para a acidez titulável e a concentração de ácido láctico as temperaturas de 17,4 a

21,5 e 22,5 °C não causaram diferença significativa, mas a temperatura de 32,5 °C foi significativamente menor quando comparada com as outras faixas de temperatura. Os teores de lactose diminuíram com o aumento do tempo de fermentação, enquanto os níveis de proteína não nitrogenada aumentaram para todas as temperaturas.

Ferreira (2011) avaliou a SCB fermentada (em ambiente escuro) a temperatura ambiente durante 56 dias, determinando pH, acidez titulável, teores de ácido lático, temperatura, nitrogênio total, nitrogênio não proteico, caseína, lactose, glicose e lipídios. O pH, a concentração de ácido lático e acidez titulável demonstraram efeito significativo ao longo do tempo de fermentação. Por outro lado, a temperatura do CB fermentado variou de 18,4 a 21,5 °C, sendo as maiores temperaturas após 21 dias de fermentação. O autor ainda concluiu que as variações na temperatura estão mais relacionadas à temperatura do ambiente onde é armazenada a SCB do que com a fermentação. Os parâmetros de lactose (média de 2,4%), glicose (média de 1,7%), nitrogênio total (média de 2,5%), proteína (média de 15,9%), caseína (média de 4,3%) e nitrogênio não proteico (média de 4,1%) foram significativos ao longo do tempo, exceto o teor de lipídios (média de 5,0%). Ainda foi possível observar que as maiores concentrações de glicose foram atingidas entre os dias 4 e 7 de fermentação e esses coincidem com o maior crescimento dos micro-organismos.

Saalfeld et al. (2013) realizaram a SCB durante 60 dias a temperatura ambiente, com a determinação dos teores de proteína, lactose, pH, matéria seca, cinzas, ácido lático e lipídios. A composição manteve ao longo da fermentação as concentrações de proteína (14,4 a 14,2%), matéria seca (22,4 a 17,5%) e lipídios (6,1 a 5,5%), houve redução da lactose (2,3% a não detectado) e do pH (6,5 a 4,0) e aumento do ácido lático (4,9 a 28,7%).

Pode-se observar que os estudos apresentam comportamentos diferentes, quanto à composição nutricional da SCB, essa diferença pode ser observada principalmente pelos diferentes tempos de fermentação, condições de fermentação e metodologias utilizadas nas determinações físico-químicas.

3.2.2 Micro-organismos na silagem de colostro bovino

A fermentação da SCB está diretamente relacionada aos micro-organismos presentes no decorrer desse processo, alguns estudos têm avaliado os organismos isolados do CB fermentado. Saalfeld et al. (2013) observaram a presença de

Lactobacillus spp. até 360 dias de fermentação, outros micro-organismos patogênicos foram identificados como: *Escherichia* spp., *Staphylococcus* spp., *Candida* spp. (até 7 dias de fermentação) e *Klesbsiella* spp. (apenas no CB, antes do início do processo fermentativo). As concentrações dos *Lactobacillus* spp. variaram de 6×10^{10} a $2,3\times10^{4}$ UFC mL^{-1}.

Gomide (2017) avaliou 75 SCB durante 30 dias de fermentação a temperatura ambiente e local protegido da incidência da luz, desses CB fermentados foi analisada a quantificação de coliformes totais, bactérias heterotróficas mesófilas, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e enterobactérias. As bactérias mesófilas e os coliformes apresentaram contagens que variaram de $8,7\times10^{3}$ a $1,9\times10^{3}$ e $4,5\times10^{-3}$ a $5,2\times10^{-3}$ UFC mL^{-1}, respectivamente, ambos mostraram diferença significativa quando comparados ao CB. Não houve diferença na contagem entre *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e enterobactérias. Além disso, 30,7% (23) das SCB apresentaram fermentação inadequada, possuindo coloração alterada, produção de gás e odor pútrido.

Resultados semelhantes foram obtidos por Azevedo et al. (2014), em que os autores puderam observar que a ordenha tem influência nas fermentações inadequadas. O CB proveniente de segunda e terceira ordenha para elaboração da SCB apresentou 90,5% de taxa de descarte, por apresentar aspecto e odor pútrido. Nessas SCB foi identificada a presença de: *Enterobacteriacea* (6,7%), *Staphylococcus* spp. (33,3%), fungos (86,7%) e *Lactobacillus* spp. (73,3%) e o pH dessas amostras foi maior (4,57), quando comparado com as fermentações adequadas. Somente a partir da décima ordenha a taxa de descarte foi inferior a 5% e foram isolados 100% de *Lactobacillus* spp. com média de pH em 3,9.

Ferreira (2011) realizou a contagem de enterobactérias, bactérias ácido láticas, leveduras e fungos da SCB fermentada a temperatura média de 18,4 a 21,5 °C por 56 dias. Os micro-organismos isolados foram bactérias ácido láticas (8,37 $\log_{10}$ UFC mL^{-1}), enterobactérias (4,69 $\log_{10}$ UFC mL^{-1}), leveduras (4,63 $\log_{10}$ UFC mL^{-1}), não houve crescimento de fungos e os organismos foram significativos pelo tempo de fermentação. A concentração inicial de BAL foi 4,78 $\log_{10}$ UFC mL^{-1} seguido de aumento significativo dessa população, que coincidiu com a redução do pH e aumento da concentração do ácido lático. Resultados similares foram atingidos por Ferreira et al. (2013a) avaliando a SCB fermentada durante 35 dias em diferentes temperaturas (17,4 a 21,5; 22,5 e 32,5 °C) e observaram que a temperatura de 32,5 °C reduziu a

contagem de BAL e enterobactérias, enquanto a temperatura ambiente (17,4 a 21,5 °C) favoreceu o desenvolvimento de micro-organismos na SCB.

O dia da ordenha do CB para produção da SCB, a temperatura de fermentação e os micro-organismos viáveis ao final da fermentação são alguns dos fatores que podem influenciar na composição final da SCB (FERREIRA et al., 2013a; SAALFELD et al., 2013; AZEVEDO et al., 2014). A temperatura de fermentação tem influência direta na velocidade de degradação de alguns componentes, como, a lactose, pH, acidez, ácido lático. Temperaturas mais altas (32,5 °C) causam concentrações físico-químicas menores, quando comparada à temperatura ambiente (17,4 a 21,5 e 22,5 °C) e também favorece o crescimento de organismos indesejáveis na SCB, como, por exemplo: fungos, leveduras, *Staphylococcus* spp. (FERREIRA et al., 2013a).

As BAL são micro-organismos conhecidos por serem organismos seguros, amplamente aplicadas em alimentos para consumo humano ou animal, são Gram-positivas, produtoras de ácido lático, não produzem catalase e são classificadas em quatro gêneros principais: *Lactobacillus* spp, *Lactococcus* spp., *Leuconostoc* spp. e *Pediococcus* spp. (LINDGREN; DOBROGOSZ, 1990; GOURAMA; BULLERMAN, 1995; DALIÉ; DESCHAMPS; RICHARD-FORGET, 2010). As BAL têm sido avaliadas na descontaminação de aflatoxinas (AFLA) (SEVIM et al., 2019; WOCHNER et al., 2019; GONÇALVES et al., 2020), micotoxinas produzidas principalmente por fungos do gênero *Aspergillus* e classificadas em B ($AFLAB_1$ e $AFLAB_2$) e G ($AFLAG_1$ e $AFLAG_2$) (CREPPY, 2002; PRANDINI et al., 2009).

A $AFLAM_1$ é resultante da hidroxilação da $AFLAB_1$, e é excretada na urina e/ou leite, quando animais consomem alimentos contaminados por $AFLAB_1$ (CREPPY, 2002). De acordo com a IARC (1993) a $AFLAB_1$ é considerada um carcinógeno humano do grupo 1, enquanto a $AFLAM_1$ é um provável carcinógeno humano, pertencendo ao grupo 2B (CREPPY, 2002). Outra problemática das AFLAs é devido a alta estabilidade aos métodos de processamento, como: pasteurização, fervura e esterilização (AWASTHI et al., 2012; FERNANDES et al., 2012; IHA et al., 2013) e alguns trabalhos relatam a ocorrência destas toxinas em leite ou derivados (GONÇALVES et al., 2018; SIBAJA et al., 2019; BECKER-ALGERI et al., 2020).

4 Manuscrito

O presente manuscrito está formatado de acordo com as normas da revista a qual foi submetido: *Food Chemistry* (fator de impacto: 6,306; ISSN: 0308-8146). O comprovante de submissão está no Anexo B deste trabalho.

Silagem de colostro bovino: características físico-químicas e microbiológicas em diferentes tempos de fermentação

Rosana Basso Kraus[a], Pedro Rassier dos Santos[b], Amanda Krummenauer[c], Kevin Eduardo Palhares[d], Helenice Gonzalez Lima[e], Silvia Regina Leal Ladeira[f], Giselda Maria Pereira[g], Giniani Carla Dors[h], Patrícia da Silva Nascente[b], Rafael Guerra Lund[a]

[a]Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Bioprospecção, Laboratório de Micologia e Bioprospecção, Departamento de Microbiologia e Parasitologia, Instituto de Biologia, Universidade Federal de Pelotas, 96010-900, Brasil

[b]Programa de Pós-Graduação em Microbiologia e Parasitologia, Laboratório de Micologia e Bioprospecção, Departamento de Microbiologia e Parasitologia, Instituto de Biologia, Universidade Federal de Pelotas, 96010-900, Brasil

[c]Programa de Pós-Graduação Residência em Medicina Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, 96010-900, Brasil

[d]Laboratório de Micologia e Bioprospecção, Departamento de Microbiologia e Parasitologia, Instituto de Biologia, Universidade Federal de Pelotas, 96010-900, Brasil

[e]Departamento de Veterinária Preventiva; Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, 96010-900, Brasil

[f] Laboratório Regional de Diagnóstico, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, 96010-900, Brasil

[g]Departamento de Matemática e Estatística, Instituto de Matemática e Física, Universidade Federal de Pelotas, 96010-900, Brasil

[h]Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, 96010-900, Brasil

*Autor correspondente: Prof. Rafael Guerra Lund – Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Bioprospecção, Universidade Federal de Pelotas, 96010-900, Brasil

E-mail: rafael.lund@gmail.com

Resumo

O objetivo foi relacionar a composição físico-química e microbiológica da silagem de colostro (n=21) em diferentes tempos de fermentação anaeróbia (períodos de 61 a 437 dias). As variáveis acidez, sólidos totais e proteína não afetaram significativamente ao longo do tempo de fermentação (grupo 1: 61 a 154, grupo 2: 200 a 273 e grupo 3: 280 a 437 dias). O teor de cinzas variou significativamente nos grupos 1 e 3, diminuindo com o aumento do tempo de fermentação. Foi observada correlação positiva entre os sólidos totais e os teores de proteína e de cinzas. Os gêneros de micro-organismos com maior ocorrência foram *Lactobacillus* spp. (95,2%) e de menor ocorrência *Escherichia* spp., *Actinomadura* spp., *Streptococcus* spp. e *Leuconostoc* spp. (4,8%). A presença de micro-organismos patogênicos sugere maior controle nas boas práticas no manejo e processamento para garantir a qualidade da SCB como alimento para os animais.

Palavras-chaves: colostro bovino, silagem de colostro, armazenamento do colostro, exame bacteriológico, qualidade

1 Introdução

O colostro bovino (CB) é o primeiro fluido produzido pós-parto (Solomons, 2002), cuja principal função é fornecer imunidade, aumentar o desempenho fisiológico e propiciar melhor crescimento e desenvolvimento ao animal recém-nascido (Hurley & Theil, 2011). A composição do CB é superior quando comparado à composição do leite para os teores de lipídios (CB 4,6 a 6,7% e leite 3,0%), proteína (CB 12,7 a 18,5% e leite 3,1%), lactose (CB 2,0 a 2,9% e leite 4,5 a 5,2%) e sólidos totais (CB 14,1 a 27,2% e leite 12,9%) (Morrill et al., 2012; Saalfeld et al., 2013; Mourad et al., 2014; Zarei et al., 2017). Além disso, destaca-se a presença de imunoglobulinas, lactoferrinas, lisozima, leucócitos, citocinas entre outros fatores imunomoduladores. É importante notar que a composição físico-química do CB difere de acordo com a raça dos animais e ao longo dos dias em que é excretado (Marnila & Korhonen, 2011; Morrill et al., 2012).

Entretanto, alguns ruminantes recém-nascidos não conseguem ter acesso ao colostro de suas mães imediatamente após o nascimento, devido a: múltiplos partos, mastite aguda, não adaptação materna, especialmente no primeiro nascimento, entre outros (Wereme et al., 2001). Portanto, é necessário criar um banco de colostro para bezerros recém-nascidos que não podem ser alimentados pelas próprias mães imediatamente após o nascimento e para a preparação de produtos de colostro imune que possam ser usados como suplementos alimentares ou substitutos do colostro para fornecer proteção eficaz contra diferentes doenças entéricas em bezerros e humanos (Alexieva, Markova, & Nikolova, 2004).

Além disso, vacas leiteiras produzem mais colostro do que seus próprios bezerros podem consumir (El-Fattah et al., 2014), e a concentração de imunoglobulina (Ig) colostral é maior na primeira ordenha pós-parto e diminuem rapidamente com o tempo (Alexieva, Markova, & Nikolova, 2004). O CB pode ser armazenado sob refrigeração, por até 91 dias (Ramya, Ramasamy, & Dhineshkumar, 2016), para manter as suas características químicas, porém esse método de armazenamento envolve gastos com equipamentos e consumo de energia elétrica e afeta a concentração de Ig.

Alguns métodos de preservação do CB já foram investigados: esterilização comercial, pasteurização, congelamento, liofilização (El-Fattah et al., 2014), evaporação a vácuo, micro-ondas, *spray drying* (Chelack, Morley, & Haines, 1993), refrigeração (Ramya, Ramasamy, & Dhineshkumar, 2016), conservantes químicos (Muller & Smallcomb, 1977), secagem (Borad & Singh, 2018), filtração por membrana, ultrafiltração, microfiltração, alta pressão (Gosch et al., 2014), campo elétrico pulsado (Li, Bomser, & Zhang, 2005) e irradiação (Pereira et al., 2014). Essas técnicas têm a vantagem de preservar o CB por um determinado período de tempo que variam de 21 dias a 3 meses, mas tem como principais desvantagens as alterações físico-químicas, a destruição dos componentes nutricionais (Borad & Singh, 2018), o custo e a necessidade de equipamentos.

A fermentação anaeróbia do CB, denominada silagem de colostro bovino (SCB), é um método de conservação que vem sendo estudado e utilizado (Ferreira et al., 2013; Saalfeld et al., 2013; Azevedo et al., 2014), por permitir o armazenamento por períodos de até dois anos, além de ser um processo

simples, de baixo custo, que não requer refrigeração, congelamento ou uso de aditivos, podendo ser utilizado na alimentação dos bezerros (Saalfeld et al., 2013). Além disso, a SCB fornece a transferência de imunoglobulina aos bezerros de forma similar ao CB *in natura* (Saalfeld et al., 2014).

O objetivo deste trabalho foi relacionar a composição físico-química e microbiológica da silagem de colostro em diferentes tempos de fermentação.

2 Materiais e métodos

2.1 Colostro bovino

As amostras de CB foram obtidas de animais da raça Jersey (n = 21) em uma propriedade leiteira. A propriedade é localizada na cidade de Pelotas, estado do Rio Grande do Sul, Brasil. As coletas foram realizadas no período de Março de 2018 a Abril de 2019. Na Tabela 1, estão demonstrados os dados da composição e da contagem de células somáticas (CSS) do leite obtido do mesmo animal após o término da produção do colostro.

2.2 Silagem de CB

As amostras de colostro bovino (n = 21) foram colocadas em garrafas de plástico de 500 mL, armazenadas verticalmente em ambiente seco com luz natural (claro/escuro), e fermentadas anaerobicamente durante o período apresentado na Tabela Suplementar S1 (mínimo de 61 dias e máximo de 437 dias). A Tabela Suplementar S1 também apresenta as informações dos animais. A Tabela Suplementar S2 mostra a temperatura média em cada período de fermentação.

2.3 Preparo das amostras para as análises físico-químicas e microbiológicas

Logo após o período de fermentação, as amostras de silagem de colostro bovino foram retiradas dos recipientes, homogeneizadas em blender durante 30 s, transferidas para recipientes plásticos estéreis de 80 mL e armazenadas a -4 °C, até o momento das análises.

2.4 Análises físico-químicas e microbiológicas

Foram avaliados os seguintes parâmetros da composição físico-química da silagem: acidez (n.º 427/IV), proteína (n.º 037/IV), sólidos totais (n.º 429/IV) e cinzas (n.º 437/IV), utilizando os métodos do Instituto Adolfo Lutz (2008). As análises físico-químicas foram realizadas em duplicata.

A análise microbiológica foi desenvolvida de acordo com o método proposto por Saalfeld et al. (2013), com adaptações relacionadas aos meios de cultivo e a técnica de identificação. A silagem de colostro bovino foi semeada nos meios de cultivo: ágar Chapman (Kasvi, Brasil), ágar MacConkey (Himedia, France) e ágar Brain Heart Infusion (Kasvi, Brasil). Em seguida, as placas foram incubadas a 37 °C durante 72 h em aerobiose. Em seguida, os micro-organismos isolados foram identificados, utilizando a técnica de coloração de Gram e provas bioquímicas (Barrow & Feltham, 1993). A identificação presuntiva dos *Lactobacillus* spp. foi realizada em ágar seletivo para *Lactobacillus* (Acumedia, EUA), apenas observando o crescimento ou não desses micro-organismos.

Para o leite obtido após o término da produção de CB, as análises foram realizadas pelo Laboratório de Qualidade do Leite da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária Clima Temperado

(EMBRAPA), e os teores de gordura, proteína, sólidos totais e lactose do leite foram determinados por espectrofotometria em infravermelho próximo (IDF Standart 141C;2000), e a contagem de células somáticas (CCS) por citometria de fluxo (IDF Standart 148-2;2006) de acordo com os métodos Internacionais da Federação Internacional de Laticínios (IDF, International Dairy Federation).

