

AVALIAÇÃO DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE AMOSTRAS DE LEITE PASTEURIZADO TIPO “C” COMERCIALIZADAS NA CIDADE DE JUIZ DE FORA E REGIÃO NO PERÍODO DE 2004 A 2007

Evaluation of the microbiological quality of samples of pasteurized milk type “C” marketed in Juiz de Fora and region between 2004 and 2007

Humberto Moreira Húngaro¹
Adriana Lima Natal²
Carlos Henrique Fonseca¹
Marco Antônio Moreira Furtado³

RESUMO

O presente trabalho teve como objetivo avaliar a qualidade microbiológica do leite pasteurizado tipo “C” comercializado na cidade de Juiz de Fora- MG e região no período entre janeiro de 2004 a dezembro de 2007, tendo como base para os padrões microbiológicos a Instrução Normativa nº 51, de 18 de setembro de 2002 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Foram analisadas 125 amostras em pesquisa de microorganismos aeróbios mesófilos, coliformes totais e coliformes termotolerantes. Os resultados obtidos revelaram que nenhuma amostra foi reprovada na análise por contagem de microorganismos aeróbios mesófilos. Porém, 14 amostras (11,2%) foram reprovadas por excederem a enumeração de coliformes totais e, dentre estas, 28,6% também foram reprovadas por não atenderem aos padrões estabelecidos para coliformes termotolerantes. Verificou-se também que o ano de 2006 foi o de maior número de reprovações (22,7%) das amostras totais. Os resultados obtidos no presente estudo divergiram de outros citados na literatura sobre a qualidade microbiológica do leite pasteurizado tipo “C”, uma vez que o índice de reprovação aqui encontrado foi menor quando comparado aos demais. A ausência de reprovações de amostras por contagem de microorganismos aeróbios mesófilos pode ser um reflexo de melhorias no armazenamento e transporte do leite cru para os estabelecimentos de beneficiamento. Entretanto, há possibilidades de ineficiência do processo de pasteurização já que existiram reprovações de amostras por coliformes totais.

Palavras-chave: leite pasteurizado, qualidade microbiológica, legislação.

1 INTRODUÇÃO

O Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA) denomina leite, “o produto oriundo da ordenha completa, ininterrupta, obtido em condições de higiene adequada, de vacas sadias, bem alimentadas e descansadas, que apresenta como principais componentes gordura, lactose, proteínas, sais minerais e vitaminas” (BRASIL, 1952). Por esta composição rica em nutrientes o leite é um dos alimentos mais completos e mais consumidos pelo homem desde a pré-história quando da domesticação dos mamíferos; recomendado especialmente para crianças e idosos pela elevada concentração de cálcio e fácil obtenção pelas classes menos favorecidas (TAMANINI *et al.*, 2007; GUSMÃO *et al.*, 2005; LEITE *et al.*, 2002).

1 Pós graduandos em Ciência e Tecnologia de Alimentos pelo Departamento de Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal de Viçosa. (humbertomh@gmail.com / fonsecachf@yahoo.com.br)

2 Graduando em Farmácia pela Faculdade de Farmácia e Bioquímica da Universidade Federal de Juiz de Fora. (alnatal@hotmail.com)

3 Professor do Departamento de Alimentos e Toxicologia da Faculdade de Farmácia e Bioquímica da Universidade Federal de Juiz de Fora. (marcoantoniofurtado@yahoo.com.br)

Por suas características, o leite é considerado um excelente meio de cultura, constituindo um ambiente adequado para o desenvolvimento de vários microrganismos, sobretudo Gram positivos, presentes na microbiota natural do úbere do animal (GUSMÃO *et al.*, 2005; JAY *et al.*, 2005). Sob condições higiênico-sanitárias inadequadas, diversos patógenos, tais como, *Mycobacterium tuberculosis*, *Brucella* spp; *Listeria monocytogenes*, *Campylobacter* spp, *Salmonella* spp, *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* podem contaminar o leite e causar infecções e/ou toxinfecções alimentares (JAY *et al.*, 2005; RIEDEL, 1992; ROBINSON, 1990).

