



## Avaliação microbiológica do leite *in natura* e pasteurizado comercializado no município de Benevides-PA

Microbiological evaluation of fresh milk and pasteurized milk sold in the municipality of Benevides-PA

L. N. C. Lima<sup>1</sup>; L. S. Tôrres<sup>1</sup>; L. K. B. Silva<sup>1</sup>; R. S. Santos<sup>1</sup>; T. M. S. Cruz<sup>1</sup>; E. L. Figueiredo<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Graduandas em Tecnologia de Alimentos, Universidade do Estado do Pará, 68.745-000, Castanhal-Pará, Brasil

<sup>2</sup>Docente do Curso de Tecnologia de Alimentos, Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade do Estado do Pará, 66.095-105, Belém-Pará, Brasil

\*lane\_figueiredo@yahoo.com.br

(Recebido em 31 março de 2016; aceito em 15 de abril de 2016)

O leite é um alimento com alto valor nutritivo, pois apresenta em sua constituição água, proteínas, carboidratos, lipídeos, vitaminas e sais minerais. Em virtude de sua composição rica em nutrientes, torna-se um alimento altamente perecível, sendo muito susceptível a alterações por micro-organismos deterioradores e patogênicos. Desta forma, este trabalho tem como objetivo analisar a qualidade microbiológica do leite *in natura* e do leite pasteurizado comercializados no município de Benevides-PA. Foram realizadas análises microbiológicas de contagem padrão de bactérias aeróbias mesófilas, Coliformes Totais e Coliformes Termotolerantes. Todas as análises seguiram a metodologia descrita na Instrução Normativa nº 62, de 26 de Agosto de 2003, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. As médias dos resultados microbiológicos mostraram que as amostras de leite *in natura* apresentaram contagem máxima de Coliformes Termotolerantes e Totais. Em contrapartida, não houve contaminação de Coliformes em nenhuma amostra de leite pasteurizado. Em relação aos resultados de contagem padrão de bactérias aeróbias mesófilas, verificou-se que as médias para as amostras de leite *in natura* e leite pasteurizado foram de  $4 \times 10^4$  UFC/mL e  $6,1 \times 10^2$  UFC/mL, respectivamente. Apesar da presença desses micro-organismos, as amostras encontram-se dentro do permitido pela Instrução Normativa 51. Diante dos resultados obtidos, pode-se verificar a importância da utilização da pasteurização, como tratamento térmico para garantir a qualidade da matéria prima.

Palavras-chave: Leite, Tratamento térmico, Qualidade.

Milk is a food with high nutritional value, as it has in its constitution water, proteins, carbohydrates, lipids, vitamins and minerals. Because of its composition is rich in nutrients, it is a highly perishable food, being very susceptible to changes in pathogens and spoilage microorganisms. Thus, this work aims to analyze the microbiological quality of fresh milk and pasteurized milk sold in the city of Benevides-PA. standard counting microbiological analyzes were performed of mesophilic aerobic bacteria, coliforms Total coliforms and thermotolerant. All analyzes followed the methodology described in Instruction No. 62, of August 26, 2003, the Ministry of Agriculture, Livestock and Supply. The means of microbiological results showed that the samples of fresh milk showed maximum count of thermotolerant coliforms and totals. In contrast, there was no contamination of coliforms in any pasteurized milk sample. The standard count results mesophilic aerobic bacteria, it was found that the average for the samples of fresh and pasteurized milk was  $4 \times 10^4$  UFC/mL and  $6.1 \times 10^2$  UFC/mL, respectively. Despite the presence of these microorganisms, samples are within permitted by Normative Instruction 51. Given the results, it can be seen the importance of using pasteurization as heat treatment to ensure the quality of raw material.

Keywords: Milk, Heat treatment, Quality.

### 1. INTRODUÇÃO

O leite é constituído por água, proteínas, açúcares, lipídeos, vitaminas e sais minerais. Sua composição varia em função de muitos fatores, como espécie, raça, estágio de lactação, manejo

da ordenha, sanidade animal, dentre outros. Por ser rico em nutrientes, é um alimento altamente perecível e sua degradação microbiológica começa a ocorrer no momento da ordenha [1].