2.5 Análise estatística

Para responder a influência do tempo de fermentação (grupo 1: 61 a 154, grupo 2: 200 a 273 e grupo 3: 280 a 437 dias) sobre as variáveis acidez, sólidos totais, proteína e cinzas, foi utilizada a análise de variância de Kruskal Wallis, pós-teste de Dunn e correlação de Spearman. Para avaliar a relação entre o teor de acidez (grupo 1: 7,5 a 19, grupo 2: 21 a 26,5 e grupo 3: 29 a 35 °D) e os gêneros dos micro-organismos identificados foi utilizado o método de Kruskal Wallis. As análises estatísticas foram realizadas no programa BioEstat e no Ambiente R, com nível de significância de 95% ($P<0,05$).

3 Resultados e Discussão

Este estudo foi o primeiro a comparar os parâmetros físico-químicos e microbiológicos da qualidade do leite com os obtidos na silagem de colostro bovino em diferentes intervalos de fermentação. Cabe destacar que, as amostras de CB foram adquiridas diretamente com os produtores de leite e, estas representam o manejo realizado no cotidiano destes produtores. Por este motivo, optou-se pela não realização de um planejamento experimental com tempo e temperaturas definidas, visto que o desenvolvimento da SCB nas propriedades ocorre à temperatura ambiente e pelo tempo que o produtor necessitar.

3.1 Análises físico-químicas

A Tabela 2 apresenta a composição físico-química da SCB nos diferentes tempos de fermentação. O teor de acidez variou de 10,5 a 33,5 °D; 11,5 a 35 °D e 8 a 30 °D, com médias de 20,8; 22,7 e 20,8 °D nos grupos 1, 2 e 3 (61 a 154, 200 a 273 e 280 a 437 dias), respectivamente. Os teores de proteína obtidos foram de 5,1 a 13,2%; 4,3 a 14% e 3,5 a 13,7%, com médias de 10,9; 9,5 e 7,3% nos grupos 1, 2 e 3 (61 a 154, 200 a 273 e 280 a 437 dias), respectivamente. Os sólidos totais atingiram percentuais de 8,1 a 22,3%; 8 a 21% e 6,8 a 19,5%, com médias de 16,7; 14,2 e 11,6% nos grupos 1, 2 e 3 (61 a 154, 200 a 273 e 280 a 437 dias), respectivamente. As cinzas variaram de 1,19 a 1,33%; 1,03 a 1,29% e 0,45 a 1,27%, com médias de 1,29; 1,17 e 0,98% nos grupos 1, 2 e 3 (61 a 154, 200 a 273 e 280 a 437 dias), respectivamente.

As médias dos grupos de tempo de fermentação mostram que a acidez aumenta até o tempo fermentativo do grupo 2 (200 a 273 dias), seguido de uma redução no grupo 3 (280 a 437 dias) e os percentuais de proteína, sólidos totais e cinzas diminuíram ao longo dos grupos de tempo de fermentação. Saalfeld et al. (2013) realizaram a SCB com 60 dias de fermentação anaeróbia e os percentuais de lipídios, proteína, matéria seca e cinzas se mantiveram no decorrer do período que foram avaliados. Azevedo et al. (2014) avaliaram a influência do dia da ordenha do CB na fermentação da SCB e o CB obtido de segunda e terceira ordenha apresentou taxa de descarte da SCB de 90,5%, devido

aos micro-organismos oriundos do CB que causam aparência e odor pútrido, expansão ou mesmo ruptura da embalagem, devido à alta produção de gases. Portanto, as fermentações inadequadas favorecem o crescimento de organismos patogênicos, além das bactérias ácido láticas e a temperatura da fermentação influencia na velocidade de degradação de alguns parâmetros, como, pH, ácido lático, acidez, lactose. Visto que, temperaturas mais elevadas (32,5 °C) causam menores teores físico-químicos, quando comparada a temperatura ambiente (17,4 a 21,5 e 22,5 °C) e favorece o crescimento de micro-organismos patogênicos (Ferreira et al., 2013). O presente trabalho mostra uma variação nos resultados de acidez, proteína, sólidos totais e cinzas, e esse comportamento pode estar relacionado ao maior período fermentativo e as condições de fermentação e do CB.

Os diferentes grupos de tempo de fermentação (grupo 1: 61 a 154, grupo 2: 200 a 273 e grupo 3: 280 a 437 dias) comparados com as variáveis acidez, sólidos totais e proteínas não foram observadas diferenças significativas ($P>0,05$) (Tabela 3). Isso significa dizer que esses componentes não foram influenciados pelos grupos do tempo de fermentação. Foi observada diferença significativa no teor de cinzas ($P<0,05$) nos grupos 1 e 3 (61 a 154 dias e 280 a 437 dias, respectivamente), diminuindo (correlação moderada negativa de -0,63) com o aumento do tempo de fermentação. Verificando a influência entre as variáveis estudadas e o tempo de fermentação (grupo 1: 61 a 154, grupo 2: 200 a 273 e grupo 3: 280 a 437 dias), observou-se que os sólidos totais (0,77) e o percentual de proteína (0,76) obtiveram uma correlação positiva com o teor de cinzas, indicando que à medida que a concentração de cinzas aumenta, também aumentam os sólidos totais e a proteína. Ainda há uma correlação positiva (0,85) entre a proteína e os sólidos totais, pois à medida que a concentração de proteína aumenta, os sólidos totais aumentam. Este comportamento já era esperado e pode ser observado em processos fermentativos que utilizam o leite, como o iogurte e o leite fermentado (Souza et al., 2013; Andrade et al., 2015).

Os estudos disponíveis na literatura sobre a SCB utilizam tempos de fermentação mais curtos (Ferreira et al., 2013; Saalfeld et al., 2013), por isso a composição físico-química não se comportou de maneira semelhante ao presente estudo. Além disso, a temperatura de fermentação também influencia nas concentrações físico-químicas. A temperatura de 32,5 °C resultou em taxas menores e maior redução do pH, acidez e concentração de ácido lático, porém o armazenamento da SCB a 22,5 °C ou temperatura ambiente (17,4 a 21,5 °C) resultou em concentrações maiores (Ferreira et al., 2013).

Relacionando a composição físico-química do leite obtido após a produção do CB com os parâmetros de qualidade do leite dados na Instrução Normativa de números 76 e 77 de 2018 (BRASIL, 2018a, 2018b), é possível afirmar que das 21 amostras de leite somente uma amostra não atendeu os requisitos para os teores de lipídios, proteína e sólidos totais, e duas amostras não apresentaram a concentração mínima de lactose, e que todas as amostras estavam dentro dos limites estabelecidos para a CCS.

3.2 Análises microbiológicas

A Tabela Suplementar S3 apresenta a identificação dos micro-organismos isolados na SCB nos diferentes intervalos de fermentação. Foi possível observar que o *Lactobacillus* spp. foi isolado em 20 das 21 silagens, além disso de 61 a 200 dias de fermentação os micro-organismos identificados foram *Staphylococcus* spp., *Lactobacillus* spp., *Escherichia* spp., *Enterococcus* spp. e *Bacillus* spp.. A partir de 220 a 273 dias houve o aparecimento de outros gêneros de organismos, como: *Corynebacterium* spp. e os gêneros *Staphylococcus* spp. e *Lactobacillus* spp. ainda mantiveram crescimento. Dos 280 a 437 dias identificou-se *Actinomadura* spp., *Leuconostoc* spp., *Lactococcus* spp., e *Streptococcus* spp. e ainda mantiveram-se *Staphylococcus* spp., *Lactobacillus* spp., *Corynebacterium* spp., e novamente identificou-se a presença de *Bacillus* spp. e *Enterococcus* spp. como no período de 61 a 200 dias.

Os gêneros de micro-organismos com maior ocorrência foram *Lactobacillus* spp. (95,2% das SCB) e de menor ocorrência *Escherichia* spp., *Actinomadura* spp., *Streptococcus* spp. e *Leuconostoc* spp. (4,8% das SCB), como pode ser observado na Figura 1. Foi observada redução do número de gêneros de micro-organismos isolados da SCB, porém não foi possível observar diferença significativa (P>0,05) entre os grupos de acidez (grupo 1: 7,5 a 19, grupo 2: 21 a 26,5 e grupo 3: 29 a 35 °D).

Azevedo et al., (2014) relataram a ocorrência de Enterobacteriacea, *Staphylococcus* spp. e fungos em algumas SCB fermentadas durante 33 dias a 25 °C. Ferreira et al., (2013) observaram menor contagem de bactérias ácido láticas e Enterobacteriacea quando a fermentação foi realizada em temperaturas mais elevadas (32,5 °C) e a temperatura ambiente (17,4 a 21,5 °C) influenciou significativamente o desenvolvimento de micro-organismos na SCB.

Nossos resultados não puderam ser comparados com os resultados de Saalfeld et al. (2016), pois de acordo com a metodologia utilizada naquele estudo, o colostro foi inoculado com a bactéria para verificar se a fermentação do CB inibia o crescimento microbiano e, neste estudo, isolamos as bactérias do colostro recém fermentado.

As condições de higiene antes e após a ordenha também influenciam na redução da contaminação microbiana, por meio do uso de desinfetantes, como, a clorexidina na limpeza dos tetos dos animais, seguido da secagem com material descartável (Gleeson et al., 2009). A CSS também é um indicativo da presença de micro-organismos, visto que esse parâmetro é indicativo de um processo inflamatório (Vieira et al., 2021).

A presença de organismos patogênicos, como *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Corynebacterium* spp. na SCB deve ser limitada, porém não existe legislação em vigor no Brasil para o CB ou a SCB. Além disso, todas as amostras do leite estavam dentro dos limites estabelecidos para a CCS e, portanto o leite obtido de um modo geral atendeu as legislações vigentes. A Instrução Normativa de número 76 (BRASIL, 2018a) limita contagens bacterianas e de células somáticas para o leite e pode ser utilizada como base para o controle de micro-organismos no CB e na SCB. Entretanto, os cuidados prévios e posteriores a ordenha são essenciais para evitar a contaminação microbiana do CB, da SCB e do leite (Ferreira et al., 2013). Encontraram-se limitações quanto às determinações físico-química e

microbiológicas, devido à ausência de metodologias padronizadas para o CB e SCB e, por este motivo utilizou-se métodos aplicados no leite.

4 Conclusões

A composição físico-química da SCB é superior ao leite, com relação à proteína e sólidos totais usando como parâmetro os níveis de qualidade do leite. O teor de cinzas diminuiu com o aumento do tempo de fermentação e houve uma correlação entre o percentual de cinzas, os sólidos totais e a proteína. A presença de micro-organismos patogênicos pode ocorrer e deve ser levada em consideração, uma vez que a SCB será fornecida aos animais, havendo a necessidade de maior controle na obtenção do colostro, bem como nas condições de fermentação anaeróbia. Assim, recomenda-se a utilização de temperaturas amenas (17 a 22,5 °C) durante 35 dias para a realização da silagem e reforça-se o controle das práticas de limpeza e higiene antes e depois da ordenha.

Agradecimentos

Os autores agradecem financiamento em parte pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código Financeiro 001 e a Universidade Federal de Pelotas (UFPel).

Referências bibliográficas

Alexieva, B., Markova, T., Nikolova, E. (2004). Bovine colostrum – The promising nutraceutical. *Czech Journal Food Sciences*, 22, 73-79. https://doi.org/10.17221/3409-CJFS.

Andrade, E. H. P., Silva, N. M. A., Resende, M. F. S., Souza, M. R. , Fonseca, L. M., Cerqueira, M. M. O. P., Penna, C. F. A. M., Leite, M. O. (2015). Microbiological and physical-chemical characteristics of fermented milk beverages. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 67, 1735-1742. https://doi.org/10.1590/1678-4162-8066.

Azevedo, R. A., Guimarães, F., Viegas, C. R., Almeida, P. N. M., Geraseev, L. C., Pinto, M. S., Glória, J. R., Duarte, E. R. (2014). Silagem de colostro: riscos microbiológicos e caracterização do pH em função do dia de coleta. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, 36, 271–276. http://rbmv.org/index.php/BJVM/article/view/533.

Barrow, G. I., Feltham, R. K. A. (1993). *Cowan and Steel's Manual for the identification of medical bacteria.* In *Cowan and Steel's Manual for the identification of medical bacteria.* (pp. 50 – 164). Cambridge University Press, United Kingdom, UK.

Borad, S. G., Singh, A. K. (2018). Colostrum immunoglobulins: processing, preservation and application aspects. *International Dairy Journal*, 85, 201–210. https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2018.05.016.

Brasil.(2018a). Instrução Normativa (IN) número 76, de 26 de Novembro de 2018. Regulamento técnico de identidade e qualidade de leite cru refrigerado. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Retirado em http://sistemasweb.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=consultarLegislacaoFederal. Acessado em 17 Julho 2020.

Brasil. (2018b). Instrução Normativa (IN) número 77, de 26 de Novembro de 2018. Critérios e procedimentos para a produção, acondicionamento, conservação, transporte e recepção do leite cru em estabelecimentos registrados no serviço de inspeção oficial. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Retirado em: http://sistemasweb.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=consultarLegislacaoFederal. Acessado em: 17 Julho 2020.

Chelack, B. J., Morley, P. S., Hainess, D. M. (1993). Evaluation of methods for dehydration of bovine colostrum for total replacement of normal colostrum in calves. *Canadian Veterinary Journal*, 34, 407–412. PMID: 17424250.

EAPEL (Estação Agroclimatológica de Pelotas). (2020). Boletim Agroclimatológico, Laboratório de Agrometeorologia. Retirado em: http://agromet.cpact.embrapa.br/estacao/boletim.php. Acessado em: 26 Agosto 2020.

El-Fattah, A. M. A., Rabo, F. H. R. A., El-Dieb, S. M., El-Kashef, H. A. S. (2014). Preservation methods of buffalo and bovine colostrum as a source of bioactive components. *International Dairy Journal*, 39, 24–27. https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2014.04.008.

Ferreira, L. S., Silva, J. T., Paula, M. R., Soares, M. C., Bittar, C. M. M. (2013). Colostrum silage: fermentative, microbiological and nutritional dynamics of colostrum fermented under anaerobic conditions at different temperatures. *Acta Scientiarum*, 35, 395-401. https://doi.org/10.4025/actascianimsci.v35i4.19870.

Gleeson, D., O'Brien, B., Flynn, J., O'Callaghan, E., Galli, F. (2009). Effect of pre-milking teat preparation procedures on the microbial count on teat prior to cluster application. *Irish Veterinary Journal*, 7, 461-467. https://doi.org/10.1186/2046-0481-62-7-461.

Gosch, T., Apprich, S., Kneifel, W., Novalin, S. (2014). A combination of microfiltration and high pressure treatment for the elimination of bacteria in bovine colostrum. *International Dairy Journal*, 34, 41–46. http://dx.doi.org/10.1016/j.idairyj.2013.06.014.

Hurley, W. L., Theil, P. K. (2011). Perspectives on immunoglobulins in colostrum and milk. *Nutrients*, 3, 442–474. https://doi.org/10.3390/nu3040442.

Instituto Adolfo Lutz. (2008). *Métodos físico-químicos para análise de alimentos.* In *Métodos físico-químicos para análise de alimentos.* (pp. 819–877). Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, Brasil. Retirado em http://www.ial.sp.gov.br/resources/editorinplace/ial/2016_3_19/analisedealimentosial_2008.pdf. Acessado em 17 Julho 2020.

International Dairy Federation. (2000). *International Standard 141C:2000 Whole milk - determination of milk fat, protein and lactose content.* In *Guidance on the operation of mid-infrared instruments.* Brussels, Belgium.

International Dairy Federation. (2006). *Milk - enumeration of somatic cells.* In *Part 2: Guidance on the operation of fluoro-opto-electronic counters.* Brussels, Belgium.

Li, S., Bomser, J. A., Zhang, Q. H. (2005). Effects of pulsed electric fields and heat treatment on stability and secondary structure of bovine immunoglobulin G. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 663-670. https://doi.org/10.1021/jf048923r.

Marnila, P., H. Korhonen. (2011). *Milk / Colostrum.* In Encyclopedia of Dairy Sciences (pp.591–597). 2 ed. Finland, UE. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374407-4.00322-8.

Morrill, K. M., Conrad, E., Lago, A., Campbell, J., Quigley, J., Tyler, H. (2012). Nationwide evaluation of quality and composition of colostrum on dairy farms in the United States. *Journal of Dairy Science*, 95, 3997–4005. https://doi.org/10.3168/jds.2011-5174.

Mourad, G., Bettache, G., Samir, M. (2014). Composition and nutritional value of raw milk. *Issues in Biological Sciences Pharmaceutical Research*, 2, 115–122. http://dx.doi.org/10.15739/ibspr.005.

Muller, L. D., Smallcomb, J. (1977). Laboratory evaluation of several chemicals for preservation of excess colostrum. *Journal of Dairy Science*, 60, 627–631. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(77)83911-8.

Pereira, R. V., Bicalho, M. L., Machado, V. S., Lima, S., Teixeira, A. G., Warnick, L. D., Bicalho, R. C. (2014). Evaluation of the effects of ultraviolet light on bacterial contaminants inoculated into whole milk and colostrum, and on colostrum immunoglobulin G. *Journal of Dairy Science*, 97, 2866-2875. https://doi.org/10.3168/jds.2013-7601.

Ramya, S. B., Ramasamy, D., Dhineshkumar, V. (2016). Effects of refrigeration, deep freezing-spray drying and pasteurization on lgG bovine colostrum preservation. *International Journal Dairy Processing Research*, 3, 35–37. http://dx.doi.org/10.19070/2379-1578-160010.

Saalfeld, M. H., Pereira, D. I. B., Silveira, K. R. K., Schramm, R., Valente, J. S. S., Borchardt, J. L., Gularte, M. A., Leite, F. P. L. (2013). Anaerobically fermented colostrum: an alternative for feeding calves. *Revista Ciência Rural*, 43, 1636–1641. https://doi.org/10.1590/S0103-84782013000900016.

Saalfeld, M. H., Pereira, D. I. B., Borchardt, J. L., Sturbelle, R. T., Rosa, M. C., Guedes, M. C., Gularte, M. A., Leite, F. P. L. (2014). Evaluation of the transfer of immunoglobulin from colostrum anaerobic fermentation (colostrum silage) to newborn calves. *Animal Science Journal*, 85, 963-967. https://doi.org/10.1111/asj.12229.

Saalfeld, M. H., Pereira, D. I. B., Valente, J. S. S., Borchardt, J. L., Weissheimer, C. F., Gularte, M. A., Leite, F. P. L. (2016). Effect of anaerobic bovine colostrum fermentation on bacteria growth inhibition. *Revista Ciência Rural*, 46, 2152-2157. http://dx.doi.org/10.1590/0103-8478cr20160393.

