

## AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA E FÍSICO-QUÍMICA DE LEITE PASTEURIZADO DOS LATICÍNIOS DA REGIÃO DA COMCAM

Vanessa Carvalho Rodrigues\*, Leila Larisa Medeiros Marques.

Tecnologia em Alimentos, Universidade Tecnológica Federal do Paraná-Campus Campo Mourão.

REBRAPA

**Resumo:** A avaliação da contaminação microbiológica e as análises físico-químicas são parâmetros importantes para determinar a vida útil dos alimentos e evitar que os mesmos não ofereçam riscos à saúde dos consumidores. Foram realizadas análises microbiológicas de coliformes a 35°C e 45°C e bactérias aeróbias mesófilas em 101 amostras de leite pasteurizado oriundo dos laticínios da região da COMCAM. Os parâmetros físico-químicos avaliados foram fosfatase alcalina, peroxidase e índice crioscópico. De acordo com os resultados obtidos, 21% das amostras apresentaram-se em desacordo com os padrões microbiológicos em relação à contagem de mesófilos e 1% para coliformes a 45°C. Quanto aos parâmetros físico-químicos, as análises de peroxidase e crioscopia encontraram-se fora dos padrões em 2% e 17% das amostras, respectivamente. Através dos resultados microbiológicos e físico-químicos obtidos podem ser observadas as condições de qualidade das amostras analisadas, atestando possíveis falhas durante o seu processamento e/ou armazenamento, resultando na contaminação das mesmas, pondo à prova a sua qualidade sanitária, podendo causar danos à saúde dos consumidores.

**Palavras-chave:** Leite; Pasteurização; Qualidade microbiológica.

**Microbiological and physicochemical evaluation of the pasteurized milk stemming from dairy from COMCAM region:** Microbiological and physicochemical analyses are important parameters to determine the shelf life and food safety. The aim of this study was to evaluate the microbiological and physicochemical parameters of 101 samples of pasteurized milk collected from dairies located in COMCAM region, Brazil. For microbiological analyzes, coliforms at 35°C and 45°C, and mesophilic aerobic bacteria counts were performed. The physicochemical parameters investigated were alkaline phosphatase, peroxidase, and cryoscopic index. According to the results, 21% of the samples were above the limit established by the Brazilian legislation for mesophilic bacteria counts, and 1% for coliform counts at 45°C. For the physicochemical parameters, the analyses of peroxidase and cryoscopy index were not in accordance for 2% and 17% of the samples, respectively. The microbiological and physicochemical results showed that the quality conditions of some pasteurized milks was not adequate, possible due errors during their handling, processing and storage. These factors could result in potential health risks for consumers.

**Keywords:** Milk; Microbiological analysis; Physicochemical analysis; Coliforms.

### 1 Introdução

A avaliação da contaminação microbiológica de alimentos é um dos parâmetros importantes para determinar sua vida útil, e também para que os mesmos não ofereçam riscos à saúde dos consumidores (SILVA *et al.*, 2008).

De modo geral, as análises microbiológicas devem ser realizadas com o objetivo de avaliar a qualidade mi-

crobiológica do processo produtivo e do alimento visando identificar um possível agente etiológico causador de surto de toxinfecção alimentar, além de avaliar o grau de contaminação por microrganismos deteriorantes, bem como de orientar o monitoramento, indicando medidas corretivas em pontos críticos de controle (MESQUITA *et al.*, 2006).

O controle microbiológico em amostras de leite é realizado principalmente, através da pesquisa de microrganismos indicadores que, quando presentes, podem fornecer informações sobre as condições sanitárias do produto. Este controle pode indicar falhas na produção, processamento ou armazenamento, assim

\* E-mail: cr.nessa@gmail.com

como a possível presença de patógenos, considerando que todas as bactérias de origem alimentar são patogênicas, e ainda estimar a vida de prateleira do produto. Os principais grupos de microrganismos indicadores de qualidade do leite são os aeróbios mesófilos e os coliformes (FRANCO; LANGRAF, 2008).

A qualidade do leite tornou-se um tema da maior importância para produtores leiteiros depois que entrou em vigor a Instrução Normativa nº 51 (IN-51), em 18 de setembro de 2002, que versa sobre a qualidade do leite e seu transporte a granel. Atualmente, está em vigor a Instrução Normativa nº 62 (IN-62/2011), que altera alguns anexos da IN-51, tornando-a mais rigorosa. O controle da qualidade do leite no Brasil tem sido um fator muito importante para a consolidação de toda cadeia produtiva do leite, principalmente nas indústrias de laticínios. A produção de um leite de boa qualidade garante, sem dúvida, segurança alimentar dos consumidores (SILVA, 2010).