De acordo com Ramires et al (2009) [2], vários fatores influenciam na obtenção de leite com qualidade higiênico-sanitária tais como: alimentação, raça do gado, ordenha, a higiene do local de ordenha, a higienização de equipamentos e utensílios utilizados durante a ordenha, higienização do úbere animal, e qualidade da água usada para realizar a higienização, sendo este último fator de suma importância, tendo em vista que a água pode ser veículo de agentes patogênicos, comprometendo assim a qualidade microbiológica do leite.

No Brasil, de um modo geral, o leite é obtido sob condições higiênico-sanitárias deficientes, e em consequência, apresenta elevados números de micro-organismos, o que constitui um risco à saúde da população, principalmente quando consumido sem tratamento térmico [3].

O controle microbiológico em amostras de leite é realizado, principalmente, através da pesquisa de micro-organismos indicadores que, quando presentes, podem fornecer informações sobre as condições sanitárias da produção, do processamento, ou armazenamento, assim como a possível presença de patógenos e estimativa da vida comercial do produto. Os principais grupos de micro-organismos indicadores de qualidade do leite são os aeróbios mesófilos e os coliformes [4].

Diante dos riscos higiênico-sanitários inerentes à ingestão de leite obtido e processado em condições insatisfatórias, se faz necessário a aplicação de um tratamento térmico eficiente para a destruição dos micro-organismos, visando não só o fornecimento de um alimento seguro à saúde do consumidor, como também a destruição de micro-organismos deteriorantes que provocam alterações no produto em tempos relativamente curtos. A pasteurização é um dos tratamentos térmicos mais eficientes para a obtenção da qualidade do leite e de seus derivados, sendo assim indispensável e obrigatório [5].

De acordo com Venturini (2007) [6], há dois tipos de pasteurização: a lenta e a rápida. A pasteurização lenta é caracterizada pelo aquecimento do leite a 65 °C, permanecendo nesta temperatura durante 30 minutos. E a pasteurização rápida, consiste no aquecimento do leite a 75 °C mantendo-se nesta temperatura por 15 segundos. É um tratamento térmico que tem como principal objetivo eliminar micro-organismos patogênicos e reduzir o número de deterioradores, seguido de resfriamento, aumentando assim a vida útil do leite, sem alteração sensível da sua composição nutricional e sensorial.

Segundo Reis et al. (2013) [7], a qualidade do leite e de seus derivados está diretamente relacionada a carga microbiológica inicial da matéria prima, considerando que sua contaminação pode ocasionar problemas sanitários e perdas econômicas, o que torna imprescindível a segurança e a inocuidade do leite, garantindo dessa forma, a saúde do consumidor.

Uma prática comum nos interiores e zonas rurais do Estado do Pará é a venda de leite não pasteurizado, transportado em motos e bicicletas, armazenados em garrafas descartáveis sem refrigeração e controle higiênico-sanitário. Os cuidados higiênico-sanitários, bem como o controle da temperatura de armazenamento do leite *in natura*, são fundamentais para a qualidade da matéria prima e de seus derivados.

Assim este trabalho tem como objetivo analisar a qualidade microbiológica do leite *in natura* e do leite pasteurizado, comercializados no município de Benevides-Pará.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Coleta e preparação das amostras

O presente trabalho foi realizado com amostras de leite *in natura* proveniente de três produtores leiteiros no município de Benevides-Pará. De cada produtor leiteiro, foi coletada uma amostra de leite, totalizando assim três amostras.

A matéria-prima foi coletada no período da manhã, entre 7:00 e 8:00 horas, acondicionadas em frascos de polietileno esterilizados, colocadas em caixas isotérmicas, sob temperatura média

de 8 °C, e enviadas ao Laboratório de Microbiologia, do Campus XX de Castanhal, da Universidade do Estado do Pará - UEPA.

Da amostra inicial de leite *in natura*, foi retirado 100 mL para ser realizada a pasteurização lenta, a qual foi efetuada sob temperatura de 65 °C, por 30 min, em tanques de aço inoxidável. O tratamento térmico foi realizado no Laboratório de Alimentos, da UEPA.

## 2.2 Análises Microbiológicas

As análises microbiológicas realizadas nas amostras de leite *in natura* e leite pasteurizado foram: Coliformes Totais, Coliformes Termotolerantes, e Contagem padrão de bactérias aeróbias mesófilas. As determinações microbiológicas foram realizadas em triplicatas e seguindo os métodos oficiais descritas pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - MAPA [8].