Tendo em vista a garantia de segurança à saúde do consumidor, manutenção de características desejáveis do produto e aumento da vida de prateleira, o leite destinado ao consumo humano deve sofrer tratamento térmico adequado visando a eliminação da totalidade de microrganismos patogênicos e uma redução da microbiota deteriorante (LEITE *et al.*, 2007).

Um dos processos térmicos amplamente utilizados pela indústria de laticínios é a pasteurização rápida do leite, que consiste no emprego de um binômio temperatura/tempo (72 a 75°C durante 15 a 20 segundos) com o objetivo de eliminar os patógenos e destruir a maioria dos deteriorantes tornando o produto apto para o consumo humano (BRASIL, 2002).

O leite pasteurizado é uma das formas mais consumidas pela população brasileira, representando em 2004 um consumo de aproximadamente 1,6 bilhões de litros, sendo o leite pasteurizado tipo C responsável por 1,1 bilhões de litros deste total, perdendo apenas para o leite UHT com consumo de aproximadamente de 4,4 bilhões de litros neste mesmo ano (CNPGL, 2007).

A estabilidade físico-química e microbiológica, o elevado nível higiênico e a inocuidade sanitária são alguns dos atributos de influência marcante na produção de leite de qualidade. Freitas *et al.* (2005) relata a importância da avaliação freqüente de amostras de leite pasteurizado no monitoramento, garantia e melhoria contínua da qualidade do produto.

A pesquisa de microrganismos indicadores de condições higiênico-sanitárias e processamento adequado é uma ferramenta importante no controle de qualidade e fiscalização de amostras de leite pasteurizado. Entre os microrganismos comumente e legalmente avaliados, destacam-se a contagem de aeróbios mesófilos e a enumeração de coliformes totais e termotolerantes.

Segundo Quevedo *et al.* (2006) a contagem de microrganismos aeróbios mesófilos não está relacionada diretamente à contagem de coliformes totais no leite pasteurizado, sendo importante a quantificação de ambos os grupos microbiológicos na avaliação da qualidade do produto.

Os microrganismos aeróbios mesófilos são todos aqueles capazes de crescer em temperaturas de 35 – 37 °C em condições de aerobiose, sendo utilizados para obter informações gerais sobre a qualidade de produtos, práticas de manufatura, matérias-primas, condições de processamento, manipulação e vida de prateleira, não sendo considerados indicadores de segurança, pois não estão diretamente relacionados à presença de patógenos ou toxinas (SILVA *et al.*, 2007).

As bactérias do grupo coliformes totais são definidas como sendo bastonetes gram negativos, pertencente à família Enterobacteriaceae capazes de fermentar a lactose com produção de gás, em 24 – 48 horas a 35°C, nesta definição encontram-se, principalmente, os gêneros *Escherichia*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Klebsiella* (SILVA *et al.*, 2007).

O grupo dos coliformes termotolerantes é um subgrupo dos coliformes totais, restrito aos membros capazes de fermentar a lactose em 24 horas a 44,5 – 45,5 °C, com produção de gás, compostos predominantemente pela espécie *Escherichia coli* (SILVA *et al.*, 2007).

A partir da implantação da Instrução Normativa n° 51, de 18 de setembro de 2002, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) estabeleceu o regulamento técnico de produção, identidade e qualidade do leite pasteurizado, bem como a coleta de leite cru refrigerado e seu transporte a granel, visando a melhoria da qualidade do produto para o consumidor e para indústria de laticínios (BRASIL, 2002).

De acordo com os critérios ditados por essa mesma Instrução, o leite pasteurizado tipo C deve atender aos seguintes padrões microbiológicos: ausência de bactérias do gênero *Salmonella* em 25 mL do produto; número mais provável (NMP) de coliformes totais (35 °C/mL) não excedente a 4 NMP/mL; coliformes termotolerantes não excedente a 2 NMP/mL; e contagem de aeróbios mesófilos máxima de 3.0 x 10⁵ unidades formadoras de colônia (UFC)/mL (BRASIL, 2002).