As análises físico-químicas são uma ferramenta eficiente para a avaliação da qualidade do leite produzido e comercializado. A determinação do índice crioscópico permite verificar a ocorrência de fraudes, como desnatado prévio ou adição de água. Para avaliar a eficiência do beneficiamento, a pesquisa das enzimas peroxidase e fosfatase alcalina permitem verificar se o leite foi submetido à temperatura máxima para que seus componentes permaneçam íntegros, principalmente as proteínas, que se desnaturam acima de 80°C (SILVA *et al.*, 2008).

O objetivo deste trabalho foi investigar as condições microbiológicas e físico-químicas de leite pasteurizado advindo de laticínios da região da COMCAM (Comunidade dos Municípios da Região de Campo Mourão).

## 2 Material e Métodos

### 2.1 Material

Foram analisadas 101 amostras de leite pasteurizado recebidas no período de 22 de setembro de 2010 a 22 de março de 2011. As análises foram realizadas no laboratório de alimentos (Prestação de Serviços) da Universidade Tecnológica Federal do Paraná *campus* Campo Mourão, que realiza semanalmente análises microbiológicas e físico-químicas do “Leite das Crianças” distribuídos na região da COMCAM, dando suporte aos laticínios credenciados que não possuem laboratórios para a realização de tais análises.

Na recepção de amostras para análise no laboratório, foram observadas as condições que se encontravam as embalagens e as condições em que foi feito o transporte, antes da aceitação da mesma. Foram seguidas as recomendações de Silva *et al.* (2007), onde diz que deve ser recusada qualquer amostra com

embalagem rasgada, furada, violada, com corpos estranhos ou qualquer outro tipo de defeito, bem como amostras transportadas em condições inadequadas.

Todas as amostras recebidas pelo laboratório foram devidamente armazenadas na geladeira de amostras e analisadas tão breve foi possível, nunca ultrapassando o prazo de 36 horas.

### 2.2 Análises microbiológicas

Foram realizadas análises de coliformes a 35°C e 45°C pela técnica do Número Mais Provável (NMP) e contagem total de bactérias aeróbias mesófilas (contagem padrão em placas), segundo metodologia recomendada pela Instrução Normativa nº 62 de 26 de agosto de 2003 – Métodos Analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e água (BRASIL, 2003).

#### 2.2.1 Coliformes a 35°C e 45°C – Técnica NMP

Os coliformes totais e termotolerantes foram determinados pela técnica de tubos múltiplos contendo caldo Lauril Sulfato Triptose (LST) (teste presuntivo) a partir de diluições seriadas da amostra a ser analisada, com incubação a 35°C por 48h. Para cada tubo positivo foi feita a repicagem (teste confirmativo) em caldo Verde Brilhante Bile (VBB), para coliformes totais, também com incubação a 35°C por 48h e caldo *Escherichia coli* (EC), para coliformes termotolerantes, com incubação a 45°C por 24h. Para ambos os testes considerou-se como positivo os tubos que apresentaram turvação no meio de cultura e gás no tubo de Durham.

#### 2.2.2 Mesófilos aeróbios

Para a contagem de mesófilos em leite, 1mL das diluições seriadas foram semeadas em duplicata em placas de Petri, nas quais foram vertidos 15 mL de meio de cultura Plate Count Agar (PCA). A semeadura foi realizada pelo método pour-plate e as placas foram incubadas à temperatura de 35°C durante 48h.

### 2.3 Análises físico-químicas

As análises físico-químicas realizadas no leite foram teste da peroxidase, fosfatase alcalina e crioscopia (Crioscópio Eletrônico Digital ITR - MC 5400/Brasil), seguindo a metodologia recomendada pela Instrução Normativa nº 68 de 12 de Dezembro de 2006 – Métodos Analíticos oficiais físico-químicos para controle do leite e produtos lácteos (BRASIL, 2006).

### 3 Resultados e discussão

#### 3.1 Análises microbiológicas

##### 3.1.1 Coliformes a 35°C e 45°C

Os valores preconizados pela legislação (BRASIL, 2011) para coliformes a 35°C e 45°C, mesófilos aeróbios e os resultados que ultrapassaram o padrão microbiológico para esses microrganismos estão apresentados na Tabela 1.