Para a realização das análises, utilizou-se 25 mL de leite e adicionou-se em 225 mL de água peptonada, em erlenmeyer, para realizar as diluições, a qual foi realizada de  $10^{-1}$  a  $10^{-5}$ . A determinação de Coliformes Totais e Coliformes Termotolerantes foi realizada pela técnica do Números mais Prováveis – NMP com a série de tubos múltiplos ( $10^{-1}$ , 1 e 10). Empregou-se, como meio presuntivo, o Caldo Lauril Sulfato Triptose, com volume de 8 mL deste meio de cultura em tubos de ensaio, com incubação a 35 °C, por 24-48 horas. Após leitura, os tubos positivos foram repicados para Caldo Verde Brilhante bile, a 2 % de lactose, com incubação a 35 °C, por 24-48 horas para confirmação da presença de Coliformes Totais, e repicados para Caldo E.C., com incubação a 44 °C, por 24-48 horas, visando a confirmação de Coliformes Termotolerantes. Para a Contagem padrão de bactérias aeróbias mesófilas, utilizou-se o Ágar para contagem em placas - PCA, com volume de 12 mL em placas de Petri, empregando-se a técnica de cultivo em profundidade, e incubação a 35 °C por 24-48 horas.

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados das médias das análises microbiológicas das amostras de leite *in natura* e leite pasteurizado estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 - Média dos resultados das análises microbiológicas das amostras de leite *in natura* e leite pasteurizado

Análises microbiológicas	Amostras de Leite	
	Leite <i>in natura</i>	Leite pasteurizado
Coliformes Termotolerantes (NMP/mL)	> 1100	< 3
Coliformes Totais (NMP/mL)	> 1100	< 3
Bactérias aeróbias mesófilas (UFC/mL)	$4 \times 10^4$	$6,1 \times 10^2$

NMP – Números mais Praváveis; UFC – Unidade Formadora de Colônias

Como pode ser observado na Tabela 1, a média dos resultados de Coliformes Termotolerantes e Totais nas amostras de leite *in natura* foram de contagem máxima desses micro-organismos, evidenciando a alta contaminação da matéria prima. Os Coliformes Totais são considerados micro-organismos indicadores de contaminação e, quando encontrados no leite, denunciam problemas higiênico-sanitários na sua obtenção e/ou qualidade inferior da água [9]. Os Coliformes Termotolerantes, são grupos ou espécies de micro-organismos que quando estão presentes no alimento, fornecem informações sobre a ocorrência de contaminação de origem fecal e a provável presença de micro-organismos patogênicos, visto que têm como principal representante a *Escherichia coli*. A contaminação por *E. coli* se dá através da ingestão de água ou alimentos que não foram processados e tiveram algum tipo de contaminação fecal durante a sua produção, como por exemplo, leite não-pasteurizado. A presença desta bactéria no organismo causa problemas gastrointestinais, como diarreia, dores abdominais, vômito, falta de apetite, e em alguns casos febre [10].

Diferente dos resultados obtidos para as amostras de leite *in natura*, não houve contaminação por Coliformes Termotolerantes e Totais em nenhuma amostra de leite pasteurizado. De acordo com a Resolução de Diretoria Colegiada – RDC 12, de 02/01/2001 [11], o limite máximo permitido para Coliformes Termotolerantes do leite pasteurizado é de 4 NMP/mL. Assim, pode-se afirmar que as amostras de leite com tratamento térmico estão de acordo com os padrões recomendados. Considerando que os gêneros pertencentes ao grupo Coliformes são destruídos sob temperatura de pasteurização, a permanência deste indicaria a ineficiência do tratamento [12].

Fato similar ao deste estudo, foi verificada na pesquisa de Catão et al. (2001) [13], os quais detectaram índices elevados de Coliformes Totais e Termotolerantes em amostras de leite sem tratamento térmico, quando comparado com amostras de leite pasteurizado, comprovando novamente a importância da pasteurização para a qualidade sanitária e microbiológica do alimento.