O objetivo deste estudo foi avaliar comparativamente a qualidade microbiológica do leite pasteurizado tipo C comercializado na cidade de Juiz de Fora – MG e região no período entre janeiro de 2004 a dezembro de 2007, a partir de amostras enviadas para análises ao Laboratório de Análise de Alimentos e Águas da Universidade Federal de Juiz de Fora. As amostras foram submetidas a pesquisas de microrganismos indicadores de qualidade higiênico-sanitária (Coliformes totais e termotolerantes) e bactérias aeróbias mesófilas.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Foram analisadas, entre os meses de janeiro de 2004 a dezembro de 2007, 125 amostras de leite pasteurizado tipo “C”, coletadas na cidade de Juiz de Fora – MG e região. Estas amostras foram coletadas e encaminhadas em caixa isotérmica ao Laboratório de Análises de Alimentos e Águas da Faculdade de Farmácia e Bioquímica da Universidade Federal de Juiz de Fora para realização das análises. As amostras foram analisadas quanto à contagem padrão em placas e enumeração de coliformes totais e termotolerantes utilizando metodologia descrita no *Standard Methods For The Examination of Dairy Products* (MARSHALL, 1992).

2.1 Determinação do número mais provável (NMP) de coliformes totais e termotolerantes

Foi realizado o teste presuntivo para determinação de coliformes totais em Caldo Lauril Sulfato Triptose, por meio da técnica de tubos múltiplos, a qual foi realizada utilizando três séries de tubos das seguintes diluições da amostra – D, 10^{-1} e 10^{-2} – estes tubos foram incubados a 35°C por 24 – 48 horas. Os tubos que apresentaram resultado positivo (evidenciado pela presença de gás no tubo de Durham) foram inoculados em Caldo Verde Bile Brilhante (VBB) e incubados a 35°C por 24 – 48 horas para confirmação da presença de coliformes totais. Os tubos de caldo VBB positivos foram então inoculados em caldo *Escherichia coli* (EC) suplementados com 4-methylumbelliferyl-⁻²-D-glucuronide (MUG) e incubados a 35°C por 24 horas para confirmação de coliformes termotolerantes (*Escherichia coli*), os tubos positivos apresentaram turvação e fluorescência na luz ultravioleta. Após a realização destes testes, os resultados foram obtidos utilizando-se a tabela de Número Mais Provável (NMP).

2.2 Contagem padrão em placas

Foi realizada a contagem de microrganismos aeróbios mesófilos por meio de três diluições da amostra (D, 10^{-1} e 10^{-2}) plaqueadas em duplicata em Ágar Padrão para Contagem (PCA) adicionado de cloreto de 2,3,5 trifeniltetrazólio (TTC) para facilitar a visualização das colônias. As placas foram incubadas a 35°C por 48 horas. Após esse período, procedeu-se a contagem das colônias, utilizando o contador de colônias, e os resultados foram expressos em Unidades Formadoras de Colônias (UFC) por mL.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram avaliadas neste estudo 125 amostras, divididas entre o período de janeiro de 2004 a dezembro de 2007 segundo os critérios estabelecidos pela Instrução Normativa n° 51 de 18 de Setembro de 2002. Conforme os padrões microbiológicos desta Instrução Normativa, o leite pasteurizado tipo “C” deve apresentar ausência de bactérias do gênero *Salmonella* em 25 mL do produto; máximo de 4 NMP/mL de coliformes totais e 2 NMP/mL de coliformes termotolerantes; e contagem de aeróbios mesófilos máxima de 3.0×10^5 UFC/mL (BRASIL, 2002). Os resultados são demonstrados na Figura 1.