As amostras apresentaram contaminação em valores que variaram entre <0,3 a 240 NMP/mL. Das 101 amostras avaliadas, 18% das amostras apresentaram valores acima do limite para coliformes a 35°C. A maioria dos coliformes é encontrada no meio ambiente, por este fato, uma alta contagem pode indicar contaminação durante o processo de produção, elaboração, transporte, armazenamento e distribuição de qualquer alimento (CATÃO; CEBALLOS, 2001).

O leite, devido à sua riqueza nutritiva, constitui um excelente meio de cultura para o desenvolvimento desses microrganismos, o que pode contribuir para o valor acima do limite estabelecido pela legislação para coliformes a 35°C. Apenas 1% das mesmas apresentou contaminação por coliformes a 45°C, que é um indicativo de contaminação fecal, sendo a bactéria *Escherichia coli* a maior representante deste grupo. Esse resultado assemelha-se ao de Timm *et al.* (2003), que detectaram contaminação por coliformes a 45°C em 1,14% de leite pasteurizado. Em estudos, Silva *et al.* (2008) verificaram contaminação por coliformes a 45°C em 52,3% das amostras de leite pasteurizado, destinado ao programa do leite no estado de Alagoas.

As possíveis causas destas contaminações seriam pasteurização ineficiente ou ainda recontaminação pós-processo térmico, pois, conforme Silva *et al.* (2007), estes microrganismos podem indicar falhas no aspecto higiênico no processamento ou recontaminação pós-processo em alimentos pasteurizados, visto que estes são facilmente destruídos pela ação do calor.

##### 3.1.2 Mesófilos aeróbios

A contagem de mesófilos aeróbios é o método mais utilizado como indicador geral de populações bacterianas em alimentos, obtendo informações gerais sobre a qualidade de produtos, práticas de manufatura, matérias primas utilizadas, condições de processamento, manipulação e vida de prateleira. Além disto, mesófilos são importantes, pois podem sugerir deteriorações no produto se estiver em grande quantidade no alimento (SIQUEIRA, 1995; FRANCO; LANDGRAF, 2008).

Esses microrganismos indicam a qualidade sanitária com que o alimento foi obtido ou processado. Um número elevado destes microrganismos indica que o alimento é insalubre, mesmo que patógenos estejam ausentes. No entanto, deve-se considerar que todas as bactérias patogênicas de origem alimentar são mesófilas e, portanto, uma alta contagem de mesófilos pode significar que houve condições para o crescimento de patógenos (FRANCO; LANDGRAF, 2008).

O valor médio encontrado de mesófilos das amostras fora do padrão foi de  $3,3 \times 10^7$  UFC/mL, com os resultados variando entre  $8,4 \times 10^4$  e  $4,9 \times 10^7$  UFC/mL. Zocche *et al.* (2002) encontraram índice de 3,1% de amostras de leite pasteurizado fora dos padrões. Ribeiro e Melos (2011) verificaram contaminação por mesófilos aeróbios em 20% das amostras de leite pasteurizado.

A contagem elevada de mesófilos obtida no leite pressupõe matéria prima com alta contaminação e/ou baixa qualidade higiênico-sanitária no processamento, uma vez que, de acordo com Tronco (2003), os grupos de microrganismos mesófilos estão sempre presentes nos locais de ordenha, manipulação e processamento do leite, sendo recomendáveis medidas de precaução como controle do tempo e temperatura de pasteurização, limpeza rigorosa e higienização de equipamentos e utensílios que entram em contato com o leite, cuidados no transporte e armazenamento do produto pasteurizado, prevenção de contaminações do ar e refrigeração adequada até o consumo do produto. Para a autora, no caso de leite pasteurizado e produtos similares, a contagem total de microrganismos reflete um índice de boas práticas de fabricação.

#### 3.2 Análises físico-químicas

A Tabela 2 apresenta os resultados do teste de fosfatase alcalina, peroxidase e crioscopia que extrapolaram os padrões, segundo a legislação brasileira (BRASIL, 2011).

A fosfatase alcalina é normalmente encontrada no leite cru e destruída pelo calor durante o processo de pasteurização. A presença desta enzima em uma amostra de leite pasteurizado constitui indicativo de que o leite não sofreu tratamento térmico adequado, podendo ter ocorrido mistura ou recontaminação de leite cru (TRONCO, 2003).