Em relação aos resultados de contagem padrão de bactérias aeróbias mesófilas, pode-se verificar que a média dos resultados para as amostras de leite *in natura* e leite pasteurizado foram de  $4 \times 10^4$  UFC/mL e  $6,1 \times 10^2$  UFC/mL, respectivamente. Segundo a Instrução Normativa – IN nº 51, do Ministério da Agricultura e Abastecimento, é permitido níveis máximos de  $5 \times 10^5$  UFC/mL para o leite *in natura* e  $4 \times 10^4$  UFC/mL para leite pasteurizado. Assim, pode-se dizer que todas as amostras encontram-se dentro do permitido pela Instrução Normativa. Ao fazer uma comparação entre as duas amostras analisadas neste estudo, é possível verificar que houve uma redução de 98,47 % na contagem desses micro-organismos após a utilização do tratamento térmico.

Apesar de estar dentro do estabelecido pela IN, a contaminação por bactérias aeróbias mesófilas no leite pasteurizado pode estar relacionada com falhas da pasteurização ou contaminação pós-tratamento, como por exemplo, manutenção do pasteurizador, armazenamento inadequado, etc. Além disso, a contaminação inicial elevada pode trazer como consequência a sobrevivência de um determinado número de micro-organismos após o tratamento térmico.

Santana et al. (2001) [14] encontraram índices elevados de bactérias aeróbias mesófilas ( $7,4 \times 10^3$  UFC/mL) em leite pasteurizado. Em São Paulo, 44,4 % das amostras analisadas de leite pasteurizado também apresentavam valores acima do permitido pela IN 51 para contagem de mesófilos aeróbios [15]. Nader et al. (1997) [16] avaliaram 28 amostras de leite pasteurizado, e encontraram 10,7 % amostras com contagens de mesófilos aeróbios acima do aceitável. Freitas et al. (2013) [17], analisaram a qualidade microbiológica do leite *in natura* de três propriedades rurais, localizadas no Estado da Paraíba – PB, e observaram que os valores de bactérias aeróbias mesófilas variaram de  $3,8 \times 10^5$  a  $5,4 \times 10^7$  UFC/mL. É importante ressaltar que é nessa classe que está contida grande parte dos micro-organismos deterioradores e patogênicos do leite. Segundo Luz et al. (2011) [10], valores elevados de contagem desse micro-organismo estão relacionados principalmente com problemas de assepsia no momento da ordenha, em especial da higiene do ordenhador e dos utensílios, como balde e peneira, utilizados na ordenha.

É importante ressaltar que, historicamente, com o advento da pasteurização, diminuíram os relatos de várias doenças transmitidas pelo consumo de leite e seus derivados, como brucelose (*Brucella abortus*), tuberculose (*Mycobacterium bovis*), listerioses (*Listeria monocytogenes*), colibaciloses (*Escherichia coli* O157:H7, a *E. coli* O27:H20 enterotoxigênica), iersinioses (*Yersinia enterocolitica*), difteria, febre Q (*Coxiella burnetii*) e uma série de gastroenterites. Por outro lado, deve ser ressaltado que embora altamente efetivo no controle de doenças de origem alimentar, o tratamento térmico é insuficiente se não complementado com padrões elevados de higiene, desde a produção até o completo processamento. O fato de os países em desenvolvimento ainda apresentarem taxas significativas de consumo de leite *in natura* ou de produtos preparados com leite não pasteurizado também é preocupante [18].

#### 4. CONCLUSÃO

De acordo com os resultados obtidos, pode-se constatar a relevância da pasteurização no leite, pois em comparação ao leite pasteurizado, o leite *in natura* apresentou maior contaminação referente à todos os micro-organismos analisados. Em vista disso, verifica-se a importância de um tratamento térmico eficiente a fim de eliminar grande parte dos micro-organismos patogênicos e deterioradores.