Solomons, N. W. (2002). Modulation of the imune system and the response against pathogens with bovine colostrum concentrates. *European Journal Clinical Nutrition*, 56, S24–S28. https://doi.org/10.1038/sj.ejcn.1601480.

Souza, A. H. P., Costa, G. A. N., Miglioranza, L. H. S., Furlaneto-Maia, L., Oliveira, A. F. (2013). Microbiological, physical, chemical and sensory chracteristics of milk fermented with *Lactobacillus plantarum*. *Acta Scientiarum*, 35, 125-131. https://doi.org/10.4025/actascihealthsci.v35i1.11939.

Vieira, R. K. R., Rodrigues, M., Santos, P. K. S., Medeiros, N. B. C., Cândido, E. P., Nunes-Rodrigues, M. D. (2021). The effects of implementing management practices on somatic cell count levels in bovine milk. *Animal*, 1-6. https://doi.org/10.1016/j.animal.2021.100177.

Wereme, A. N., Strabel, M., Grongnet, J., Piot, M. (2001). Immunoglobulin G absorption from pooled maternal colostrum, commercial poder and freeze-dried colostrum by newborn calves. *Animal Research*, 50, 315-323. https://doi.org/10.1051/animres:2001133.

Zarei, S., Ghorbani, G. R., Khorvash, M., Martin, O., Mahdavi, A. H., Riasi, A. (2017). The impact of season, parity, and volume of colostrum on Holstein dairy cows colostrum composition. *Agricultural Sciences*, 8, 572–581. https://doi.org/10.4236/as.2017.87043.

Tabelas e Figuras

Tabela 1. Composição físico-química e contagem de células somáticas do leite produzido após o CB pelos animais da raça Jersey (n = 21) na propriedade leiteira localizada na região sul do Brasil, na cidade de Pelotas

Animais	Lipídios (%)	Proteína (%)	Lactose (%)	Sólidos totais (%)	CCS (× 1000 células/ mL)
S	3,6	3,1	4,4	12,0	15
Q	4,2	3,5	4,3	12,9	12
R	3,9	3,3	4,7	12,7	35
U	3,1	3,5	4,4	12,0	21
T	3,7	3,5	4,6	12,8	175
C	-	-	-	-	-
N	-	-	-	-	-
P	-	-	-	-	-
K	3,8	2,9	4,4	11,9	686
L	0,8	2,8	4,6	9,1	409
O	3,2	3,1	4,7	11,9	215
G	4,3	3,7	4,4	13,35	35
H	-	-	-	-	-
E	3,2	3,0	4,7	11,8	271
I	4,0	3,0	4,5	12,4	13
F	3,7	4,0	4,1	12,9	6445
J	3,1	3,7	4,5	12,3	318
D	3,6	3,0	5,0	12,6	67
M	3,3	3,6	4,5	12,4	104
A	-	-	-	-	-
B	4,1	3,0	4,4	12,5	25

[1]O animal 1 veio a óbito, após o parto.
[2]Os animais 3, 8, 14 e 16 não foi possível obter dados da composição e CCS com o produtor.
[3]CB - colostro bovino.
[4]CCS – contagem de células somáticas.

Tabela 2. Composição físico-química da SCB oriunda da fermentação do CB de animais da raça Jersey (n = 21) na propriedade leiteira localizada na região sul do Brasil, na cidade de Pelotas

Animais	Tempo fermentativo das SCB (dias)	Acidez (°D)	Proteína (%)	Sólidos totais (%)	Cinzas (%)
S	61	17,5±2,1	13,1±0,2	18,0±0,2	1,32±0,18
Q	78	10,5±2,1	11,0±0,1	22,3±0,2	1,31±0,27
R	104	19,0±1,4	12,3±0,2	16,3±0,2	1,29±0,13
U	148	23,5±0,7	5,1±0,1	8,1±0,2	1,19±0,17
T	154	33,5±2,1	13,2±0,4	19,0±0,1	1,33±0,23
C	200	11,5±0,7	10,6±0,5	14,1±0,2	1,09±0,13
N	220	15,5±2,1	12,2±0,8	17,1±0,2	1,28±0,06
P	220	24,5±3,5	12,0±0,2	16,1±0,1	1,29±0,14
K	233	26,5±6,4	13,0±1,1	19,8±0,1	1,25±0,06
L	245	21,0±0,0	4,3±0,1	9,1±0,1	1,11±0,16
O	247	18,5±0,7	4,7±0,3	8,0±0,1	1,07±0,08
G	262	35,0±7,1	5,1±0,8	8,6±0,0	1,03±0,16
H	273	29,0±1,4	14,0±0,7	20,9±0,3	1,28±0,25
E	280	21,0±2,8	4,9±0,2	8,7±0,3	1,04±0,06
I	293	26,5±0,7	3,5±0,7	6,8±0,2	0,55±0,07
F	303	8,0±0,0	13,7±0,6	19,5±0,2	1,27±0,17
J	306	21,0±0,0	4,8±0,1	7,9±0,1	1,11±0,16
D	311	26,5±2,1	3,5±0,8	7,0±0,1	0,45±0,07
M	314	25,5±2,1	4,3±0,3	8,95±0,2	1,13±0,16
A	380	7,5±0,7	11,2±1,1	14,7±0,1	1,02±0,04
B	437	30,0±0,0	12,1±0,2	19,1±0,1	1,24±0,13

[1]média±desvio padrão.
[2]SCB silagem de colostro bovino.

Tabela 3. Análise de variância das concentrações de proteína, cinzas, sólidos totais e acidez em diferentes tempos fermentativos da SCB

Parâmetros		GL	SQ	QM	F	P
Acidez	Tratamento	2	18,23	3	0,14	0,87
	Resíduo	18	1207,77	2		
	Total	20	1226,00	1		
		GL	SQ	QM	F	P
Proteína	Tratamento	2	45,21	3	1,40	0,27
	Resíduo	18	291,50	2		
	Total	20	336,71	1		
		GL	SQ	QM	F	P
Sólidos totais	Tratamento	2	84,41	3	1,52	0,25
	Resíduo	18	499,10	2		
	Total	20	583,50	1		
		GL	SQ	QM	F	P
Cinzas	Tratamento	2	0,33	3	3,91	0,04
	Resíduo	18	0,76	2		
	Total	20	1,09	1		

[1]SCB - silagem de colostro bovino.
[2]GL – graus de liberdade.
[3]SQ – soma quadrática.
[4]QM – quadrados médios.
[5]F – valor de F.
[6]P<0,05é significativo.

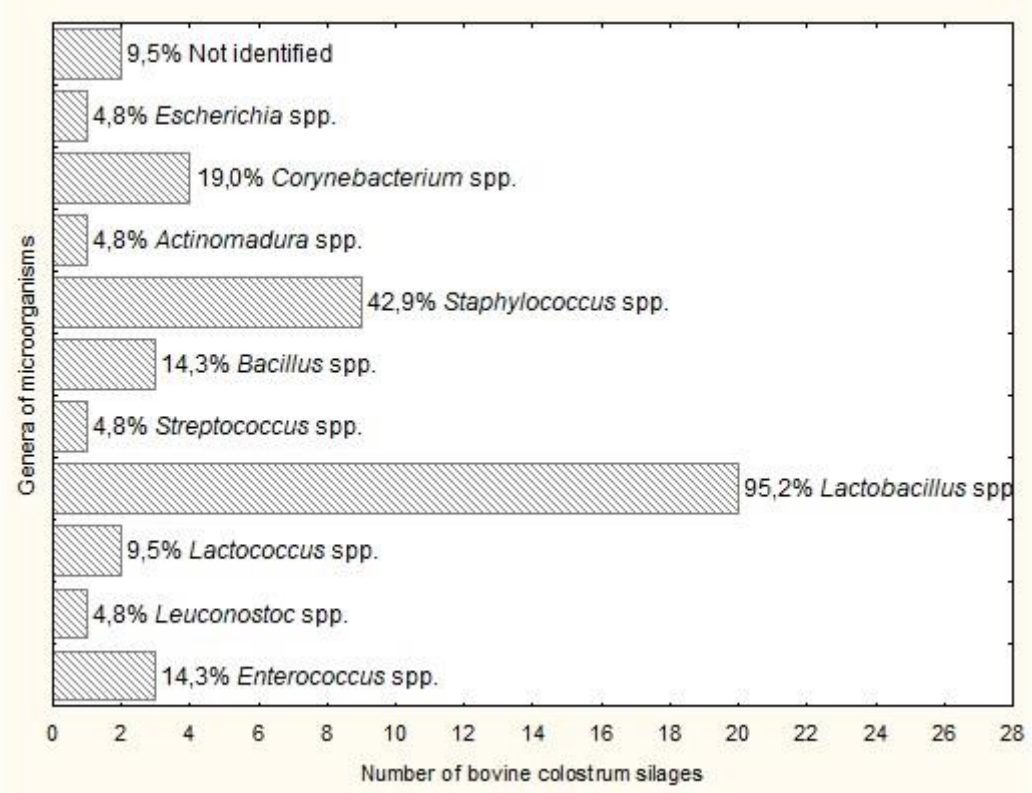


Figura 1. Gêneros de micro-organismos isolados da SCB em diferentes tempos fermentativos

Highlights

1. Os *Lactobacillus* spp. estavam presentes nas silagens de colostro bovino até 437 dias.

2. Primeiro estudo que compara os parâmetros físico-químicos da qualidade do leite com a silagem de colostro.

3. Neste estudo, as determinações microbiológicas foram obtidas a partir da fermentação do colostro *in natura*.

4. Correlação não significativa entre o grau de acidez e o número de espécies bacterianas.

Contribuição dos autores:

Rosana Basso Kraus: Execução das metodologias, pesquisa e escrita do manuscrito.

Pedro Rassier dos Santos: Preparo das amostras, análises microbiológicas.

Amanda Krummenauer: Metodologia e análises microbiológicas.

Kevin Eduardo Palhares: Esterilização dos materiais, preparo das amostras, análises microbiológicas.

Helenice Gonzalez Lima: Metodologia e análises físico-químicas.
Silvia Regina Leal Ladeira: Metodologia e análises microbiológicas.
Giselda Maria Pereira: Metodologia e análises estatísticas.
Giniani Carla Dors: Revisão e edição do manuscrito, supervisão.
Patrícia da Silva Nascente: Revisão e edição do manuscrito, supervisão.
Rafael Guerra Lund: Revisão e edição do manuscrito, supervisão, responsável pelo suporte financeiro.

Declaração de interesses

☒ Os autores declaram que não conhecem interesses financeiros concorrentes ou relações pessoais que possam ter influenciado o trabalho relatado neste artigo.

☐ Os autores declaram os seguintes interesses financeiros / relações pessoais que podem ser considerados como potenciais interesses conflitantes.

Material suplementar do manuscrito

Tabela Suplementar S1. Descrição dos animais de acordo com o tempo de fermentação da SCB obtidas de animais da raça Jersey (n = 21) na propriedade leiteira localizada na região sul do Brasil, na cidade de Pelotas

Animais	Idade dos animais (anos)	Data do parto (dia/mês/ano)	Número de partos	Tempo fermentativo das SCB (dias)	Período anual da fermentação da SCB
S	4	11/04/2019	2	61	Outono, inverno
Q	8	25/03/2019	6	78	Outono, inverno
R	4	27/02/2019	2	104	Verão, outono, inverno
U	6	14/01/2019	4	148	Verão, outono, inverno
T	8	08/01/2019	6	154	Verão, outono, inverno
C	4	16/11/2018	2	200	Primavera, verão, outono, inverno
N	14	03/11/2018	12	220	Primavera, verão, outono, inverno
P	8	03/11/2018	6	220	Primavera, verão, outono, inverno
K	8	21/10/2018	6	233	Primavera, verão, outono, inverno
L	7	09/10/2018	5	245	Primavera, verão, outono, inverno
O	3	07/10/2018	1	247	Primavera, verão, outono, inverno
G	3	15/09/2018	1	262	Primavera, verão, outono, inverno
H	4	04/09/2018	2	273	Primavera, verão, outono, inverno
E	5	28/08/2018	3	280	Inverno, primavera, verão, outono, inverno
I	4	15/08/2018	2	293	Inverno, primavera, verão, outono, inverno
F	9	05/08/2018	7	303	Inverno, primavera, verão, outono, inverno
J	10	02/08/2018	8	306	Inverno, primavera, verão, outono, inverno
D	5	28/07/2018	3	311	Inverno, primavera, verão, outono, inverno
M	5	01/08/2018	3	314	Inverno, primavera, verão, outono, inverno
A	6	20/05/2018	4	380	Outono, inverno, primavera, verão, outono, inverno

B	5	24/03/2018	3	437	Outono, inverno, primavera, verão, outono, inverno

[1]SCB - silagem de colostro bovino.

Tabela Suplementar S2. Temperatura média da fermentação da SCB obtido de animais da raça Jersey (n = 21) na propriedade leiteira localizada na região sul do Brasil, na cidade de Pelotas

Estação do ano	Ano/Mês	Temperatura média mensal (°C)	Temperatura média da estação (°C)
Verão	2017 / Dezembro	22,5	22,9
	2018 / Janeiro	23,7	
	2018 / Fevereiro	22,4	
Outono	2018 / Março	20,7	19,6
	2018 / Abril	21,7	
	2018 / Maio	16,4	
Inverno	2018 / Junho	11,4	12,0
	2018 / Julho	12,1	
	2018 / Agosto	12,5	
Primavera	2018 / Setembro	17,3	18,7
	2018 / Outubro	17,5	
	2018 / Novembro	21,2	
Verão	2018 / Dezembro	22,2	23,4
	2019 / Janeiro	24,7	
	2019 / Fevereiro	23,2	
Outono	2019 / Março	21,4	19,4
	2019 / Abril	19,6	
	2019 / Maio	17,3	

[1]Estação Agroclimatológica de Pelotas (EAPEL).

Tabela Suplementar S3. Identificação dos micro-organismos isolados da SCB

Animais	Tempo fermentativo das SCB (dias)	Micro-organismos
S	61	*Staphylococcus aureus*, *Lactobacillus* spp.
Q	78	*Escherichia* sp., *Staphylococcus* coagulase negativa, *Enterococcus faecalis*, *Bacillus mycoides*, *Escherichia coli*, *Lactobacillus* spp.
R	104	*Lactococcus lactis*, *Lactobacillus* spp.
U	148	*Staphylococcus* coagulase negativa, *Staphylococcus aureus*, *Lactobacillus* spp.
T	154	*Staphylococcus* coagulase negativa, *Staphylococcus pseudointermedius*, *Lactobacillus* spp.
C	200	Não identificado, *Bacillus* spp., *Staphycoccus* spp., *Lactobacillus* spp.
N	220	*Corynebacterium kutscheri*, *Lactobacillus* spp.
P	220	*Staphylococcus aureus*
K	233	*Lactobacillus* spp.
L	245	*Lactobacillus* spp.
O	247	*Staphylococcus aureus*, *Lactobacillus* spp.
G	262	*Staphylococcus* coagulase negativa, *Lactobacillus* spp.
H	273	Não identificado, *Lactobacillus* spp.
E	280	*Actinomadura madurae*, *Lactobacillus* spp.
I	293	*Corynebacterium* sp., *Corynebacterium amycolatum*, *Lactobacillus* spp.
F	303	*Corynebacterium* sp., *Lactobacillus* spp.
J	306	*Corynebacterium* sp., *Staphylococcus pseudointermedius*, *Lactobacillus* spp.
D	311	*Bacillus pantothenticus*, *Bacillus* spp., *Lactobacillus* spp.
M	314	*Lactobacillus* spp.
A	380	*Enterococcus* sp., *Enterococcus faecalis*, *Leuconostoc* spp., *Lactococcus lactis*, *Lactobacillus* spp.
B	437	*Enterococcus durans*, *Streptococcus pyogenes*, *Lactobacillus* spp.

[1]SCB - silagem de colostro bovino.

Resumo gráfico

5 Artigo

O presente artigo foi publicado no *I Congresso Internacional da Agroindústria – I CIAGRO 2020* e consta nos Anais de Artigo de Revisão intitulado “Bactérias ácido láticas na descontaminação de aflatoxinas em leite bovino: uma revisão”, disponível de forma online, através do link: https://ciagro.institutoidv.org/ciagro/uploads/1488.pdf. O artigo de revisão também está disponível na revista “Ciência, Tecnologia e Inovação: do campo a mesa, ISBN: 978-65-88970-00-3, volume 2, capítulo 51 e DOI https://doi.org/10.31692/978-65-88970-00-3.v.2.797-817.

O artigo completo está no Anexo A deste documento.

6 Discussão

O CB é um alimento com composição físico-química de extrema importância para os bezerros, e a fermentação anaeróbia tem se destacado como forma de conservação. Diversos estudos já comprovaram que a composição da SCB é superior ao colostro e ao leite, mas também tem demonstrado a presença de micro-organismos patogênicos, o que pode acarretar em doenças para os animais que o consumirem.

Diante do exposto, a determinação de parâmetros físico-químicos e microbiológicos para a SCB fez parte do objetivo do presente trabalho. Além deste, o grupo pretendia responder outros objetivos I) comparar a composição físico-química da SCB com o colostro *in natura*, II) verificar se as bactérias ácido láticas presentes na silagem de colostro tinham a capacidade de descontaminar ou reduzir aflatoxinas. Entretanto, em Março de 2020 iniciou a pandemia do Coronavírus no Brasil e, em virtude deste cenário, as atividades de laboratório foram suspensas por tempo indeterminado, impossibilitando a realização dos experimentos.

Assim, o artigo “Bactérias ácido láticas na descontaminação de aflatoxinas em leite bovino: uma revisão” foi elaborado, visto que as aflatoxinas são compostos tóxicos legislados e inúmeros estudos têm demonstrado alimentos com concentrações acima do limite legislado, e os experimentos serão realizados posteriormente.

7 Conclusão e perspectivas futuras

Nossos resultados permitem concluir que a composição físico-química da SCB é superior ao colostro e ao leite integral, quando comparada com a literatura. O teor de acidez reduz com o aumento do tempo de fermentação e há correlação entre os sólidos totais, o teor de proteína e as cinzas ao longo do tempo de fermentação. Os micro-organismos identificados na silagem de colostro foram bactérias ácido láticas e outros organismos patógenos, como *Staphylococcus* spp, *Streptococcus* spp., *Escherichia* spp., *Bacillus* spp. entre outros. Além disso, com base na revisão da literatura, foi possível verificar a aplicabilidade das bactérias ácido láticas na descontaminação ou redução das aflatoxinas em leite ou derivados.