O leite pasteurizado deve apresentar fosfatase alcalina negativa e peroxidase positiva. A peroxidase é mais termorresistente (85°C/20 segundos) que a fosfatase alcalina e a sua não-desnaturação durante a pasteurização indica que não foram ultrapassadas as condições estabelecidas para o tratamento, assegurando-se, assim, boa retenção de nutrientes e modificação mínima das propriedades físico-químicas

Tabela 1– Resultados que extrapolaram os padrões microbiológicos de acordo com IN n°62/2011.

Análise	Total de amostras	Resultado (%)	Valor de referência
<b>Coliformes a 35°C</b>	101	18	2NMP/mL
<b>Coliformes a 45°C</b>	101	1	4NMP/mL
<b>Mesófilos aeróbios</b>	101	21	8,0x10 <sup>4</sup> UFC/mL

Tabela 2 - Resultados das análises físico-químicos das amostras analisadas de acordo com a IN n°62/2011.

Análises	Fosfatase alcalina	Peroxidase	Crioscopia
<b>Total de amostras</b>	101	101	101
<b>Total de amostras reprovadas</b>	0	2	17
<b>Valor de referência</b>	Negativo	Positivo	-0,530°H a -0,550°H

e sensoriais (ORDÓÑEZ, 2005).As amostras que apresentaram peroxidase negativa correspondem às mesmas que obtiveram baixo valor de mesófilos, o que sugere que possivelmente as amostras sofreram tratamento térmico excessivo.

De acordo com Silva *et al.* (2008), o índice de crioscopia corresponde ao ponto de congelamento do leite. Este parâmetro depende de uma série de fatores relacionados com o animal, tipo de leite, ambiente, processamento e às técnicas de crioscopia.

Os componentes responsáveis pelo abaixamento do ponto de congelamento são os seguintes: a lactose, alguns minerais, certas proteínas (solúveis) e os gases dissolvidos (oxigênio, nitrogênio e dióxido de carbono). A adição de água ao leite altera o ponto de congelamento, fazendo com que este se aproxime de zero (ponto de congelamento da água), porque se diluem as concentrações dos componentes que estão em solução verdadeira na água do leite. O ponto de congelamento mede, então, os sólidos solúveis no leite (TRONCO, 2003).

Das 17 amostras fora dos padrões, todas se encontraram acima de -0,530°H, o que indica que ocorreu adição de água no leite. Segundo Dias (2010), uma das principais e mais graves fraudes do leite é a adição de água, pois, além de diminuir o valor nutritivo do produto, também pode ser fonte de contaminação por patógenos.

Uma possível causa dessa fraude seria a falta de compromisso por parte de muitos produtores, que as praticam com objetivo de aumentar o rendimento do leite. A ocorrência dessa fraude é grande, pois além de muitos fornecedores não garantirem a qualidade da matéria-prima, o controle desta ainda é ineficiente na plataforma de recepção de leite cru em muitas indústrias beneficiadoras, daí a elevada incidência de amostras de leite pasteurizado que não atendem à legislação vigente (BRASIL, 2011).

#### 4 Conclusão

O controle microbiológico de leite pasteurizado contempla, como rotina, a realização da contagem total

de microrganismos e contagem de coliformes, que proporcionam informações constantes sobre a qualidade microbiológica e sobre as possíveis fontes de contaminação. A realização de pesquisa das enzimas fosfatase alcalina e peroxidase permite avaliar a eficiência da pasteurização e o índice crioscópico pode indicar fraudes no leite por adição de água.

Algumas amostras de leite pasteurizado provenientes dos laticínios da região da COMCAM apresentaram contaminação microbiológica, atestando falhas durante o seu processamento e/ou armazenamento, pondo à prova a sua qualidade sanitária, podendo causar danos à saúde dos consumidores. A realização de análises microbiológicas e físico-químicas pode facilitar a correção ou até mesmo a eliminação destas possíveis falhas.

#### 6 Referências

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal. **Instrução Normativa n° 62, de 29 de dezembro de 2011**, que aprova Regulamento Técnico de Produção, Identidade e Qualidade do Leite tipo A, o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite Cru Refrigerado, o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite Pasteurizado e o Regulamento Técnico da Coleta de Leite Cru Refrigerado e seu Transporte a Granel.