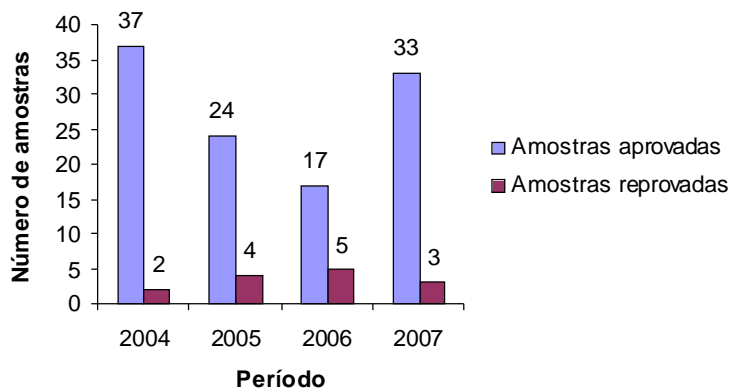


Figura 1 - Avaliação da qualidade microbiológica do leite pasteurizado tipo “C”.

As 14 (11,2%) amostras reprovadas estão divididas nos anos de 2004 (5,1% reprovações), 2005 (14,3% reprovações), 2006 (22,7% reprovações) e 2007 (8,3% reprovação). Todas as reprovações foram

devido às amostras excederem a enumeração de coliformes totais permitida pela legislação vigente, sendo que destas, 28,6 % ainda estavam fora dos padrões estabelecidos para coliformes termotolerantes. Em nenhuma das amostras observou-se contagem de aeróbios mesófilos além dos limites legais preconizados, apresentando uma variação de $1,0 \times 10^1$ a $1,3 \times 10^5$ UFC/mL. Os dados são apresentados na tabela 1.

Tabela 1 - Valores dos resultados das amostras de leite pasteurizado tipo "C" em desacordo com a legislação utilizada.

Período	Amostras	CT (NMP/mL)	CTm (NMP/mL)	CP (UFC/mL)
2004	1	$1,1 \times 10^2$	0,9	$1,6 \times 10^3$
	2	9,3	<0,3	$4,2 \times 10^4$
2005	3	$2,4 \times 10$	<0,3	$2,3 \times 10^3$
	4	$2,4 \times 10^2$	<0,3	$4,8 \times 10^3$
	5	$1,5 \times 10$	<0,3	$1,8 \times 10^4$
	6	$4,6 \times 10$	<0,3	$1,9 \times 10^2$
2006	7	$2,4 \times 10$	<0,3	$7,2 \times 10$
	8	$4,6 \times 10$	2,1	$1,3 \times 10^5$
	9	$2,4 \times 10$	0,4	$3,9 \times 10^2$
	10	9,3	<0,3	$2,6 \times 10$
	11	$2,4 \times 10^2$	<0,3	$2,3 \times 10^4$
	12	9,3	9,3	$1,0 \times 10^3$
2007	13	4,3	4,3	$2,1 \times 10$
	14	$2,4 \times 10$	$2,4 \times 10$	$7,6 \times 10^2$

CT (NMP/mL) – Enumeração de Coliformes Totais (Numero Mais Provável/mL).

CTm (NMP/mL) – Enumeração de Coliformes Termotolerantes (Numero Mais Provável/mL).

CP (UFC/mL) – Contagem de Aeróbios mesófilos (Unidade Formadora de Colônias/mL).

Os resultados encontrados são inferiores aos de Martins e Albuquerque (1999), onde 45 % das amostras de leite pasteurizado tipo "C" da cidade Fortaleza - CE estavam em desacordo quanto ao padrão de coliformes totais. Nas avaliações de Almeida et al. (1999) de amostra de leite pasteurizado tipo "C" em Juiz de Fora - MG encontraram-se 32,14% destas com alto índice de coliformes totais, resultados estes próximos aos descritos na literatura.