A elevada contaminação observada nas amostras de leite *in natura*, indica que as condições higiênico-sanitárias da cadeia de produção e distribuição do leite são insuficientes, devido à ausência ou a má higienização do local, dos ordenadores, do animal, bem como de utensílios utilizados durante a obtenção da matéria-prima. Sendo assim, faz-se necessário a aplicação de programas de qualidade como as Boas Práticas de Produção, a fim de que haja a redução significativa da contaminação microbiológica do leite, inviabilizando possíveis alterações em decorrência da ação de micro-organismos indesejáveis.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. González HD, Dürr JH, Fontaneli RS. Uso do leite para monitorar a nutrição e metabolismo de vacas leiteiras. Rio Grande do Sul: Porto Alegre, 2001.
2. Ramires CH, Berger EL, Almeida R. Influência da qualidade microbiológica da água sobre a qualidade do leite. Archives of Veterinary Science. 2009 36-42.
3. Figueiredo EL, Lourenço Júnior J, Toro MJU. Caracterização físico-química e microbiológica do leite de búfala “in natura” produzido no Estado do Pará. Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial. 2010. (01):19:28.
4. Tamanini, R, Silva LCC, Monteiro AA, Magnani DF, Barros MAF, Beloti V. Avaliação da qualidade microbiológica e dos parâmetros enzimáticos da pasteurização de leite tipo “C” produzido na região norte do Paraná. Semina: Ciências Agrárias, Londrina. 2007 Jul;28(3):449-454.
5. Leite CC, Guimarães AG, Assis P N, Silva MD, Andrade CSO. Qualidade bacteriológica do leite integral (tipo C) comercializado em Salvador – Bahia. Rev. Bras. Saúde Prod. An. 3 (1):21-25, 2002.
6. Venturini KS, Sarcinelli MF, Silva LC. Processamento do leite. Espírito Santo, 2007.
7. Reis KTMG, Souza CHB, Santana EHW, Roiga SM. Qualidade Microbiológica do Leite Cru e Pasteurizado Produzido no Brasil. UNOPAR Científica Ciências Biológicas e da Saúde, Londrina. 2013. 15(2):411-21.
8. Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Análises microbiológicas para controle de produção de origem animal e água: Instrução normativa nº 62. Brasília: MAPA, 2003.
9. Landgraf M. Micro-organismos Indicadores. In: Franco, BDG, Landgraf, M. Microbiologia de Alimentos. São Paulo. Atheneu, 2008.27-31.
10. Luz DF, Bicalho FA, Oliveira MVM, Simões ARP. Avaliação microbiológica em leite pasteurizado e cru refrigerado de produtores da região do Alto Pantanal Sul-Mato-Grossense. Revista Agrarian. 2011 4(14):367-374. ISSN:1984-2538.
11. Brasil, Ministério da saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), Resolução RDC nº 12 de 02 de janeiro de 2001. Regulamento Técnico sobre os padrões microbiológicos para alimentos. Diário Oficial. Brasília, DF, 2001.
12. Silva MCD, Silva JVL, Ramos ACS, Melo RO, Oliveira JO. Caracterização microbiológica e físico-química de leite pasteurizado destinado ao programa do leite no Estado de Alagoas. Ciênc. Tecnol. Aliment., Campinas. 2008. Jan;28(1):226-230.
13. Catão RMR, Ceballos BSO. Listeria spp., coliformes totais e fecais e E.coli no leite cru e pasteurizado de uma indústria de laticínios, no estado da paraíba (Brasil). Ciênc. Tecnol. Aliment., Campinas. 2001 Set;21(3):281-287.
14. Santana EHW, Beloti V, Barros MAF, Moraes LB, Gusmão VV, Pereira MS. Contaminação do leite em diferentes pontos do processo de produção: I. Microrganismos aeróbios mesófilos e psicrotóxicos. Semina Ci Agrárias. 2001. 22(2):145-154.
15. Oliveira, RPS. Condições microbiológicas e avaliação da pasteurização e amostras de leite comercializadas no município de Piracicaba-SP. 81f. Piracicaba, SP. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz ESALQ, Universidade de São Paulo, 2005.
16. Nader FA, Amaral LA, Rossi Jr. O.D. 1997. Características microbiológicas do leite pasteurizado tipo “Integral”, processado por algumas mini e macro-usinas de beneficiamento do Estado de São Paulo. Higiene Alimentar 11(50):21-23.

17. Freitas WC, Travassos AER, Maciel JF. Avaliação microbiológica e físico-química de leite cru e queijo de coalho produzidos no estado da Paraíba. *Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais, Campina Grande*. 2013.15(1):35-42.
18. Fonseca LFL., Santos MV. *Qualidade do Leite e Controle de Mastite*. São Paulo: Lemos Editorial, 2000.