BRASIL. Ministério Da Agricultura, Pecuária E Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária (DISPOA). **Instrução Normativa n° 62, de 26 de agosto de 2003**, que oficializa os Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água.

BRASIL. Ministério Da Agricultura, Pecuária E Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária (DISPOA). **Instrução Normativa n° 68, de 12 de dezembro de 2006**, que oficializa os Métodos Analíticos Oficiais Físico-Químicos, para Controle de Leite e Produtos Lácteos.

CATÃO, R.M.R.; CEBALLOS, B.S.O. *Listeriaspp*, coliformes a 35°C e fecais e *E.coli* no leite cru e

pasteurizado de uma indústria de laticínios, no Estado da Paraíba (Brasil). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.21, n.3, p.281-287, 2001.

DIAS, A. M. C. **Análises para o controle da qualidade ao leite**. 2010. 42f. Monografia (Especialização Tecnológica em Qualidade Alimentar). Instituto Politécnico de Coimbra, Escola Superior Agrária, Coimbra, 2010.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos Alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2008.

MESQUITA, M. O. DANIEL, A. P.; SACCOL, A. L. de F.; MILANI, L. I. G.; FRIES, L. L. M. Qualidade microbiológica no processamento do frango assado em unidade de alimentação e nutrição. **Ciênc. Tecnol. Alim.**, v. 26, p. 198-203, 2006.

ORDÓÑEZ, J. A. P. (Coord.) **Tecnologia de alimentos**. Porto Alegre: Artmed, 2005.

RIBEIRO, M. F. N.; MELOS R. **Avaliação microbiológica e físico-química de leite pasteurizado comercializado na cidade de Francisco Beltrão - Paraná**. 2011. TCC (Graduação em Tecnologia em Alimentos) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR. Francisco Beltrão. 2011.

SILVA, M. C. D.; SILVA, J. V. L.; RAMOS, A. C. S.; MELO, R. O.; OLIVEIRA, J. O. Caracterização microbiológica e físico-química de leite pasteurizado destinado ao programa do leite no Estado de Alagoas. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, 28(1): 226-230, jan.-mar. 2008.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; TANIWAKI, M. H.; SANTOS, R. F. S.; GOMES, R. A. R. **Manual de Métodos e análises microbiológica de alimento**. 3 ed. São Paulo: livraria Varela, 2007.

SILVA, P. H. C.; ROCHA, R. S.; COUTO, E. P.; BARROS, M. A. F. **Avaliação físico-química de diversos tipos de leites pasteurizados comercializados no distrito federal e adequação aos regulamentos técnicos**. In: 35º Congresso de Medicina Veterinária, 2008, Gramado. Anais eletrônicos... Rio Grande do Sul: CONBRAVET, 2008. Disponível em: <http://www.sovergs.com.br/conbravet2008/anais/cd/resumos/R0519-1.pdf>. Acesso em: 14 abr. 2012.

SILVA, R. C. B.; BARBOSA, S. B. P.; ANDRADE, A. C.; SILVA, A. M.; SILVA, C. X.; MAURÍCIO, E. A.; SILVA, E. P. E.; SILVA, M. P. M.; SILVA, R. L. **Análises físico-químicas para determinação da qualidade em leite cru**. In: X Jornada de Ensino, Pesquisa e Extensão – JEPEX. UFRPE: Recife, 2010.

SIQUEIRA, R. S. **Manual de microbiologia de alimentos**. Brasília: Serviço de Produção de Informação, 1995.

TIMM, C. D.; GONZALEZ, H. L.; OLIVEIRA, D. S.; BÜCHLE, J.; ALEXIS, M. A.; COELHO, F. J. O.; PORTO, C. R. Avaliação da qualidade microbiológica

do leite pasteurizado integral produzido em microusinas da região sul do Rio Grande do Sul. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 17, n. 106, p. 100-104, 2003.

TRONCO, V. M. **Manual para inspeção da qualidade do leite**. 2 ed. Santa Maria: Editora da UFSM, 2003.

ZOCHE, F.; BERSOT, L. S.; BARCELLOS, V. C.; PARANHOS, J. K.; ROSA, S. T. M.; RAYMUNDO, N. K. Qualidade microbiológica e físico-química do leite pasteurizado produzido na região oeste do Paraná. **ArchivesofVeterinary Science** v.7, n.2, p.59-67, 2002.