Os trabalhos futuros visam determinar a composição físico-química do CB para comparar com a SCB obtida, padronizar a extração e quantificação das aflatoxinas

em CB e SCB, verificar se o processo de fermentação reduz os níveis de aflatoxina na SCB, e identificar os micro-organismos do CB, visando a aplicação dos mesmos para obtenção da SCB em ensaio *in vitro* de descontaminação e/ou redução de aflatoxina.

Referências

ALEKSANDRZAK-PIEKARCZYK, Tamara. **Lactose and β-Glucosides metabolismo and its regulation in *Lactococcus lactis*: a review.** In: **Lactic Acid Bacteria R & D for Food, Health and Livestock Purposes.** Books on Demand, 2013

ARMENGOL, R.; FRAILE, L. Colostrum and milk pasteurization improve health status and decrease mortality in neonatal calves receiving appropriate colostrum ingestion. **Journal of Dairy Science,** v. 99, p. 4718-4725, 2016.

AWASTHI, V.; BAHMAN, S.; THAKUR, L. K.; SINGH, S. K.; DUA, A.;GANGULY, S. Contaminants in milk and impact of heating: an assessment study. **Indian Journal of Public Health,** v. 56, p. 95-99, 2012.

AZEVEDO, R. A.; GUIMARÃES, F.; VIEGAS, C. R.; ALMEIDA, P. N. M.; GERASEEV, L. C.; PINTO, M. S.; GLÓRIA, J. R.; DUARTE, E. R. Silagem de colostro: riscos microbiológicos e caracterização do pH em função do dia de coleta. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária,** v. 36, n. 3, p. 271-276, 2014.

BALTHAZAR, E.; DOLIGEZ, E.; LERAY, O.; COZLER, Y. L. A comparison of thawing methods on IgG_1 concentration in colostrum of dairy cows. **Revue de Médicine Vétérinaire,** v. 166, n. 11-12, p. 341-344, 2015.

BARRINGTON, G. M.; PARISH, S. M. Bovine neonatal immunology. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice,** v. 3, n. 17, p.463-476, 2001.

BECKER-ALGERI, T. A.; SOUZA, C.; BORTOLI, K.; CASTAGNARO, D.; SCAGLIONI, P. T.; DRUNKLER, D. A.; DORS, G.; VALDERRAMA, P.; BADIALE-FURLONG, E. Seasonal variation of milk quality: physicochemical, microbiological, and toxicological. **Journal of Food Safety,** v. 40, n. 1, p. 1-12, 2020.

BESSER, T. E.; GAY, C. C. Septicemic colibacillosis and failure of passive transfer of colostral immunoglobulin. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice,** v. 1, n. 3, p. 445-459, 1985.

BORAD, S. G.; SINGH, A. K. Colostrum immunoglobulins: processing, preservation and application aspects. **International Dairy Journal,** v. 85, p. 201-210, 2018.

BUSH, R. S.; MCQUEEN, R. E.; NICHOLSON, J. W. G. Chemical changes in bovine colostrum preserved with formalina or by fermentation. **Journal of Dairy Science,** v. 63, p. 464-470, 1980.

CHELACK, B. J.; MORLEY, P. S.; HAINES, D. M. Evaluation of methods for dehydration of bovine colostrum for total replacement of normal colostrum in calves. **Canadian Veterinary Journal,** v. 34, p. 407-412, 1993.

CREPPY, E. E. Update of survey, regulation and toxic effects of mycotoxins in Europe. **Toxicology Letters,** v. 127, p. 19-28, 2002.

CUMMINS, C.; BERRY, D. P.; MURPHY, J. P.; LORENZ, I.; KENNEDY, E. The effect of colostrum storage conditions on dairy heifer calf sérum immunoglobulin G concentration and preweaning health and growth rate. **Journal of Dairy Science,** v. 100, p. 525-535, 2017.

DALIÉ, D. K. D.; DESCHAMPS, A. M.; RICHARD-FORGET, F. Lactic acid bacteria – potential for controlo f mould growth and mycotoxins: a review. **Food Control,** v. 21, p. 370-380, 2010.

DONAHUE, M.; GODDEN, S. M.; BEY, R.; WELLS, S.; OAKES, J. M.; SREEVATSAN, S.; STABEL, J.; FETROW, J. Heat treatment of colostrum on commercial dairy farms decreases colostrum microbial counts while maintaining colostrum immunoglobulin G concentrations. **Journal of Dairy Science,** v. 95, p. 2697-2702, 2012.

DUNN, A.; ASHFIELD, A.; EARLEY, B.; WELSH, M.; GORDON, A.; MORRISON, S. J. Evaluation of factors associated with immunoglobulin G, fat, protein, and lactose concentrations in bovine colostrum and colostrum management practices in grassland-based dairy systems in Northern Ireland. **Journal of Dairy Science,** v. 100, p. 2068-2079, 2017.

EL-FATTAH, A. M. A.; RABO, F. H. A.; EL-DIEB, S. M.; EL-KASHEF, H. A. S. Preservation methods of buffalo and bovine colostrum as a source of bioactive componentes. Presevation methods of buffalo and bovine colostrum as a source of bioactive componentes. **International Dairy Journal,** v. 39, n. 1, p. 24-27, 2014.

FARRELL, H. M.; JIMENEZ-FLORES, R.; BLECK, G. T.; BROWN, E. M.; BUTLER, J. E.; CREAMER, L. K.; HICKS, C. L.; HOLLAR, C. M.; NG-KWAI-HANG, K. F.; SWAISGOOD, H. E. Nomenclature of the proteins of cow's milk – sixth revision. **Journal of Dairy Science,** v. 87, p. 1641-1674, 2004.

FERNANDES, A. M.; CORRÊA, B.; ROSIM, R. E.; KOBASHIGAWA, E.; OLIVEIRA, C. A. F. Distribution and stability of aflatoxin M_1 during processign and storage of Minas Frescal cheese. **Food Control,** v. 24, p. 104-108, 2012.

FERREIRA, Lucas Silveira. **Silagem de colostro: caracterização do perfil de fermentação anaeróbia e desempenho de bezerros leiteiros.** 2011. 161 f. Tese (Doutorado em Ciência Animal e Pastagens) – Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2011.

FERREIRA, L. S.; SILVA, T. S.; PAULA, M. R.; SOARES, M. C.; BITTAR, C. M. Colostrum silage: fermentative, microbiological and nutritional dynamics of colostrum

fermented under anaerobic conditions at diferente temperatures. **Acta Scientiarum Animal Sciences,** v. 35, n. 4, p. 395-401, 2013a.

FERREIRA, L. S.; BITTAR, C. M. M.; SILVA, J. T.; SOARES, M. C.; OLTRAMARI, C. E.; NÁPOLES, G. G. O.; PAULA, M. R. Desempenho e parâmetros sanguíneos de bezerros leiteiros que receberam sucedâneo lácteo ou silagem de colostro. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia,** v. 65, n. 5, p. 1357-1366, 2013b.

FOLEY, J. A.; OTTERBY, D. E. Availability, storage, treatment, composition, and feeding value of surplus colostrum: a review. **Journal of Dairy Science,** v. 61, p. 1033-1060, 1978.

FOSTER, D. M.; POULSEN, K. P.; SYLVESTER, H. J.; JACOB, M. E.; CASULLI, K. E.; FARKAS, B. E. Effect of high-pressure processing of bovine colostrum on immunoglobulin G concentration, pathogens, viscosity, and transfer of passive immunity to calves. **Journal of Dairy Science,** v. 99, p. 8575-8588, 2016.

GELSINGER, S. L.; GRAY, S. M.; JONES, C. M.; HEINRICHS, A. J. Heat treatment of colostrum increases immunoglobulin G absorption efficiency in high-,médium-, and low-quality colostrum. **Journal of Dairy Science,** v. 97, p. 2355-2360, 2014.

GEORGIEV, I. P. Alterations in chemical composition of colostrum in relationship to post-partum time. **Bulgarian Journal of Veterinary Medicine,** v. 8, n. 1, p. 35-39, 2005.

GOMIDE, Inês de Freitas. **Viabilidade da silagem de colostro para bezerros leiteiros.** 2017. 86 f. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias) – Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2017.

GONÇALVES, K. D. M.; SIBAJA, K. V. M.; FELTRIN, A. C. P.; REMEDI, R. D.; GARCIA, S. O.; GARDA-BUFFON, J. Occurence of aflatoxins B_1 and M_1 in milk poder and UHT consumed in the city of Assomada (Cape Verde Islands) and Southern Brazil. **Food Control,** v. 93, p. 260-264, 2018.

GONÇALVES, B. L.; MUAZ, K.; COPPA, C. F. S. C.; ROSIM, R. E.; KAMIMURA, E. S.; OLIVEIRA, C. A. F.; CORASSIN, C. H. Aflaroxin M1 absorption by non-viable cells of lactic acid bacteria and *Saccharomyces cerevisiae* strains in Frescal cheese. **Food Research International,** v. 136, p. 1-5, 2020.

GOURAMA, H.; BULLERMAN, L. B. Inhibition of growth and aflatoxin production of *Aspergillus flavus by Lactobacillus* species. **Journal of Food Protection,** v. 58, n. 11, p. 1249-1256, 1995.

HAYES, M. M.; HUGHES, T. A.; GREENE, A. K. Bacterial diversity in dried colostrum and whey sold as nutraceutical products. **Journal of Food Science,** v. 77, p. M359-M363, 2012.

HURLEY, W. L.; THEIL, P. K. Perspectives on immunoglobulins in colostrum and milk. **Nutrients,** v. 3, p. 442-474, 2011.

IARC – INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER. **Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans: Some naturally occurring substances food items and constituents, heterocyclic aromatic amines and mycotoxins,** v. 56, p. 245–396, 1993.

IHA, M. H.; BARBOSA, C. B.; OKADA, I. A.; TRUCKSESS, M. W. Aflatoxin M_1 in milk and distribution and stability of aflatoxin M_1 during production and storage of yoghurt and cheese. **Food Control,** v. 29, p. 1-6, 2013.

JASTER, E. H. Evaluation of quality, quantity, and timing of colostrum feeding on immunoglobulin G_1 absorption in Jersey calves. **Journal of Diary Science,** v. 88, p. 296-302, 2005.

JENNY, B. F.; O'DELL, G. D.; JOHNSON, M. G. Microbial and acidity changes in colostrum fermented by natural flora at low and high ambient temperatures. **Journal of Dairy Science,** v. 60, n. 3, p. 453-457, 1976.

JOHNSON, J. L.; GODDEN, S. M.; MOLITOR, T.; AMES, T.; HAGMAN, D. Effects of feeding heat-treated colostrum on passive transfer of imune and nutritional parameters in neonatal dairy calves. **Journal of Dairy Science,** v. 90, p. 5189-5198, 2007.

KEHOE, S. I.; JAYARAO, B. M.; HEINRICHS, A. J. A survey of bovine colostrum composition and colostrum management practices on Pennsylvania dairy farms. **Journal of Dairy Science,** v. 90, p. 4108-4116, 2007.

KRYZER, A. A.; GODDEN, S. M.; SCHELL, R. Heat-treated (in single alíquota or batch) colostrum outperforms non-heat-treated colostrum in terms of quality and transfer of immunoglobulin G in neonatal Jersey calves. **Journal of Dairy Science,** v. 98, p. 1870-1877, 2015.

LINDGREN, S. E.; DOBROGOSZ, W. J. Antagonistic activities of lactic acid bacteria in food and feed fermentations. **FEMS Microbiology Reviews,** v. 87, p. 149-164, 1990.

MARNILA, Pertti.; KORHONEN, Hannu. **Colostrum**. Encyclopedia of Dairy Sciences. 2 ed, p. 591-597, 2011.

MCGUIRK, S. M.; COLLINS, M. Managing the production, storage, and delivery of colostrum. **Veterinary Clinics Food Animal Practice,** v. 20, p. 593-603, 2004.

MELLADO, M.; TORRES, E.; VELIZ, F. G.; SANTIAGO, A.; MACIAS-CRUZ, U.; GARCIA, J. Effect of quality of colostrum on health, gorwth and immunoglobulin G concentration in Holstein calves in a hot environment. **Animal Science Journal,** v. 88, n. 9, p. 1327-1336, 2017.

MORRILL, K. M.; CONRAD, E.; LAGO, A.; CAMPBELL, J.; QUIGLEY, J.; TYLER, H. Nationwide evaluation of quality and composition of colostrum on dairy farms in the United States. **Journal of Dairy Science,** v. 95, p. 3997-4005, 2012.

MULLER, L. D.; SMALLCOMB, J. Laboratory evaluation of several chemicals for preservation of excesso colostrum. **Journal of Dairy Science,** v. 60, n. 4, p. 627-631, 1977.

NEVES, A. R.; POOL, W. A.; SOLOPOVA, A.; KOK, J.; SANTOS, H.; KUIPERS, O. P. Towards enhanced galactose utilization by *Lactococcus lactis*. **Applied and Environmental Microbiology,** v. 76, n. 21, 2010.

NGUYEN, D. N.; CURRIE, A. J.; REN, S.; BERING, S. B.; SANGILD, P. T. Heat treatment and irradiation reduce anti-bacterial and imune-modulatory properties of bovine colostrum. **Journal of Functional Foods,** v. 57, p. 182-189, 2019.

ONTSOUKA, C. E.; BRUCKMAIER, R. M.; BLUM, J. W. Fractionized milk composition during removal of colostrum and mature milk. **Journal of Dairy Science,** v. 86, p. 2005-2011, 2003.

PEREIRA, R. V.; BICALHO, M. L.; MACHADO, V. S.; LIMA, S.; TEIXIERA, A. G.; WARNICK, L. D.; BICALHO, R. C. Evaluation of the effects of ultravioleta light on bacterial contaminants inoculated into whole milk and colostrum, ando n colostrum immunoglobulin G. **Journal of Dairy Science,** v. 97, p. 2866-2875, 2014.

PHIPPS, A. J.; BEGGS, D. S.; MURRAY, A. J.; MANSELL, P. D.; STEVENSON, M. A.; PYMANT, M. F. Survey of bovine colostrum quality and hygiene on northern Victorian dairy farms. **Journal of Dairy Science,** v. 99, p. 8981-8990, 2016.

PLAYFORD, R. J.; MACDONALS, C. E.; JOHNSON, W. S. Colostrum and milk-derived peptide growth factors for the treatment of gastrointestinal disorders. **The American Journal of Clinical Nutrition,** v. 72, n. 1, p. 5-14, 2000.

PRANDINI, A.; TANSINI, G.; SIGOLO, S.; FILIPPI, L.; LAPORTA, M.; PIVA, G. On the occurrence of aflatoxin M_1 in milk and dairy products. **Food and Chemical Toxicology,** v. 47, p. 984-991, 2009.

PREETI, N.; PRIYADARISHINI, S. C.; IYER, P. R.; AMRITKUMAR, P. Nutritive analysis and microbial characterization of bovine colostrum. **Journal of Biotechnology and Biochemistry,** v. 4, n. 2, p. 55-60, 2018.

PRIESTLEY, D.; BITTAR, J. H.; IBARBIA, L.; RISCO, C. A.; GALVÃO, K. N. Effect of feeding maternal colostrum or plasma-derived or colostrum-derived colostrum replacer on passive transfer of immunity, health, and performance of preweaning heifer calves. **Journal of Dairy Science,** v. 96, p. 3247-3256, 2013.

PRITCHETT, L. C.; GAY, C. C.; HANCOCK, D. D.; BESSER, T. E. Evaluation of the hydrometer for testing immunoglobulin G1 concentrations in Holstein colostrum. **Journal of Dairy Science,** v. 77, p. 1761-1767, 1994.

PUPPEL, K.; GOLEBIEWSKI, M.; GRODKOWSKI, G.; SLÓSARZ, J.; KUNOWSKA-SLÓSARZ, M.; SOLARCZYK, P.; LUKASIEWICZ, M.; BALCERAK, M.; PRZYSUCHA, T. Composition and factors affecting quality of bovine colostrum: a review. **Animals,** v. 9, n. 1070, p. 1-14, 2019.

RAMYA, S. B.; RAMASAMY, D.; DHINESHKUMAR, V. Effects of refrigeration, deep freezing-spray drying ans pasteurization on IgG bovine colostrum preservation. **International Journal of Dairy Processing & Research,** v. 3, n. 1, p.35-37, 2016.

SAALFELD, M. H.; PEREIRA, D. I. B.; SILVEIRA, K. R. K. COUTO, S.; GULARTE, M. A.; LEITE, F. P. L. Avaliação nutricional do colostro bovino e sua potencialidade como alimento de uso humano. In: 4° SIMPÓSIO DE SEGURANÇA ALIMENTAR, 2012a, Gramado. **Anais eletrônicos de trabalhos aceitos do 4° Simpósio de Segurança Alimentar,** Gramado, 2012a. Disponível em: <https://transforma.fbb.org.br/storage/socialtecnologies/268/files/Avaliacao%20Nutricional....pdf>. Acesso em: 24 nov 2020.

SAALFELD, M. H.; PEREIRA, D. I. B.; SILVEIRA, K. R. K.; GRANDA, E.; GULARTE, M. A.; LEITE, F. P. L. Silagem de colostro: alternativa sustentável para minimizar a fome no mundo. In: 4° SIMPÓSIO DE SEGURANÇA ALIMENTAR, 2012b, Gramado. **Anais eletrônicos de trabalhos aceitos do 4° Simpósio de Segurança Alimentar,** Gramado, 2012b. Disponível em:<https://transforma.fbb.org.br/storage/socialtecnologies/268/files/Silagem%20de%20colostro%20alternativa%20sustentavel%20para%20amenizar%20a%20fome%20no%20mundo.%20Revisado.pdf>. Acesso em: 24 nov 2020.

SAALFELD, M. H.; PEREIRA, D. I. B.; SILVEIRA, K. R. K.; SCHRAMM, R.; VALENTE, J. S. S.; BORCHARDT, J. L.; GULARTE, M. A.; LEITE, F. P. L. Anaerobically fermented colostrum: na anternative for feeding calves. **Ciência Rural,** v. 43, n. 9, p. 1636-1641, 2013.