Em estudos realizados por Leite et al. (2007) em amostras de leite pasteurizado tipo "C" comercializadas na cidade de Salvador - BA foram encontradas 55% de reprovações por coliformes totais e 35% por coliformes termotolerantes segundo os padrões estabelecidos pelo Ministério da Saúde (BRASIL, 1997). Neste mesmo estudo, os autores encontraram apenas uma amostra fora do limite permitido para contagem de aeróbios mesófilos, e nenhuma amostra contaminada por *Salmonella sp.* e Estafilococos coagulase positiva. Resultados semelhantes foram apresentados por Tamanini et al. (2007) na avaliação microbiológica do leite pasteurizado tipo "C" produzido na região norte do Paraná, na qual encontraram 30% das amostras reprovadas por coliformes totais, 17,5% por coliformes termotolerantes e 3,7% por exceder a contagem de microrganismos aeróbios mesófilos segundo os critérios estabelecidos pelo Ministério da Agricultura e Abastecimento (BRASIL, 1952). Já em resultados encontrados por Zooche et al. (2002) ao pesquisar a qualidade microbiológica de amostras de leite pasteurizado comercializado na região oeste do Paraná, observou-se apenas uma amostra de leite pasteurizado tipo "C" (3,1%) fora dos critérios utilizados (BRASIL, 1952), e não houve reprovações quanto a enumeração de coliformes termotolerantes.

Por outro lado, Carvalho et al. (2004), pesquisando leite pasteurizado tipo "C" na cidade de Alfenas (MG) encontraram 10% das amostras fora dos padrões estabelecidos para coliformes totais (BRASIL, 2002); resultado este próximo ao obtido no presente estudo. Entretanto, quanto à contagem de aeróbios mesófilos, 83% das amostras excederam ao limite legal permitido, diferindo dos valores encontrados neste trabalho.

4 CONCLUSÃO

Com os resultados obtidos, pode-se concluir que a qualidade microbiológica do leite pasteurizado tipo C comercializado na cidade de Juiz de Fora e região teve um índice de reprovações baixo, quando comparado com os resultados descritos na literatura para as mesmas análises realizadas. Verificou-se que nenhuma das

amostras foi reprovada por contagem de microrganismos aeróbios mesófilos, possivelmente este dado reflete a mudança proposta pela Instrução Normativa nº 51 no armazenamento e transporte do leite cru para os estabelecimentos de beneficiamento, porém observou-se a presença de reprovações de amostras por coliformes totais, microrganismos este que deveriam ser destruídos no processo de pasteurização, o que vem a contribuir para um questionamento sobre a eficiência do processo empregado.

Portanto a maioria das amostras analisadas de leite pasteurizado tipo C comercializado na cidade de Juiz de fora e região, apresentou qualidade microbiológica aceitável, estando próprias para o consumo e não causando risco a saúde do consumidor. Porém é necessário a continuação de um trabalho de fiscalização rigoroso nos diversos pontos da cadeia produtiva do leite, não só em atendimento as legislações vigentes, mas em busca de novas soluções para os problemas recém surgidos no decorrer da mudança cultural implicada pela Instrução Normativa nº 51 do Ministério da Agricultura e Abastecimento, quanto principalmente ao transporte do leite cru.

SUMMARY

Microorganisms found in a microbiological analysis of pasteurized milk reflect the sanitary condition concerning the production, collection, transport, handling and market this product, as well as an efficiency of milk's thermal treatment. The aim of this work was to evaluate the microbiological quality of type "C" pasteurized milk from commercial establishments in Juiz de Fora city, MG and area from January 2004 to December 2007, based on the standards for microbiological parameters ordered in the Normative Instruction nº 51, of September 18, 2002 by Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. A total of 125 samples were analyzed quantitatively so as to verify the presence of aerobic mesophilic microorganisms, total coliforms and thermotolerant coliforms. The results showed that no sample was disapproved with respect to the analysis of the aerobic mesophilic microorganisms counting. However, 14 samples (11.2%) were disapproved owing to the presence of total coliforms elevated levels, and among these, 28.6% were also disapproved because they did not meet the standards set for thermotolerant coliforms. The year of 2006 had the largest number of samples disapprovals (22.7%). This result differed from others found in literature about microbiological quality of type "C" pasteurized milk, due to the lower index of disapproved samples found. The absence of samples disapprovals for aerobic mesophilic microorganisms counting may be a reflection of improvements in storage and transport of raw milk to the processing establishments. In spite of this, there are possibilities of process inefficiency regarding pasteurization, since samples disapprovals because of total coliforms were observed.