SAALFELD, M. H.; PEREIRA, D. I. B.; BORCHARDT, J. L.; STURBELLE, R. T.; ROSA, M. C.; GUEDES, M. C.; GULARTE, M. A.; LEITE, F. P. L. Evaluation of the transfer of immunoglobulin from colostrum anaerobic fermentation (colostrum silage) to newborn calves. **Animal Science Journal,** v. 85, n. 11, p. 963-967, 2014.

SAALFELD, M. H.; PEREIRA, D. I. B.; VALENTE, J. S. S.; BORCHARDT, J. L.; WEISSHEIMER, C. F.; GULARTE, M. A.; LEITE, F. P. L. Effect of anaerobic bovine colostrum fermentation on bactéria growth inhibition. **Ciência Rural,** v. 46, n.12, p.2152-2157, 2016.

SANTOS, G.; SILVA, J. T.; SANTOS, F. H. R.; BITTAR, C. M. M. Nutritional and microbiological quality of bovine colostrum samples in Brazil. **Revista Brasileira de Zootecnia,** v. 46, n. 1, p. 72-79, 2017.

SEVIM, S.; TOPAL, G. G.; TENGILIMOGLU-METIN, M. M.; SANCAK, B.; KIZIL, M. Effects of inulin and lactic acid bacteria strains on aflatoxin M_1 detoxification in yoghurt. **Food Control,** v. 100, p. 235-239, 2019.

SIBAJA, K. V. M.; GONÇALVES, K. D. M.; GARCIA, S. O.; FELTRIN, A. C. P.; NOGUEIRA, W. V.; BADIALE-FURLONG, E.; GARDA-BUFFON, J. Aflatoxin M_1 and B_1 in colombian milk poder and estimated risk exposure. **Food Additives & Contaminants: Part B,** v. 12, p. 1-8, 2019.

SILVA-DEL-RÍO, N.; ROLLE, D.; GARCÍA-MUÑOZ, A.; RODRÍGUEZ-JIMÉNEZ, S.; VALLDECABRES, A.; LAGO, A.; PANDEY, P. Colostrum immunoglobulin G concentration of multiparous Jersey cows at first and second milking is associated with parity, colostrum yield, and time of first milking, and can be estimated with Brix refractometry. **Journal of Dairy Science,** v. 100, p. 1-8, 2017.

STELWAGEN, K.; CARPENTER, E.; HAIGH, B.; HODGKINSON, A.; WHEELER, T. T. Immune componentes of bovine colostrum and milk. **Journal of Animal Science,** v. 87, p. 3-9, 2009.

THOMPSON, T. L.; MARTH, E. H. Changes in the microflora of bovine colostrum during natural fermentation. **Journal of Milk and Food Technology,** v. 39, n. 1, p. 27-31, 1976.

WASOWSKA, E.; PUPPEL, K. Changes in the contente of immunostimulating componentes of colostrum obtained from dairy cows at diferente level of production. **Journal of the Science of Food and Agriculture,** v. 98, n. 13, p. 5062-5068, 2018.

WOCHNER, K. F.; MOREIRA, M. C. C.; KALSCHNE, D.; COLLA, E.; DRUNKLER, D. A. Detoxification of aflatoxin B_1 and M_1 by *Lactobacillus acidophilus* and prebiotics in whole cow's milk. **Journal of Food Safety,** v. 39, p. 1-10, 2019.

YU, H.; ZHENG, Y.; LI, Y. Shelf and storage stability of spray-dried bovine colostrum powders under different storage conditions. **Journal of Food Science and Technology,** v. 52, n. 2, p. 944-951, 2013.

ZARCULA, S.; CERNESCU, H.; MIRCU, C.; TULCAN, C.; MORVAY, A.; BAUL, S.; POPOVICI, D. Influence of breed, parity and food intake on chemical composition of first colostrum in cow. **Scientific Papers: Animal Science and Biotechnologies,** v. 43, n. 1, p. 154-157, 2010.

ZAREI, S.; GHORBANI, G. R.; KHORVASH, M.; MARTIN, O.; MAHDAVI, A. H.; RIASI, A. The impacto f season, parity, and volume of colostrum on Holstein dairy cows colostrum composition. **Agricultural Sciences,** v. 8, n. 7, p. 572-581, 2017.

ZENTRICH, E.; IWERSEN, M.; WIEDRICH, M. C.; DRILLICH, M.; KLEIN-JOBSTL, D. *Short communication:* Effect of barn climate and management-related factors on bovine colostrum quality. **Journal of Dairy Science,** v. 102, p. 7453-7458, 2019.

Anexo A

BACTÉRIAS ÁCIDO LÁCTICAS NA DESCONTAMINAÇÃO DE AFLATOXINAS EM LEITE BOVINO: UMA REVISÃO

LACTIC ACID BACTERIA IN THE DECONTAMINATION OF AFLATOXINS IN BOVINE MILK: A REVIEW

Rosana Basso Kraus[1]; Pedro Rassier dos Santos[2]; Giniani Carla Dors[3]; Patrícia da Silva Nascente[4]; Rafael Guerra Lund[5]

Resumo

As aflatoxinas são compostos químicos tóxicos produzidos por fungos do gênero *Aspergillus* que podem contaminar grãos e cereais, base para rações utilizadas em bovinos. A aflatoxina M_1, derivada da hidroxilação da aflatoxina B_1, é encontrada no leite, mas a aflatoxina B_1 também tem sido relatada e precisa ser avaliada, pois é mais tóxica que a aflatoxina M_1. Assim, o objetivo deste trabalho foi revisar o efeito do uso de bactérias ácido láticas na descontaminação de aflatoxinas B_1 e M_1 presentes no leite e derivados lácteos. A aplicação de bactérias ácido láticas em ensaios de descontaminação de aflatoxinas tem sido promissor. Entretanto, a redução dos níveis de aflatoxinas presente no alimento depende da bactéria que será utilizada, bem como sua concentração, meio onde será realizado o ensaio, nível de contaminação inicial, tempo de contato entre micro-organismo e a aflatoxina, e a estabilidade desta ligação.

Palavras-Chave: aflatoxinas B_1 e M_1, descontaminação, leite, processamento de alimentos.

Abstract

Aflatoxins are toxic chemical compounds produced by fungi of the *Aspergillus* genus that can contaminate graisn and cereals, the basis for feed used in cattle. Aflatoxin M_1, derived from the hydroxylation of aflatoxin B_1, is found in milk, but aflatoxin B_1 has also been reported and needs to be evaluated, as it is more toxic than aflatoxin M_1. Thus, the objective of this study was to review the effect of the use of lactic acid bacteria in the decontamination of aflatoxins B_1 and M_1 present in milk and dairy products. The application of lactic acid bacteria in aflatoxin decontamination trials has been promising. However, the reduction in the levels of aflatoxins present in the food depends on the bacteria that will be used, as well as its concentration, medium where the test will be performed, initial contamination level, contact time between microorganism and aflatoxin, and the stability of this link.

[1] Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Bioprospecção (PPGBBio), Universidade Federal de Pelotas, rosana_basso_kraus@hotmail.com

[2] Programa de Pós-Graduação em Microbiologia e Parasitologia (PPGMP), Universidade Federal de Pelotas, rassier1907@gmail.com

[3] Mestrado Profissional em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas, Drª em Engenharia e Ciência de Alimentos, dorsgi@yahoo.com.br

[4] PPGMP, Universidade Federal de Pelotas, pattsn@gmail.com

[5] PPGBBio, Universidade Federal de Pelotas, rafael.lund@gmail.com

Keywords: aflatoxins B_1 and M_1, milk, decontamination, food processing.

1. Introdução

As micotoxinas são substâncias resultantes do metabolismo secundário de algumas espécies fúngicas, principalmente *Aspergillus*, *Fusarium* e *Penicillium* (SWEENEY; DOBSON, 1998) e podem acometer diversas culturas agrícolas antes e/ou após a colheita, durante a secagem ou armazenamento (PITT; TANIWAKI; COLE, 2013). Dentre as micotoxinas de maior ocorrência nos alimentos destacam-se as aflatoxinas (AFLA), produzidas por fungos do gênero *Aspergillus*, principalmente *A. flavus*, *A. parasiticus* e *A. nomius* (PRANDINI et al., 2009), classificando-se em B ($AFLAB_1$ e $AFLAB_2$) e G ($AFLAG_1$ e $AFLAG_2$) (CREPPY, 2002).

O consumo de alimentos contaminados por $AFLAB_1$ pelos animais resulta na conversão de 0,3 a 6,2% em $AFLAM_1$, ou seja, ocorre a hidroxilação e os metabólitos hidroxilados são convertidos em $AFLAM_1$ sendo liberados através da urina e/ou leite (CREPPY, 2002). A presença destes contaminantes no leite afeta a segurança do alimento, pois são compostos cancerígenos e mutagênicos, representando um problema de saúde publica, (BENKERROUM, 2019; WHO, 2018). Consequentemente, inúmeros países elaboraram Limites Máximos Tolerados (LMT) destas micotoxinas em alimentos.

A partir destas considerações fica evidente a necessidade de buscar alternativas que minimizem a ocorrência deste perigo na obtenção do leite, pois as aflatoxinas são estáveis aos métodos de processamento (IHA et al., 2013). Este estudo tem por objetivo revisar o efeito do uso de bactérias ácido-láticas na descontaminação de aflatoxinas B_1 e M_1 presentes no leite e derivados lácteos.

2. Desenvolvimento

2.1 Aflatoxinas em Leite e Produtos Lácteos

O leite de boa qualidade deve apresentar baixos níveis de células somáticas e bactérias totais, ausência de micro-organismos patogênicos ou resíduos químicos como, por exemplo, antibióticos (BRASIL, 2018, 2018a). Além disso, a composição do leite cru ou pasteurizado deve ter teores mínimos de proteína, gordura e extrato seco desengordurado, os quais variam de acordo com o tipo de leite que será produzido (BRASIL, 2018) e em razão da raça do animal e do manejo (SOUZA; CARVALHO; MENDONÇA, 2010).

Além das legislações exigidas com relação à qualidade do leite, há a Resolução número 7, publicada em 18 de fevereiro de 2011, que estabelece o limite para $AFLAM_1$ para leite líquido (0,5 µg kg^{-1}), leite em pó (5,0 µg kg^{-1}) e queijos (2,5 µg kg^{-1}) (ANVISA, 2011). Embora

alguns trabalhos relatem a presença de $AFLAB_1$ no leite (GONÇALVES et al., 2018; SIBAJA et al., 2019; BECKER-ALGERI et al., 2020) a legislação só apresenta LMT para $AFLAM_1$. A legislação de alimentos para consumo animal preconiza que qualquer matéria-prima a ser utilizada diretamente ou como ingrediente para rações destinadas ao consumo animal não ultrapasse 50 µg kg^{-1} da somatória de AFLAs (BRASIL, 1988). As principais legislações internacionais para leite e produtos derivados, bem como de matérias-primas para consumo animal são da Comissão da Regulamentação da União Europeia (CRUE) e da *Food and Drug Administration* (FDA) (COMISSÃO DA UNIÃO EUROPEIA, 2020; FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, 2020).

As AFLAs têm como característica uma estrutura policíclica derivada de um núcleo cumarina juntamente com um sistema bifurano e uma pentanona (AFLAB) ou lactona (AFLAG) (BENNETT; KLICH, 2003). A *International Agency for Research on Cancer* (IARC) (1993) considera a $AFLAB_1$ um carcinógeno humano do grupo 1, enquanto a $AFLAM_1$ é um provável carcinógeno humano, pertencendo ao grupo 2B, em virtude da toxicidade da $AFLAB_1$ ser maior, quando comparada com a $AFLAM_1$ (CREPPY, 2002). As AFLAs têm efeito carcinogênico, teratogênico, hepatotóxico, imunossupressor, atingindo principalmente o fígado e, dependendo do nível de exposição, essa toxicidade pode ser aguda ou crônica (BENNET; KLICH, 2003). Além da toxicidade, são compostos altamente estáveis aos métodos de processamento como esterilização comercial, pasteurização ou fervura (AWASTHI et al., 2012; BAKIRCI, 2001; FERNANDES et al., 2012; GOVARIS et al., 2002; IHA et al., 2013).

A ocorrência de AFLAs têm sido relatada em grãos, rações e silagem de grãos (MOSS, 1998; O'BRIEN et al., 2005; SASSAHARA; NETTO; YANAKA, 2005; OMEIZA et al.,2018; DADZIE et al., 2019), sendo preocupante, uma vez que o sistema digestivo dos animais não é suficiente para degradar essas toxinas (OBREMSKI et al., 2009). A metabolização da $AFLAB_1$ ocorre no fígado, através de um conjunto de enzimas do citocromo P_{450}, que são consideradas hemoproteínas e têm como função a conversão desses compostos xenobióticos em moléculas mais hidrossolúveis (KLEIN et al., 2000; PEI et al., 2009). O principal metabólito formado é $AFLAB_1$-8,9 epóxido, responsável pelos efeitos tóxicos agudos, mutagênicos e carcinogênicos e a $AFLAM_1$ (MURPHY et al., 2006).

A ocorrência das AFLAs é um problema mundial, e de acordo com estudo elaborado por Becker-Algeri et al. (2016), a partir de dados coletados até 2015, foi possível verificar que a incidência de $AFLAM_1$ em leite e derivados lácteos é relativamente mais baixa nos países europeus (Portugal, Turquia, Itália e Croácia), independentemente do tipo de amostra. No Brasil, devido à sua extensão, diferenças de clima e produção de leite e latícinios, os resultados

da frequência variam conforme a porcentagem de ocorrência da micotoxina (30,7% a 100%) e sobre os níveis de contaminação encontrados (0,0018 a 4,1 μg L^{-1}).

Além dos efeitos tóxicos das AFLAs, a estabilidade durante o processamento é outra problemática que vem sendo avaliada, assim como a transferência e a distribuição destas toxinas nos derivados lácteos (ALAHLAH et al., 2020; DEVECI, 2007; HASSANIN, 1994; LÓPEZ et al., 2001; SCAGLIONI et al., 2014; TADESSE; BERHANU; WOLDEGIORGIS, 2020). O Quadro 1 apresenta dados de ocorrência de $AFLAM_1$ e $AFLAB_1$ em leite e produtos lácteos nos últimos cinco anos.

Quadro 1. Frequência e ocorrência de aflatoxinas em leite e derivados lácteos relatadas na literatura.

País / Autores	**Amostra**	**Frequência (%)**	**Mín - Máx**	**AFLAs**
Costa Rica / Chavarría et al., 2015	Leite	(3/70) 4,3 (22/70) 31,4 (44/70) 62,8 (1/70) 1,4	< 14 ng L^{-1} 20 – 50 ng L^{-1} 50 – 500 ng L^{-1} > 500 ng L^{-1}	M_1
	Queijo	(44/70) 62,8 (13/70) 18,6 (13/70) 18,6)	< 23 ng kg^{-1} 20 – 50 ng kg^{-1} 50 – 500 ng kg^{-1}	
Brasil / Sartori et al., 2015*	Leite UHT Leite em pó	(11/16) 69 (53/72) 74	0,005 – 0,042 μg kg^{-1} 0,08 – 1,19 μg kg^{-1}	M_1
Sérvia / Tomašević et al., 2015	Leite cru	(138/678) 20,3 (158/678) 23,3 (215/678) 31,7 (118/678) 17,4 (49/678) 7,2	≤ 0,025 μg kg^{-1} 0,026 – 0,05 μg kg^{-1} 0,051 – 0,5 μg kg^{-1} 0,51 – 1,0 μg kg^{-1} > 1,0 μg kg^{-1}	M_1
	Leite tratado termicamente	(121/438) 27,6 (174/438) 39,7 (131/438) 29,9 (12/438) 2,7	≤ 0,025 μg kg^{-1} 0,026 – 0,05 μg kg^{-1} 0,051 – 0,5 μg kg^{-1} 0,51 – 1,0 μg kg^{-1}	
	Leite em pó	(45/67) 67,1 (5/67) 7,4 (5/67) 7,4 (1/67) 1,4 (11/67) 16,4	≤ 0,025 μg kg^{-1} 0,026 – 0,05 μg kg^{-1} 0,051 – 0,5 μg kg^{-1} 0,51 – 1,0 μg kg^{-1} > 1,0 μg kg^{-1}	
	Iogurte	(14/56) 25,0 (20/56) 35,7 (22/56) 39,2	≤ 0,025 μg kg^{-1} 0,026 – 0,05 μg kg^{-1} 0,051 – 0,5 μg kg^{-1}	
	Sorvete	(7/21) 33,3 (3/21) 14,2 (11/21) 52,3	≤ 0,025 μg kg^{-1} 0,026 – 0,05 μg kg^{-1} 0,051 – 0,5 μg kg^{-1}	
	Fórmula láctea infantil	(31/33) 93,9 (2/33) 6,0	≤ 0,025 μg kg^{-1} 0,026 – 0,05 μg kg^{-1}	

	Queijo branco	(8/47) 17,0 (11/47) 23,4 (26/47) 55,3 (2/47) 4,2	≤ 0,025 µg kg^{-1} 0,026 – 0,05 µg kg^{-1} 0,051 – 0,5 µg kg^{-1} 0,51 – 1,0 µg kg^{-1}	
	Queijo duro	(6/27) 22,2 (5/27) 18,5 (8/27) 29,6 (2/27) 7,4 (6/27) 22,2	≤ 0,025 µg kg^{-1} 0,026 – 0,05 µg kg^{-1} 0,051 – 0,5 µg kg^{-1} 0,51 – 1,0 µg kg^{-1} > 1,0 µg/kg	
	Outros lácteos	(27/71) 38,0 (16/71) 22,5 (27/71) 38,0 (1/71) 1,4	≤ 0,025 µg kg^{-1} 0,026 – 0,05 µg kg^{-1} 0,051 – 0,5 µg kg^{-1} 0,51 – 1,0 µg kg^{-1}	
Irã / Bahrami; Shahbazi; Nikousefat, 2016*	Leite cru bovino	(54/64) 84,3	6,1 – 188,2 ng L^{-1}	M_1
	Queijo	(25/40) 65,5	52,5 – 272 ng kg^{-1}	
	Iogurte	(10/42) 23,8	6,3 – 21,3 ng kg^{-1}	
Brasil / Gonçalves et al., 2017	Leite fresco	(24/52) 46,2 (4/52) 7,7 (3/52) 5,6 (19/52) 36,5 (2/52) 3,8	≤ 0,09 µg L^{-1} 0,1 – 0,25 µg L^{-1} 0,26 – 0,49 µg L^{-1} ≥ 0,50 µg L^{-1} > 1,00 µg L^{-1}	M_1
Paquistão / Iqbal; Asi; Malik, 2017*	Leite cru (verão)	(19/32) 59,4	0,4 – 229,6 ng L^{-1}	M_1
	Leite UHT (verão)	(16/25) 64,0	0,4 - 190,8 ng L^{-1}	
	Leite em pó (verão)	(9/32) 28,1	0,4 – 178,5 ng L^{-1}	
	Leite com sabor (verão)	(12/25) 48,0	0,4 – 110,1 ng L^{-1}	
	Iogurte (verão)	(11/30) 36,6	0,4 – 158,2 ng L^{-1}	
	Iogurte com sabor (verão)	(10/25) 40,0	0,4 – 102,5 ng L^{-1}	
	Leite cru (inverno)	(29/42) 69	0,4– 345,8 ng L^{-1}	
	Leite UHT (inverno)	(26/35) 74,2	0,4 – 302,9 ng L^{-1}	
	Leite em pó (inverno)	(12/32) 37,5	0,4 – 278,4 ng L^{-1}	
	Leite com sabor (inverno)	(15/28) 53,6	0,4 – 198,3 ng L^{-1}	
	Iogurte (inverno)	(15/36) 41,6	0,4 – 196,3 ng L^{-1}	
	Iogurte com sabor (inverno)	(17/30) 56,6	0,4 – 220,5 ng L^{-1}	
Brasil / Gonçalves et al., 2018*	Leite integral	(19/26) 73,1	60 – 3670 / 40 – 150 ng L^{-1}	M_1 / B_1
	Leite desnatado	(7/11) 63,6	40 – 1050 / 40 – 600 ng L^{-1}	
	Leite semidesnatado	(9/12) 75	90 – 1400 / - ng L^{-1}	
	Leite em pó integral	(6/10) 60	88 – 2800 / - ng L^{-1}	
	Leite em pó infantil	(0/3) 0	-/- ng kg^{-1}	
	Leite em pó integral – marca I	(10/17) 58,8	32 – 724/- ng kg^{-1}	
	Leite em pó integral – marca II	(11/16) 68,7	213 – 2216 / – ng kg^{-1}	
	Leite em pó integral – marca III	(17/17) 100	1280 – 2896 / - ng kg^{-1}	
Turquia / Sakin	Queijo Sürk	(1/30) 3,3 (13/30) 43,3 (9/30) 30 (3/30) 10	< 0,035 µg kg^{-1} < 0,1 µg kg^{-1} 0,1 – 0,25 µg kg^{-1} 0,25 – 0,5 µg kg^{-1}	B_1 B_1 B_1 B_1

et al., 2018		(2/30) 6,7 (2/30) 6,7	0,5 – 2 µg kg^{-1} 2 – 5 µg kg^{-1}	B_1 B_1
		(26/30) 86,7	< 0,059 µg kg^{-1}	B_2
		(4/30) 13,3	< 0,17 µg kg^{-1}	B_2
		(25/30) 83,3 (3/30) 10 (2/30) 6,7	< 0,053 µg kg^{-1} < 0,14 µg kg^{-1} 0,14 – 0,25 µg kg^{-1}	G_1 G_1 G_1
		(5/30) 16,7 (6/30) 20 (6/30) 20 (8/30) 26,6 (5/30) 16,7	< 0,061 µg kg^{-1} < 0,16 µg kg^{-1} 0,16 – 0,25 µg kg^{-1} 0,25 – 0,5 µg kg^{-1} 0,5 – 2 µg kg^{-1}	G_2 G_2 G_2 G_2 G_2
		(5/30) 16,7 (9/30) 30 (13//30) 43,3 (3/30) 10	< 0,033 µg kg^{-1} < 0,07 µg kg^{-1} 0,07 – 0,25 µg kg^{-1} 0,25 – 0,5 µg kg^{-1}	M_1 M_1 M_1 M_1
China / Xiong et al., 2018*	Leite pasteurizado	(11/131) 8,4 (42/131) 32,1 (23/131) 17,5 (12/131) 9,2 (43/131) 32,8	< 5 ng L^{-1} 5 – 49,9 ng L^{-1} 50 – 99,5 ng L^{-1} 100 – 199,9 ng L^{-1} > 200 ng L^{-1}	M_1
	Leite UHT	(53/111) 47,7 (56/111) 50,5 (2/111) 1,8	< 5 ng L^{-1} 5 – 49,9 ng L^{-1} 50 – 99,5 ng L^{-1}	
Brasil / Sibaja et al., 2019*	Leite em pó integral	(30/30) 100	0,35 – 1,19 µg kg^{-1}	M_1
	Leite em pó desnatado	(6/6/) 100	0,46 – 1,03 µg kg^{-1}	
	Leite em pó sem lactose semidesnatado	(9/9) 100	0,33 – 1,18 µg kg^{-1}	
	Leite infantil em pó	(6/6) 100	0,20 – 0,34 µg kg^{-1}	
Brasil / Becker-Algeri et al., 2020	Leite integral UHT – PR	(35/93) 37,6	0,53 – 4,62 / - µg L^{-1}	M_1 /B_1
	Leite integral UHT – SC	(35/93) 37,6	0,34 - 0,93 / 1,39 – 1,62 µg L^{-1}	
	Leite integral UHT – RS	(23/93) 24,7		
	Leite semidesnatado – PR	(24/61) 39,3	- / - µg L^{-1}	
	Leite semidesnatado – SC	(23/61) 37,7	0,30 – 0,48 / - µg L^{-1}	
	Leite semidesnatado – RS	(14/61) 22,9	0,33 – 0,51 / 1,69 – 8,8 µg L^{-1}	
	Leite desnatado – PR	(30/74) 40,5		
	Leite desnatado – SC	(24/74) 32,4	- / - µg L^{-1}	
	Leite desnatado – RS	(20/74) 27,0	0,32 – 0,54 / - µg L^{-1}	
			0,34 – 0,42 / - µg L^{-1}	
			- / - µg L^{-1}	
Líbano / Daou et al., 2020*	Leite cru	(289/701) 41,2 (123/701) 17,5 (93/701) 13,3 (196/701) 28	< 0,011 µg L^{-1} 0,011 – 0,024 µg L^{-1} 0,025 – 0,05 µg L^{-1} > 0,05 µg L^{-1}	M_1
	Iogurte	(10/28) 35,7 (3/28) 10,7 (5/28) 17,9 (10/28) 35,7	< 0,01 µg L^{-1} 0,01 – 0,024 µg L^{-1} 0,025 – 0,05 µg L^{-1} > 0,05 µg L^{-1}	
	Iogurte coado (Labneh)	(3/27) 11,1 (2/27) 7,4 (22/27) 81,5	< 0,01 µg L^{-1} 0,025 – 0,05 µg L^{-1} > 0,05 µg L^{-1}	

	Iogurte Ayran	(1/9) 11,1 (1/9) 11,1 (3/9) 33,3 (4/9) 44,4	< 0,01 µg L^{-1} 0,01 – 0,024 µg L^{-1} 0,025 – 0,05 µg L^{-1} > 0,05 µg L^{-1}	
	Iogurte aromatizado	(3/10) 30 (3/10) 30 (1/10) 10 (3/10) 30	< 0,01 µg L^{-1} 0,01 – 0,024 µg L^{-1} 0,025 – 0,05 µg L^{-1} > 0,05 µg L^{-1}	
	Queijo Halloum	(9/26) 34,6 (2/26) 7,7 (4/26) 15,4 (11/26) 42,3	< 0,01 µg L^{-1} 0,01 – 0,024 µg L^{-1} 0,025 – 0,05 µg L^{-1} > 0,05 µg L^{-1}	
	Queijo Akkawi	(8/20) 40 (2/20) 10 (10/20) 50	< 0,01 µg L^{-1} 0,025 – 0,05 µg L^{-1} > 0,05 µg L^{-1}	
	Queijo Double Cream	(11/23) 47,8 (1/23) 4,3 (3/23) 13,0 (8/23) 34,8	< 0,01 µg L^{-1} 0,01 – 0,024 µg L^{-1} 0,025 – 0,05 µg L^{-1} > 0,05 µg L^{-1}	
	Queijo Bulgarian & Chanklish	(2/3) 66,7 (1/3) 33	< 0,01 µg L^{-1} > 0,05 µg L^{-1}	
Argélia / Mohammedi-Ameur et al., 2020	Leite cru fresco	(45/84) 53,57 (35/84) 41,66 (3/84) 3,57 (1/84) 1,19	< 89 ng L^{-1} 89 – 300 ng L^{-1} 301 – 500 ng L^{-1} > 500 ng L^{-1}	M_1
Etiópia / Tadesse; Berhanu; Woldegiorgis, 2020	Leite pasteurizado industrial	(56/56) 100	0,550 – 1,41 µg L^{-1}	M_1
	Leite cru local	(52/52) 100	0,029 – 2,159 µgL^{-1}	
	Iogurte industrial	(83/83) 100	0,09 – 4,01 µg L^{-1}	
	Iogurte local	(10/10) 100	0,07 – 4,76 µg L^{-1}	
	Queijo industrial	(72/72) 100	0,18 – 5,58 µg L^{-1}	
	Queijo local	(10/10) 100	0,08 – 3,86 µgL^{-1}	
	Manteiga industrial	(72/73) 99	0,00 – 1,24 µg L^{-1}	
	Manteiga local	(6/10) 60	0,00 – 0,91 µg L^{-1}	
China / Xiong et al., 2020*	Leite cru	(100/133) 75,2	5,3 – 36,2 ng L^{-1}	M_1
	Leite pasteurizado	(337/410) 82,2	5,1 – 104,4 ng L^{-1}	
	Leite UHT	(77/98) 78,6	5,1 – 99,6 ng L^{-1}	

* Os estudos apresentaram somente dados das amostras positivas. – amostra não detectada.

Visando garantir a segurança do alimento, métodos de descontaminação que proporcionem a remoção e/ou redução da micotoxina, sem a formação de resíduos tóxicos, mantendo o valor nutricional e as propriedades tecnológicas dos alimentos, tem sido estudados (CAMPAGNOLLO et a., 2016; PARK, 2002; SANTOS et al., 2014). Destacam-se os métodos biológicos que fazem uso de enzimas ou micro-organismos, tendo como principal vantagem a

eficiência quando comparado com as metodologias que fazem uso de agentes químicos e físicos (FAZELI et al., 2009; WU et al., 2009).

2.2 Bactérias ácido láticas

Os micro-organismos mais estudados para descontaminação das AFLAs têm sido as bactérias ácido láticas (BAL), uma vez que são reconhecidas por serem organismos seguros e conseguirem se ligar com a toxina. As BAL são micro-organismos probióticos, que têm como característica a produção de ácido lático, são Gram-positivas, não produzem catalase e oxidase, e podem produzir reuterina, reconhecida como antifúngico, quando há glicerol no meio que irá ocorrer à fermentação (DALIÉ; DESCHAMPS; FORGET-RICHARD, 2010; GOURAMA; BULLERMAN, 1995; LINDGREN; DROGOSZ, 1990). Os *Lactobacillus* spp. são um gênero das BAL amplamente utilizado em alimentos crus, mas também podem ser aplicados em alimentos fermentados para maior preservação destes (GOURAMA; BULLERMAN, 1995). Além disso, estas bactérias fornecem propriedades funcionais e melhorias sensoriais ao produto (FABIAN et al., 2008).

A inibição do crescimento de micro-organismos produtores de AFLAs, bem como o efeito do uso de BAL tem sido avaliados em estudos *in vivo* (ABBÈS et al., 2016; CHEN et al., 2019; GOMAA; ABDELALL; EL-MAHDY, 2018; GUIMARÃES et al., 2018; JEBALI et al., 2018; NATEGHI et al., 2016; NDUTI et al., 2016; ONILUDE et al., 2005; SALAH-ABBÈS et al., 2015), e alguns já comprovaram a capacidade dessas bactérias em reduzir ou degradar níveis da micotoxina *in vitro* (Quadro 2).

Quadro 2. Uso de bactérias ácido láticas na descontaminação de aflatoxinas em leite e derivados lácteos.

Autores (ano)	**Micro-organismo (s)**	**AFLAs / Meio de descontaminação**	**Principais resultados**
Pierides et al (2000)	*Lactobacillus acidophillus* LA1; *L. gasseri* ATCC 33323; *L. rhamnosus* GG; *L. rhamnosus* LC-705; *L. rhamnosus* 1/3; *Lactococcus lactis* ssp. ARH74	M_1 (0,15 µg mL^{-1}) / PBS, leite integral e leite desnatado	77,0% de redução com *L. rhamnosus* GG viável no período de 4 h em PBS. 76,1% de descontaminação usando *L. rhamnosus* LC-705 durante 24 h em PBS; 69,9 e 63,6% de diminuição em leite desnatado e integral.
Haskard et al (2001)	*Lactobacillus rhamnosus* GG; *L. rhamnosus* LC-705; *L.*	B_1 (10 ng mL^{-1}) / PBS	*L. rhamnosus* GG e *L. rhamnosus* LC-705 ligaram

	acidophilus LC1; *L. lactis* subsp. *lactis*; *L. acidophilus* ATCC 4356; *L. plantarum*; *L. casei* Shirota; *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*; *L. helveticus*; *Propionibacterium freudenreichii* subsp. *shermanii* JS; *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*; *Streptococcus thermophilus*		78,9 e 76,5% em 4 h respectivamente, e após lavagens com PBS mantiveram 49,5 e 37,8% da micotoxina.
Kabak; Var (2008)	*Lactobacillus acidophilus* NCC 12; *L. acidophilus* NCC 36; *L. acidophilus* NCC 68; *L. rhamnosus*; *Bifidobacterium bifidum* Bb13; *B. bifidum* NCC 381	M_1 (5; 10; 20 ng mL^{-1}) / PBS e leite	*B. bifidum* Bb13 viável em PBS, atingiu 26,6% de redução em 24 h com 10^8 UFC mL^{-1}. O tratamento térmico das células não proporcionou diferença significativa, exceto para *L. acidophilus* NCC 12. O *B. bifidum* Bb13 obteve 25,94% (5,0 ng mL^{-1}) e 27,3% (20,0 ng mL^{-1}) de descontaminação nos ensaios com leite, para células viáveis ou não, respectivamente.
Bovo et al (2013)	*Lactibacillus plantarum* CTC368; *Enterococcus avium* CTC469; *Pediococcus pentosaceus* TR570; *L. delbrueckii* spp. *bulgaricus* LB340; *L. rhamnosus* HOWARU; *Bifidobacterium lactis* FLORA-FIT BI07; *L. gasseri* ATCC 33323	M_1 (0,15 µg mL^{-1} no PBS) e (0,5 µg L^{-1} no leite) / PBS e leite desnatado	O tratamento com calor teve maior capacidade de ligação com a aflatoxina, usando *L. rhamnosus*. A estabilidade do complexo foi mais estável nas células não viáveis. *L. bulgaricus* atingiu 65,6 e 69,1% de ligação em PBS com 15 min e 24 h; no ensaio em leite *B. lactis* obteve 37,6 e 32,54% de ligação em 4 e 37 °C.
Ghazvini et al (2016)	*Bifidobacterium bifidum* PTCC 1644; *Lactobacillus fermentum* PTCC 1744; *Aspergillus parasiticus* PTCC 5286	B_1 e G_1 (125 ppb); B_2 e G_2 (25 ppb) / Caldo tríptico de soja	*B. bifidum* diminuiu $AFLAB_1$, $AFLAG_1$, e $AFLAG_2$ em 99,9% e $AFLAB_2$ em 99,8%. *L. fermentum* reduziu em 99,9% todas micotoxinas. *B. bifidum* e *L. fermentum* reduziram o crescimento fúngico em 81,6 e 77%, respectivamente.
Sedaghat et al (2016)	*Lactobacillus plantarum* PIN; *L. plantarum* CAG23; *L. casei* D31; *L. pentosus* H39; *L. plantarum* NBRC 107151; *L. plantarum* KU13; *Aspergillus*	- / Queijo fresco	*L. plantarum* PIN (10^8 UFC mL^{-1}) apresentou a melhor atividade antifúngica, proporcionando um atraso de 19 e 22 dias no crescimento de *A. flavus* e *A. parasiticus*,

	flavus PTCC 5004 e *A. parasiticus* PTCC 5286		respectivamente a temperatura de armazenamento em 4 °C.
Ismail et al (2017)	*Lactobacillus plantarum* NRRL B-4496; *L. helveticus* ATCC 12046; *Lactococcus lactis* JF 3102; *Saccharomyces cerevisiae* HR 125[a]	M_1 (0,05; 0,1 µg L^{-1}) / Leite	Houve 100% de ligação com *S. cerevisiae* e *L. helveticus* na mistura com os quatro micro-organismos (10^{10} células mL^{-1} e 0,05 µg L^{-1} de $AFLAM_1$). *L. plantarum* e *Lactococcus lactis* obtiveram 80 e 76% de ligação. A concentração de 0,1 µg L^{-1} de $AFLAM_1$ gerou 92; 87; 85; 77 e 73% de ligação com *S. cerevisiae*; a mistura de todos organismos, *L. helveticus*, *L. plantarum* e *Lactococcus lactis*, respectivamente.
Kamyar; Movassagh ghazani, (2017).	Grupo 1 – *Lactobacillus acidophilus*; *Bifidobacterium* BB-12; *Streptococcus thermophiles*; grupo 2 – *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*; *Leuconostoc*; *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*; grupo 3 – *Debaromyces hansenii*; *Kluyveromyces marxians* subsp. *marxianus*	M_1 (150; 200 ; 250 ng L^{-1}) / Kefir utilizando leite	O maior nível de diminuição da AFLA foi 65% aplicando *L. acidophilus*, *B.* BB-12, *S. thermophiles* e 200 ng L^{-1}.
Sarlak et al (2017)	CH-1 (*Streptococcus thermophilus*; *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*); *L. acidophilus* LA-5; *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb-12; *L. casei* LAFTI L26 e *L. rhamnosus* HN001	M_1 (0,5 ppb) / Leite fermentado	*L. acidophilus* LA-5 (7 log UFC mL^{-1}) e pH final fermentativo em 4,5 em 28 dias de armazenamento, descontaminou 98,8% da AFLA.
Taheur et al (2017)	Bactérias e leveduras isoladas de grãos e leite do kefir	B_1 (1 µg mL^{-1}) / Leite e em caldo Man, Rogosa e Sharpe e extrato de levedura peptona e dextrose	*Lactobacillus kefiri* e *Kazachstania servazzii* ligaram 80 e 74% da $AFLAB_1$ em leite, respectivamente, a estabilidade do complexo liberaram 66 e 35%, após o tratamento em pH 7; 3 e 8.
Abdelmotilib et al (2018)	*Lactobacillus plantarum* DSM 20174; *L. acidophilus* DSM 20079; *Bifidobacterium bifidum* DSM 20082; *Kluyveromyces lactis* CBS	M_1 (50 ng mL^{-1}) / PBS e leite	A maior redução foi utilizando o efeito combinatório das BAL tratadas termicamente na concentração de 5×10^9 UFC mL^{-1}, conseguindo taxas de