Index terms: pasteurized milk, microbiological quality, legislation.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMEIDA, A. L. *et al.* Avaliação da qualidade do leite pasteurizado comercializado em Juiz de Fora. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 54, n. 311, Juiz de Fora, p. 9-13, 1999.
- BRASIL. Ministério da Agricultura. Decreto Nº 30691, DE 29 DE MARÇO DE 1952. Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal, **Diário Oficial da União** de 07/07/1952, Seção 1, Página 10785 Disponível em: www.agricultura.gov.br.
- BRASIL. Ministério da Agricultura. Instrução Normativa nº 51 de 18 de setembro de 2002. Anexo III Regulamento Técnico de Produção, Identidade e Qualidade do Leite tipo C. , **Diário Oficial Disponível em : www.agricultura.gov.br**. Acesso em 21 mai. 2007. 16:30:00.
- CARVALHO, M. G. X.; MEDEIROS, N. G. E. A.; ALVES, A. R. S.; SANTOS, M., G. O.; LIMA, S. C. P.; AZEVEDO, S. S. Análise microbiológica do leite in natura e pasteurizado tipo "C" proveniente de uma mine-sina da cidade de Patos, Paraíba. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 18, n. 123, p. 62-66, 2004.
- FREITAS, J. A.; OLIVEIRA, J. P. G.; GLAUCIO A. R. Avaliação da qualidade higiênico-sanitária do leite exposto ao consumo na região metropolitana de Belém-PA, **Revista Instituto Adolfo Lutz**; 64(2):212-218, jul-dez. 2005.
- GUSMÃO, V. V.; GONÇALVES, T. M. V.; HOFFMANN, F. L. Qualidade microbiológica de leite pasteurizado tipos A, B e C, obtido do comércio varejista da região de São José do Rio Preto, SP. **Revista Higiene Alimentar**, 19(137):95-100, nov.-dez. 2005.

- JAY, J. M.; LOESSNER, M. J.; GOLDEN, D. A. **Modern Food Microbiology**. 7.ed. New York: Springer, 2005. 790p.
- LEITE, C. C.; GUIMARÃES, A. G.; ASSIS, P. N.; SILVA, M. D.; ANDRADE, C. S. Qualidade bacteriológica do leite integral (tipo C) comercializado em Salvador – Bahia. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, An. 3 (1), Ondina, p. 21-25, 2002.
- MARSHALL, R. T. **Standard Methods For The Examination Of Dairy Products**. 16th ed.. Washington DC: American Public Health Association, 1992. 546p.
- MARTINS, S. C. S.; ALBURQUERQUE, L. M. B. Qualidade do leite pasteurizado tipo C comercializado no município de Fortaleza. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 13, n. 59, Juiz de Fora, p. 39-42, 1999.
- SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A.; TANIWAKI, M. H.; SANTOS, R. F. S.; GOMES, R. A. R. **Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos**. 3^a ed. São Paulo: Varela, 2007. 552p.
- QUEVEDO, P. S.; TEJADA, T. S.; ROOS, T. B.; TIMM, C. D. Correlação entre a contagem de mesófilos aeróbicos e a contagem de coliformes totais em leite pasteurizado tipo C. In: XIV CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 2006, Pelotas. **Anais do XIV Congresso de Iniciação Científica**. 2006.
- RIEDEL, G. **Controle sanitário de alimentos**. 2^a ed. São Paulo: Atheneu, 1992.
- ROBINSON, R. Q. **Dairy microbiology: the microbiology of milk**. New York: Elsevier Applied Science, 1990. v. 1.
- TAMANINI, R.; SILVA, L. C. C.; MONTEIRO, A. A.; MAGNANI, D. F.; BARROS, M. A. F.; 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, v. 28, n. 3, p. 449-454, jul./set. 2007.
- ZOCHE, F.; BESSOT, L. S.; VARCELLOS, 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. **Archives of Veterinary Science**, Curitiba, v. 7, n. 2, p. 59-67, 2002.