	2359; *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 64712		87,9 e 90,9% em PBS e leite, respectivamente.
Barukcic et al (2018)	*Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12, *Lactobacillus casei* LC-01; cultura combinada ABT-5 de *L. acidophilus* La-2; BB-12 e *Streptococcus thermophilus*; culturas comerciais de iogurte YC-380; mesófilos CHN-19; kefir XPL-1	M_1 (50 ng kg^{-1}) / Leite fermentado	*Lactobacillus casei* LC-01 obteve 58% de redução, proporcionando taxas de descontaminação de até 14 dias.
Delgado et al (2018)	A proteína avaliada isolada ou em combinação com *Debaryomyces hansenii* FHSCC 253H e/ou *Pediococcus acidilactici* fargo 35; *Aspergillus parasiticus* CECT 2682	B_1 e G_1 / Extrato de levedura, extrato de levedura enriquecido com cloreto de cálcio e queijo fermentado a seco	O tratamento com a proteína e *Debaryomyces hansenii* FHSCC 253H inibiu o crescimento do *A. parasiticus* de 5 até 15 dias, com concentrações de $AFLAB_1$ menores que 4 ppb (LOD) e $AFLAG_1$ menores que 1,5 ppb (LOD).
Ghanbari et al (2018)	*Lactobacillus plantarum* 1058; *L. delbrueckii* subsp. l*actis* 1057; *Aspergillus parasiticus* ATCC 15517	Expressão do gene aflR / Microdiluição em caldo	A $AFLAG_2$ foi inibida a níveis abaixo do limite de detecção e as $AFLAB_1$, $AFLAB_2$ e $AFLAG_1$ foram menos detectadas na exposição com *L. plantarum*, obtendo concentrações 50600; 2200; 25600 e 78400 ppb, respectivamente; A análise de PCR demonstrou redução na expressão do gene aflR, em ambas as BAL.
Kuharic et al (2018)	*Lactobacillus plantarum* SM1; *L. plantarum* SMB; *L. plantarum* MM; *L. plantarum* KM; *L. paracasei* KM; *L. rhamnosus* KM; *L. plantarum* SMA; *L. plantarum* SS1; *L. helveticus* S9; *Lactococcus lactis* 5MS1	M_1 (0,5 µg L^{-1}) / Leite	*L. plantarum* KM viável ou tratado termicamente foi capaz de ligar a $AFLAM_1$, obtendo 92,7 e 94,5% de ligação, respectivamente, em 4 h de cultivo.
Marrez et al (2018)	*Lactobacillus acidophilus* CH-2; *Streptococcus thermophilus* CH-1; *L. rhamnosus* B-445; *L. plantarum* EMCC-1039	B_1 (50 ng mL^{-1}) / Leite integral e caldo Man, Rogosa e Sharpe	No caldo Man, Rogosa e Sharpe as maiores reduções de $AFLAB_1$ ocorreram com *S. thermophilus* CH-1, seguido de *L. plantarum* EMCC-1039, com 65,7 e 57,7% de descontaminação. *L. plantarum* EMCC-1039, *L. rhamnosus* B-

			445 e *S. thermophilus* CH-1 propiciaram descontaminações de 85,2; 79,4 e 65,2%, respectivamente, no leite.
Sokoutifar et al (2018)	*Lactobacillus acidophilus* PTCC 1643; *L. plantarum* PTCC 1058	M_1 (180 pg mL^{-1}) / Leite fermentado industrial e tradicional	*L. plantarum* PTCC 1058 apresentou maior eficiência a 37 °C com 100% de redução da micotoxina nos primeiros 10 dias para o leite fermentado tradicional e industrial.
Sevim et al (2019)	*Bifidobacterium bifidum* ATCC 35914; *B. animalis* subsp. *animalis* ATCC 27672; *Lactobacillus plantarum* ATCC 10697; culturas iniciadoras de iogurte (*L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* RSKK 04087 e *Streptococcu thermophiles* RSKK 01017)	M_1 (100 ng mL^{-1}) / Iogurte e PBS	A ligação da micotoxina em iogurte sem a suplementação da inulina obteve os melhores resultados com *B. bifidum* e *B. animalis* subsp. *animalis* após um dia de armazenamento com 60,8% de ligação. Após 10 dias de armazenamento *L. plantarum* e *B. bifidum* atingiram 55,1% de ligação. A adição de inulina obteve o máximo de ligação com *L. plantarum* e *B. bifidum*, 70,5% após um dia de armazenamento. O ensaio com PBS obteve resultados de ligação inferiores ao encontrado no iogurte.
Wochner et al (2019)	*Lactobacillus acidophilus* La-5	B_1 (3, 25 a 6,0 µg L^{-1}) e M_1 (1,0 a 2,0 µg L^{-1}) / Leite	A maior redução de $AFLAB_1$ foi utilizando a BAL, β-glucana e polidextrose atingindo 35,5%, e a redução de $AFLAM_1$ foi de 71,5%. A melhor condição experimental foi 6,5 µg L^{-1} de $AFLAB_1$ e 2,0 µg L^{-1} de $AFLAM_1$ com tempo de incubação de 0 h e adição de probióticos e inulina (0,75%).
Gonçalves et al (2020)	*Lactobacillus rhamnosus*; *Lactococcus lactis; Saccharomyces cerevisiae*	M_1 (0,5 µg kg^{-1}) / Queijo Minas frescal	As BAL obtiveram 94% de redução com 10 dias de armazenamento. Avaliando somente a levedura, atingiu-se 100% em 20 dias de armazenamento. As BAL e a levedura diminuiram 100% em 10 dias de armazenamento.

É possível observar no Quadro 2, que a aplicação de *Lactobacillus plantarum*, *L. rhamnosus, L. bulgaricus* e *Bifidobacterium bifidum*, viáveis ou tratados termicamente, em leite ou derivados lácteos, têm resultados promissores de descontaminação. Gonçalves et al (2018) atingiu níveis de 40 a 3670 ng L^{-1} de $AFLAM_1$ em leite, fazendo uso das condições experimentais desenvolvidas por Sarlak et al (2017), que obteve 98,8% de descontaminação em leite fermentado com contaminação inicial de 0,5 ppb para $AFLAM_1$, utilizando concentração inicial de BAL em 7 log UFC mL^{-1} e temperatura de 40 °C com pH final em 4,5 e Taheur et al (2017), por meio do cultivo por 24 h a 25 °C, fazendo uso de leite contaminado com 1 µg mL^{-1} de $AFLAB_1$, atingiu 80% de redução, demonstrando as possibilidade de reduções dentro das concentrações nas diferentes legislações vigentes. Porém, a redução destes contaminantes dependerá dos micro-organismos que serão utilizados, das concentrações de BAL e de aflatoxina presente, tempo de contato entre bactéria e aflatoxina e, a estabilidade deste complexo.

3. Considerações Finais

O uso de BAL em leite e derivados contaminados com AFLAM1 e/ou AFLAB1 com o objetivo de reduzir e/ou degradar estes contaminantes é uma alternativa promissora, demonstrada pelos estudos apresentados nesta revisão. Entretanto ainda é necessário elucidar o mecanismo de ação entre os micro-organismos e as aflatoxinas, bem como avaliar a estabilidade deste complexo a fim de garantir que estes compostos não ofereçam risco à saúde humana.

4. Referências

ABBÈS, S.; SALAH-ABBÈS, J. B.; JEBALI, R.; YOUNES, R. B.; OUESLATI, R. Interaction of aflatoxin B_1 and fumonisin B_1 in mice causes immunotoxicity and oxidative stress: possible protective role using lactic acid bacteria. **Journal of Immunotoxicology,** v. 13, p. 1 – 9, 2016.

ABDELMOTILIB, N. M.; HAMAD, G. M.; ELDEREA, H. B.; SALEM, E. G.; SOHAIMY, S. A. E. Aflatoxin M_1 reduction in milk by a novel combination of probiotic bacterial and yeast strains. **European Journal of Nutrition & Food Safety,** v. 8, p. 83 – 99, 2018.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA- ANVISA. Resolução de Diretoria Colegiada (RDC) número 7 de 18 de Fevereiro de 2011. Limites máximos tolerados para micotoxinas em alimentos. **Diário Oficial da União.** Disponível em: http://portal.anvisa.gov.br/documents/10181/2968262/%282%29RDC_07_2011_COMP.pdf/42310948-a1c5-4213-a467-1da97b8f4cae. Acesso em: 30 julho 2020.

ALAHLAH, N.; MAADOUDI, M. E.; BOUCHRITI, N.; TRIQUI, R.; BOUGTAIB, H. Aflatoxin M_1 in UHT and poder milk marketed in the northern área of Morocco. **Food Control,** v. 114, p. 1 – 5, 2020.

AWASTHI, V.; BAHMAN, B.; THAKUR, L. K.; SINGH, S. K.; DUA, A.; GANGULY, S. Contaminants in milk and impact of heating: na assessment study. **Indian Journal of Public Health,** v. 56, p. 95 – 99, 2012.

BAHRAMI, R.; SHAHBAZI, Y.; NIKOUSEFAT, Z. Aflatoxin M_1 in milk and traditional dairy products from west parto f Iran: occurrence and seasonal variation with emphasis on risk assessment of human exposure. **Food Control,** v. 62, p. 250 – 256, 2016.

BAKIRCI, I. A study on the occurrence of aflatoxin M_1 in milk and milk products produced in Van province of Turkey. **Food Control,** v. 12, p. 47 – 51, 2001.

BARUKCIC, I.; BILANDZIC, N.; MARKOV, K.; JAKOPOVIC, K. L.; BOZANIC, R. Reduction in aflatoxin M_1 concentration during production and storage of selected fermented milks. **Intermational Journal of Dairy Technology,** v. 71, p. 734 – 740, 2018.

BECKER-ALGERI, T. A.; CASTAGNARO, D.; BORTOLI, K.; SOUZA, C.; DRUNKLER, D. A.; BADIALE-FURLONG, E. Micotoxins in bovine milk and dairy products: a review. **Journal of Food Science,** v. 81, p. R544 – R552, 2016.

BECKER-ALGERI, T. A.; SOUZA, C.; BORTOLI, K.; CASTAGNARO, D.; SCAGLIONI, P. T.; DRUNKLER, D. A.; DORS, G.; VALDERRAMA, P.; BADIALE-FURLONG, E. Seasonal variation of milk quality: physicochemical, microbiological, and toxicological. **Journal of Food Safety,** v. e12796, 2020.

BENKERROUM, N. Chronic and acute toxicities of aflatoxinas: mechanisms of action. **International Journal of Environmental Research and Public Health,** v. 17, p. 1 – 28, 2019.

BENNETT, J. W.; KLICH, M. Mycotoxins. **Clinical Microbiology Reviews,** v. 16, p. 497 – 516, 2003.

BOVO, F.; CORASSIN, C. H.; ROSIM, R. E.; OLIVEIRA, C. A. F. Efficiency of lactic acid bacteria strains for decontamination of aflatoxin M_1 in phosphate buffer saline solution and skimmed milk. **Food and Bioprocess Technology,** v. 6, p. 2230 – 2234, 2013.

BRASIL. Instrução Normativa (IN) número 76, de 26 de Novembro de 2018. Regulamento técnico de identidade e qualidade de leite cru refrigerado. **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento,** 2018. Disponível em: http://sistemasweb.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=consultarLegislacaoFederal. Acesso em: 17 julho 2020.

BRASIL. Instrução Normativa (IN) número 77, de 26 de Novembro de 2018. Critérios e procedimentos para a produção, acondicionamento, conservação, transporte e recepção do leite cru em estabelecimentos registrados no serviço de inspeção oficial. **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento,** 2018a. Disponível em:

http://sistemasweb.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=consultarLegislacaoFederal. Acesso em: 17 julhon 2020.

BRASIL. Portaria número 7, de 09 de Novembro de 1988. Baixa os padrões mínimos de matéria-prima destinada à alimentação animal. **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento,** 1988. Disponível em: http://sistemasweb.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=consultarLegislacaoFederal. Acesso em: 01 agosto 2020.

CAMPAGNOLLO, F. B.; GANEV, K. C.; KHANEGHAH, A. M.; PORTELLA, J.; CRUZ, A. G.; GRANATO, D.; CORASSIN, C. H.; OLIVEIRA, C. A. F.; SANT'ANA, A. S. The occurrence and effect of unit operations for dairy products processing on the fate of aflatoxin M_1: a review. **Food Control,** v. 68, p. 310 – 329, 2016.

CHAVARRÍA, G.; GRANADOS-CHINCHILLA, F.; ALFARO-CASCANTE, M.; MOLINA, A. Detection of aflatoxin M_1 in milk, cheese and sour cream samples from Costa Rica using enzyme-assisted extraction and HPLC. **Food Additives & Contaminants: Part B: Surveillance,** v. 8, p. 128 – 135, 2015.

CHEN, Y.; LI, R.; CHANG, Q.; DONG, Z.; YANG, H.; XU, C. *Lactobacillus bulgaricus* or *Lactobacillus rhamnosus* suppresses NF-kB signaling pathway and protects against AFB_1-Induced hepatitis: a novek potential preventive strategy for aflatoxicosis? **Toxins,** v. 11, p. 1 – 15, 2019.

COMISSÃO DA UNIÃO EUROPEIA. Comissão da Regulamentação da União Europeia número 165/2010 de 26 Fevereiro 2010. Determinação de teores máximos para certos contaminantes em alimentos, no que diz respeito às aflatoxinas. **Comissão da Regulamentação,** 2010. Disponível em: https://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2010:050:0008:0012:EN:PDF. Acesso em: 31 julho 2020.

CREPPY, E. E. Update of survey, regulation and toxic effects of mycotoxins in Europe. **Toxicology Letters,** v. 127, p. 19 – 28, 2002.

DADZIE, M. A.; OPPONG, A.; OFORI, K.; ELEBLU, J. S.; IFIE, E. B.; BLAY, E.; OBENG-BIO, E. Distribution of *Aspergillus flavus* and aflatoxin accumulation in stored maize grains across three agro-ecologies in Ghana. **Food Control,** v. 104, p. 91 – 98, 2019.

DALIÉ, D. K. D.; DESCHAMPS, A. M.; RICHARD-FORGET, F. Lactic acid bacteria – Potential for controlo f mould growth and mycotoxins: a review. **Food Control,** v. 21, p. 370 – 380, 2010.

DAOU, R.; AFIF, C.; JOUBRANE, K.; KHABBAZ, L. R.; MAROUN, R.; ISMAIL, A.; KHOURY, A. E. Occurrence of aflatoxin M_1 in raw, pasteurized, UHT cow's milk, and dairy products in Lebanon. **Food Control,** v. 111, p. 1 – 29, 2020.

DELGADO, J.; RODRÍGUEZ, A.; GARCÍA, A.; NÚÑEZ, F.; ASENSIO, M. A. Inhibitory effect of PgAFP and protective cultures on *Aspergillus parasiticus* growth and aflatoxins production on dry-fermented sausage and cheese. **Microorganisms – Open Access Journal,** v. 6, p. 1 – 16, 2018.

DEVECI, O. Changes in the concentration of aflatoxin M_1 during manufacture and storage of White pickled cheese. **Food Control,** v. 18, p. 1103 – 1107, 2007.

FABIAN, E.; MAJCHRZAK, D.; DIEMINGER, B.; MEYER, E.; ELMADFA, I. Influence of probiotic and conventional yoghurt on the status of vitamins B_1, B_2 and B_6 in Young healthy women. **Annals of Nutrition & Metabolism,** v. 52, p. 29 – 36, 2008.

FAZELI, M. R.; HAJIMOHAMMADALI, M.; MOSHKANI, A.; SAMADI, N.; JAMALIFAR, H.; KHOSHAYAND, M. R.; VAGHARI, E.; POURAGAHI, S. Aflatoxin B_1 binding capacity of autochthonous strains of lactic acid bactéria. **Journal of Food Protection,** v. 72, p. 189 – 192, 2009.

FERNANDES, A. M.; CORRÊA, B.; ROSIM, R. E.; KOBASHIGAWA, E.; OLIVEIRA, C. A. F. Distribution and stability of aflatoxin M_1 during processing and storage of Minas Frescal cheese. **Food Control,** v. 24, p. 104 – 108, 2012.

FOOD & DRUG ADMINISTRATION – FDA. CPG Sec. 527.400 whole milk, lowfat milk, skim milk – aflatoxin M_1. **Office of Regulatory Affairs and Center for Food and Applied Nutrition,** 2005. Disponível em: https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/cpg-sec-527400-whole-milk-lowfat-milk-skim-milk-aflatoxin-m1. Acesso em: 28 julho 2020.

FOOD & DRUG ADMINISTRATION – FDA. Sec. 683.100 Action Levels for Aflatoxins in Animal Food. **Office of Regulatory Affairs and Center for Veterinary Medicine,** 2019. Disponível em: https://www.fda.gov/media/121202/download#:~:text=In%201969%2C%20FDA%20set%20an,to%20the%20lowest%20possible%20level.. Acesso em: 30 julho 2020.

GHANBARI, R.; AGHAEE, E. M.; REZAIE, S.; KHANIKI, G. J.; ALIMOHAMMADI, M.; SOLEIMANI, M.; NOORBAKHSH, F. The inhibitory effect of lactic acid bacteria on aflatoxin production and expression of aflR gene in *Aspergillus parasiticus*. **Journal of Food Safety,** v. 38, p. 1 – 6, 2018.

GHAZVINI, R. D.; KOUHSARI, E.; ZIBAFAR, E.; HASHEMI, S. J.; AMINI, A.; NIKNEJAD, F. Antifungal activity and aflatoxin degradation of *Bifidobacterium bifidum* and *Lactobacillus fermentum* against toxigenic *Aspergillus parasiticus*. **The Open Microbiology Journal,** v. 10, p. 197 – 201, 2016.

GOMAA, E. Z.; ABDELALL, M. F.; EL-MAHDY, O. M. Detoxification of aflatoxin B_1 by antifungal compounds from *Lactobacillus brevis* and *Lactobacillus paracasei*, isolated from dairy products. **Probiotics and Antimicrobial Proteins,** v. 10, p. 201 – 209, 2018.

GONÇALVES, L.; ROSA, A. D.; GONZALES, S. L.; FELTES, M. M. C.; BADIALE-FURLONG, E.; DORS, G. C. Incidence of aflatoxin M_1 in fresh milk from small farms. **Food Science and Technology,** v. 37, p. 11 – 15, 2017.

GONÇALVES, K. D. M.; SIBAJA, K. V. M.; FELTRIN, A. C. P.; REMEDI, R. D.; GARCIA, S. O.; GARDA-BUFFON, J. Occurrence of aflatoxinas B_1 and M_1 in milk powder

and UHT consumed in the city of Assomada (Cape Verde Islands) and Southern Brazil. **Food Control,** v. 93, p. 260 – 264, 2018.

GONÇALVES, B. L.; MUAZ, K.; COPPA, C. F. S. C.; ROSIM, R. E.; KAMIMURA, E. S.; OLIVEIRA, C. A. F.; CORASSIN, C. H. Aflatoxin M_1 adsorption by non-viable cells of lactic acid bacteria and *Saccharomyces cerevisiae* strains in Frescal cheese. **Food Research International,** v. 136, p. 1 – 5, 2020.

GOURAMA, H.; BULLERMAN, L. B. Inhibition of growth and aflatoxin production of *Aspergillus flavus* by *Lactobaacillus* species. **Journal of Food Protection,** v. 58, p. 1249 – 1256, 1995.

GOVARIS, A.; ROUSSI, V.; KOIDIS, P. A.; BOTSOGLOU, N. A. Distribution and stability of aflatoxin M_1 during production and storage of yoghurt. **Food Additives & Contaminants,** v. 19, p. 1043 – 1050, 2002.

GUIMARÃES, A.; SANTIAGO, A.; TEIXEIRA, J. A.; VENÂNCIO, A.; ABRUNHOSA, L. Anti-aflatoxigenic effect of organic acids produced by *Lactobacillus plantarum*. **International Journal of Food Microbiology,** v. 264, p. 31 – 38, 2018.

HASKARD, C. A.; EL-NEZAMI, H. S.; KANKAANPAA, P. E.; SALMINEN, S.; AHOKAS, J. T. Surface binding of aflatoxin B_1 by lactic acid bactéria. **Applied and Environmental Microbiology,** v. 67, p. 3086 – 3091, 2001.

HASSANIN, N. I. Stability of aflatoxin M_1 during manufacture and storage of yoghurt, yoghurt-cheese and acidified milk. **Journal of the Science of Food and Agriculture,** v. 65, p. 31 – 34, 1994.

IHA, M. H.; BARBOSA, C. B.; OKADA, I. A.; TRUCKSESS, M. W. Aflatoxin M_1 in milk and distribution and stability of aflatoxin M_1 during production and storage of yoghurt and cheese. **Food Control,** v. 29, p. 1 – 6, 2013.

IQBAL, S. Z.; ASI, M. R.; MALIK, N. The seasonal variation of aflatoxin M_1 in milk and dairy products and assessment of dietary intake in Punjab, Pakistan. **Food Control,** v. 79, p. 292 – 296, 2017.

ISMAIL, A.; LEVIN, R. E.; RIAZ, M.; AKHTAR, S.; GONG, Y. Y.; OLIVEIRA, C. A. F. Effect of diferente microbial concentrations on binding of aflatoxin M_1 and stability testing. **Food Control,** v. 73, p. 492 – 496, 2017.

JEBALI, R.; SALAH-ABBÈS, J. B.; ABBÈS, S.; HASSAN, A. M.; ABDEL-AZIEM, S. H.; EL-NEKEETY, A. A.; OUESLATI, R.; ABDEL-WAHHAB, M. A. *Lactobacillus plantarum* alleviate aflatoxins (B_1 and M_1) induced disturbances in the intestinal genes expression and DNA fragmentation in mice. **Toxicon,** v. 146, p. 13 – 23, 2018.

KABAK, B.; VAR, I. Factors affecting the removal of aflatoxin M_1 from food model by *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* strains. **Journal of Environmental Science and Health, Part B: Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes,** v.43, p. 617 – 624, 2008.

KAMYAR, S.; MOVASSAGHGHAZANI, M. Reduction of aflatoxin M_1 in milk using kefir starter. **Iranian Journal of Toxicology,** v. 11, p. 27 – 31, 2017.

KLEIN, P. J.; BUCKNER, R.; KELLY, J.; COULOMBE, R. A. J. Biochemical basis for the extreme sensitivity of turkeys to aflatoxin B_1. **Toxicology and Applied Pharmacology,** v. 165, p. 45 – 52, 2000.

KUHARIĆ, Ž.; JAKOPOVIĆ, Ž.; ČANAK, I.; FRECE, J.; BOŠNIR, J.; PAVLEK, Ž.; IVEŠIĆ, M.; MARKOV, K. Removing aflatoxin M_1 from milk with native lactic acid bacteria, centrifugation, and filtration. **Archives of Industrial Hygiene and Toxicology,** v. 69, p. 334 – 339, 2018.

LINDGREN, S. E.; DOBROGOSZ, W. J. Antagonistic actiivities of lactic acid bacteria in food and feed fermentations. **FEMS Microbiology Reviews,** v. 87, p. 149 – 164, 1990.

LÓPEZ, C.; RAMOS, L.; RAMADÁN, S.; BULACIO, L.; PEREZ, J. Distribution of aflatoxin M_1 in cheese obtained from milk artificially contamined. **International Journal of Food Microbiology,** v. 64, p. 211 – 215, 2001.

MARREZ, D. A.; SHAHY, E. M.; EL-SAYED, H. S.; SULTAN, Y. Y. Detoxification of aflatoxin B_1 in milk using lactic acid bacteria. **Journal of Biological Sciences,** v. 18, p. 144 – 151, 2018.

MOHAMMEDI-AMEUR, S.; DAHMANE, M.; BRERA, C.; KARDJADJ, M.; BEM-MAHDI, M. H. Occurrence and seasonla variation of aflatoxin M_1 in raw cow milk collected from diferent regions of Algeria. **Veterinary World,** v. 13, p. 433 – 439, 2020.

MOSS, M. O. Recent studies of mycotoxins. **Journal of Applied Microbiology Symposium Supplement,** v. 84, p. 62S – 76S, 1998.

MURPHY, P. A.; HENDRICH, S.; LANDGREN, C.; BRYANT, C.M. Food mycotoxins: an update. **Journal of Food Science,** v. 71, p. R51 – R65, 2006.

NATEGHI, F.; NOORBAKHSH, F.; LOTFALI, E.; REZAIE, S. Investigation the effects of *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus casei* on aflR gene expression in *Aspergillus parasiticus* by real time- PCR. **Iranian Journal of Public Health,** v. 45, p. 781 – 786, 2016.

NDUTI, N.; MCMILLAN, A.; SENEY, S.; SUMARAH, M.; NJERU, P.; MWANIKI, M.; REID, G. Investigating probiotic yoghurt to reduce an aflatoxin B_1 biomarker among school children in eastern Kenya: preliminar study. **International Dairy Journal,** v. 63, p. 124 – 129, 2016.

OBREMSKI, K.; ZIELONKA, L.; GAJECKA, M.; JAKIMIUK, E.; GAJECKI, M. Mycotoxins – dairy cattle breeding problem. A case report. **Bulletin Veterinary Institute in Pulawy,** v. 53, p. 221 – 224, 2009.

O'BRIEN, M.; O'KIELY, P.; FORRISTAL, P. D.; FULLER, H. T. Fungi isolated from contaminated baled grass silage on farms in the Irish Midlands. **FEMS Microbiology Letters,** v. 247, p. 131 – 135, 2005.

OMEIZA, G. K.; KABIR, J.; KWAGA, J. K. P.; KWANASHIE, C. N.; MWANZA, M.; NGOMA, L. A risk assessment study of the occurrence and distribution of aflatoxigenic *Aspergillus flavus* and aflatoxin B_1 in dairy cattle feeds in a central northern state, Nigeria. **Toxicology Reports,** v. 5, p. 846 – 856, 2018.

ONILUDE, A. A.; FAGADE, O. E.; BELLO, M. M.; FADAHUNSI, I. F. Inhibition of aflatoxin-producing aspergilli by lactic acid bactéria isolates from indigenously fermented cereal gruels. **African Journal of Biotechnology,** v. 4, p. 1404 – 1408, 2005.

PARK, D. L. Effect of processing on aflatoxin. In: Mycotoxins and Food Safety, 1 ed. New York: Kluwer Academic, v. 504, p. 173 – 179, 2002.

PEI, S. C.; ZHANG, Y. Y.; EREMIN, S. A.; LEE, W. J. Detection of aflatoxin M_1 in milk products from China by ELISA using monoclonal antibodies. **Food Control,** v. 20, p. 1080 – 1085, 2009.

PIERIDES, M.; EL-NEZAMI, H.; PELTONEN, K.; SALMINEN, S.; AHOKAS, J. Ability of dairy strains of lactic acid bactéria to bind aflatoxin M_1 in a food model. **Journal of Food Protection,** v. 63, p. 645 – 650, 2000.

PITT, J. I.; TANIWAKI, M. H.; COLE, M. B. Mycotoxin production in major crops as influenced by growing, harvesting, storage and processing, with emphasis on the achievement of Food Safety Objectives. **Food Control,** v. 32, p. 205 – 215, 2013.

PRANDINI, A.; TANSINI, G.; SIGOLO, S.; FILIPPI, L.; LAPORTA, M.; PIVA, G. On the occurrence of aflatoxin M_1 in milk and dairy products. **Food and Chemical Toxicology,** v. 47, p. 984 – 991, 2009.

SAKIN, F.; TEKELI, I. O.; YIPEL, M.; KUREKCI, C. Occurrence and health risk assessment of aflatoxins and ochratoxin A in Sürk, a Turkish dairy food, as studied by HPLC. **Food Control,** v. 90, p. 317 – 323, 2018.

SALAH-ABBÈS, J. B.; ABBÈS, S.; JEBALI, R.; HAOUS, Z.; OUESLATI, R. Potential preventive role of lactic acid bacteria against aflatoxin M_1 immunotoxicity and genotoxicity in mice. **Journal of Immunotoxicology,** v. 12, p. 1 – 8, 2015.

SANTOS, M. C.; SOUSA, R. B.; OLIVEIRA, S. E. M.; LIMA, K. S. C.; LIMA, A. L. S. Micotoxinas e seu potencial como agentes de guerra. **Revista Virtual de Química,** v. 6, p. 761 – 778, 2014.

SARLAK, Z.; ROUHI, M.; MOHAMMADI, R.; KHAKSAR, R.; MORTAZAVIAN, A. M.; SOHRABVANDI, S.; GARAVAND, F. Probiotic biological strategies to decontaminate aflatoxin M_1 in a traditional Iranian fermented milk drink (Doogh). **Food Control,** v. 71, p. 152 – 159, 2017.

SARTORI, A. V.; MATTOS, J. S.; MORAES, M. H. P.; NÓBREGA, A. W. Determination of aflatoxins M_1, M_2, B_1, B_2, G_1 and G_2 and ochratoxin A in UHT and powdered milk by modified QuEChERS method and ultra-high-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry. **Food Analytical Methods,** v. 8, p. 2321 – 2330, 2015.

SASSAHARA, M.; NETTO, D. P.; YANAKA, E. K. Aflatoxin occurrence in foodstuff supplied to dairy cattle and aflatoxin M_1 in raw milk in the North of Paraná state. **Food and Chemical Toxicology,** v. 43, p. 981 – 984, 2005.

SCAGLIONI, P. T.; BECKER-ALGERI, T.; DRUNKLER, D.; BADIALE-FURLONG, E. Aflatoxin B_1 and M_1 in milk. **Analytica Chimia Acta,** v. 829, p. 68 – 74, 2014.

SEDAGHAT, H.; ESKANDARI, M. H.; MOOSAVI-NASAB, M.; SHEKARFOROUSH, S. S. Application of non-starter lactic acid bacteria as biopreservative agents to control fungal spoilage of fresh cheese. **International Dairy Journal,** v. 56, p. 87 – 91, 2016.

SEVIM, S.; TOPAL, G. G.; TENGILIMOGLU-METIN, M. M.; SANCAK, B.; KIZIL, M. Effects of inulin and lactic acid bacteria strains on aflatoxin M_1 detoxification in yogurt. **Food Control,** v. 100, p. 235 – 239, 2019.

SIBAJA, K. V. M.; GONÇALVES, K. D. M.; GARCIA, S. O.; FELTRIN, A. C. P.; NOGUEIRA, W. V.; BADIALE-FURLONG, E.; GARDA-BUFFON, J. Aflatoxin M_1 and B_1 in Colombian milk powder and estimated risk exposure. **Food Additives & Contaminants: Part B,** v. 12, p. 1 – 8, 2019.

SOKOUTIFAR, R.; RAZAVILAR, V.; ANVAR, A. A.; SHOEIBY, S. Degraded aflatoxin M_1 in artificially contaminated fermented milk using *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus plantarum* affected by some bio-physical factors. **Journal of Food Safety,** v. 38, p. 1 – 12, 2018.

SOUZA, G. N.; CARVALHO, A. C.; MENDONÇA, L. C. **Qualidade do leite.** In: Manual de bovinocultura de leite. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite; Brasília: LK Editora, p. 545, 2010.

SWEENEY, M. J.; DOBSON, A. D. W. Mycotoxin production by *Aspergillus*, *Fusarium* and *Penicillium* species. **Internatinal Journal of Food Microbiology,** v. 43, p. 141 -158, 1998.

TADESSE, S.; BERHANU, T.; WOLDEGIORGIS, A. Z. Aflatoxin M_1 in milk and milk products marketed by local and industrial producers in Bishoftu town of Ethiopia. **Food Control,** v. 118, p. 1 – 10, 2020.

TAHEUR, F. B.; FEDHILA, K.; CHAIEB, K.; KOUIDHI, B.; BAKHROUF, A.; ABRUNHOSA, L. Adsorption of aflatoxin B_1, zearalenone and ochratoxin A by microorganisms isoltaed from kefir grains. **International Journal of Food Microbiology,** v. 251, p. 1 – 7, 2017.

TOMASEVIC, I.; PETROVIC, J.; JOVETIC, M.; RAICEVIC, S.; MILOJEVIC, M.; MIOCINOVIC, J. Two year survey on the occurrence and seasonal variation of aflatoxin M_1 in milk and milk products in Serbia. **Food Control,** v. 56, p. 64 – 70, 2015.

WOCHNER, K. F.; MOREIRA, M. C. C.; KALLSCHNE, D. L.; COLLA, E.; DRUNKLER, D. Detoxification of aflatoxin B_1 and M_1 by *Lactobacillus acidophilus* and prebiotics in whole cow's milk. **Journal of Food Safety,** v. 39, p. 1 – 10, 2019.

WORLD HEALTH ORGANIZATION – WHO. **Aflatoxins: aflatoxins pose a serious**

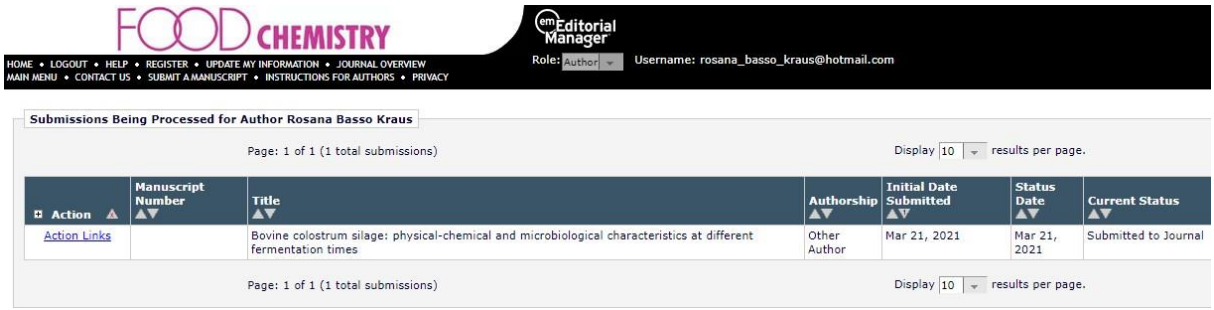
health risk to humans and livestock. Suíça, n. 18.1, p. 1 – 5, 2018. Disponível em: https://www.who.int/foodsafety/FSDigest_Aflatoxins_EN.pdf. Acesso em: 01 agosto 2020.

WU, Q.; JEZKOVA, A.; YUAN, Z.; PAVLIKOVA, L.; DOHNAL, V.; KUCA, K. Biological degradation of aflatoxinas. **Drug Metabolism Reviews,** v. 41, p. 1 – 7, 2009.

XIONG, J.; XIONG, L.; ZHOU, H.; LIU, Y.; WU, L. Occurrebce of aflatoxin B_1 in dairy cow feedstuff and aflatoxin M_1 in UHT and pasteurized milk in central China. **Food Control,** v. 92, p. 386 – 390, 2018.

XIONG, J.; PENG, L.; ZHOU, H.; LIN, B.; YAN, P.; WU, W.; LIU, Y.; WU, L.; QIU, Y. Prevalence of aflatoxin M_1 in raw milk and three types of liquid milk products in central-south China. **Food Control,** v. 108, p. 2 – 5, 2020.

Anexo B


FOOD CHEMISTRY
Editorial Manager
HOME • LOGOUT • HELP • REGISTER • UPDATE MY INFORMATION • JOURNAL OVERVIEW
MAIN MENU • CONTACT US • SUBMIT A MANUSCRIPT • INSTRUCTIONS FOR AUTHORS • PRIVACY
Role: Author
Username: rosana_basso_kraus@hotmail.com
Submissions Being Processed for Author Rosana Basso Kraus
Page: 1 of 1 (1 total submissions)
Display 10 results per page.
Action
Manuscript Number
Title
Authorship
Initial Date Submitted
Status Date
Current Status
Action Links
Bovine colostrum silage: physical-chemical and microbiological characteristics at different fermentation times
Other Author
Mar 21, 2021
Mar 21, 2021
Submitted to Journal
Page: 1 of 1 (1 total submissions)
Display 10 results per page.