

ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DE LEITE PASTEURIZADO COMERCIALIZADO NO MUNICÍPIO DE BANDEIRANTES – PR

MICROBIOLOGICAL ANALYSIS OF PASTEURIZED MILK COMMERCIALIZED IN THE CITY OF BANDEIRANTES-PR

¹SAEKI, E.K.; ²SANTOS, B.R.; ³MATSUMOTO, L.S.

¹Discente do Departamento de Patologia Geral/Universidade Estadual do Norte do Paraná/FALM

²Bióloga/ Universidade Estadual do Norte do Paraná/FALM

³Docente do Departamento de Patologia Geral / Universidade Estadual do Norte do Paraná/FALM

RESUMO

O leite, por ser considerado um alimento completo em nutrientes, essencial na alimentação do homem, torna-se um excelente meio de cultura para a maioria dos microrganismos encontrados na natureza. A pasteurização tem a finalidade de eliminar os microrganismos patogênicos do leite, porém alguns microrganismos sobrevivem a este tratamento. O presente trabalho teve como objetivos avaliar as condições microbiológicas em amostras de leite pasteurizado comercializados no município de Bandeirantes – PR e verificar a eficiência do tratamento térmico em banho-maria aplicado às amostras coletadas, através das contagens de bactérias mesófilas, psicrotóficas, *Staphylococcus* sp, determinação de Número Mais Provável (NMP/ml) de coliformes totais e fecais. Os resultados demonstraram que as duas amostras analisadas de leite tipo A estão fora dos padrões exigidos, e das 6 amostras de leite pasteurizado, duas (33,3 %) apresentaram valores acima do tolerado pela legislação para Coliformes totais. Já para coliformes fecais, uma amostra de leite A e uma do leite pasteurizado citadas acima, estiveram fora dos padrões microbiológicos. Considerando a contagem de *Staphylococcus* sp., $3,0 \times 10^4$ UFC/ml foi o maior valor encontrado. Após o tratamento térmico em banho-maria a 62,8°C/ 30 minutos, todas as amostras apresentaram valores de acordo com a IN51 (MAPA, 2002), o que mostra a eficiência deste tratamento.

Palavra-chave: leite, pasteurização, microrganismos, mesófilos e psicrotóficos.

ABSTRAT

The milk, considered as a complete food in nutrients, essential in the man's feeding, becomes an excellent way of culture for most of the microorganisms found in the nature. The pasteurization has purpose of eliminating the pathogenic microorganisms of the milk, however some microorganisms survive this treatment. The present work had as objectives to evaluate the microbiological conditions in samples of pasteurized milk marketed in Bandeirantes – PR, and to verify efficiency of the applied thermal treatment in bain-marie to the collected samples, through the countings of bacteria mesophilics bacterias, psychotrophics, *Staphylococcus* sp, determination of Most Probable Number (NMP/ml) of total and fecal coliforms. The results showed that the two analyzed samples of milk type A were out of the required patterns, and of the 6 samples of pasteurized milk, two of them (33,3%) presented a value higher than the tolerated by the legislation for total coliforms. For fecal coliforms, a sample of milk type A and one of pasteurized milk mentioned above, were out of the microbiological patterns. Considering the counting of *Staphylococcus* sp., $3,0 \times 10^4$ UFC/ml was the biggest found value. After the thermal treatment in bain-marie at 62,8°C/30 minutes, all of the samples were analyzed again for the parameters mentioned already, and they presented values in agreement with IN51 (MAPA, 2002), what shows the efficiency of this treatment.

Key-word: milk, pasteurization, microorganisms, mesophilics and psychotrophics bacterias.

INTRODUÇÃO

O leite e seus derivados desempenham um papel nutricional importante para o homem, particularmente nos primeiros anos de vida, uma vez que fornecem proteínas, carboidratos, gorduras e sais minerais necessários ao desenvolvimento do organismo (FONSECA & SANTOS, 2000). Devido à sua riqueza em nutrientes, o leite torna-se um alimento vulnerável a contaminação por microrganismos. Estes contaminantes podem causar modificações no leite, o que limitam a durabilidade do mesmo e seus derivados (FREITAS *et al.*, 2002).

É na fazenda onde se inicia a contaminação do leite, durante ou depois da ordenha, devido à ineficiência de higienização de utensílios e do homem, além de doenças do próprio rebanho. Desta forma, para manter a qualidade do leite é preciso que este seja produzido, pasteurizado e comercializado de maneira correta, de acordo com a legislação (GARCIA *et al.*, 2000).

A pasteurização do leite é considerada uma valiosa arma na prevenção de doenças disseminadas por este alimento. Porém, mesmo quando eficiente na destruição dos agentes patogênicos, não é capaz de eliminar todos os microrganismos presentes no produto (SBAMPATO, 1998).

Diante disso, o presente trabalho teve como objetivo avaliar as condições microbiológicas em amostras de leites pasteurizados comercializados no município de Bandeirantes-PR e verificar a eficiência do tratamento térmico em banho-maria aplicado às amostras coletadas.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram analisadas 4 marcas de leite pasteurizado, em dois tempos diferentes, totalizando 8 amostras. Estas foram adquiridas aleatoriamente no comércio de Bandeirantes, PR, entre janeiro e março de 2008.

Os leites analisados foram classificados como sendo 1 do tipo A pasteurizado integral homogeneizado (A PIH1 e A PIH2) e 3 do tipo pasteurizado, sendo 1 pasteurizado padronizado homogeneizado (PPH1 e PPH2), 1 pasteurizado integral homogeneizado (PIH1 e PIH2) e 1 pasteurizado integral (PIN1 E PIN2).

Todas as amostras foram analisadas “in natura” e também após o tratamento térmico em banho-maria a 62,8°C/ 30 minutos, de acordo com a metodologia padrão descrita por Vanderzant e Splittstoesser (1992).

Primeiramente foi preparado diluições seriada 1/10 até 10^{-5} , com água peptonada a 0,1% esterilizada. De cada diluição, foi depositada 1mL no fundo de placas de Petri esterilizadas. Em seguida, foi adicionado o (PCA) Agar padrão para contagem e as placas foram incubadas a 35°C/48h e 7°C/10 dias para a contagem de microrganismos aeróbicos mesófilos e psicrotróficos, respectivamente (Oliveira, 2005). O mesmo procedimento foi realizado à amostra pós-tratamento térmico.

Para contagem de coliformes totais utilizou-se 1ml das diluições 10^{-1} a 10^{-3} e transferiu-se para 5 mL de Caldo Verde Brilhante Lactose Bile (CVBLB) em 3 séries de 5 tubos de ensaio (contendo tubos de Duhran), e foram incubados a 35°C/48 horas. A partir da confirmação positiva, foram feitos testes para a determinação de coliformes fecais.

Com a finalidade de detectar *Staphylococcus* coagulase positiva, foi utilizado o método de contagem direta em placas com semeadura em superfície e espalhamento com a alça de Drigalsky em meio contendo Agar Baird-Parker (BPA) e incubadas a 35-37°C/24-48h (Oliveira, 2005).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Das 8 amostras analisadas, 4 (50%) apresentaram valores de contaminação acima dos padrões exigidos pela Instrução Normativa nº51. Nas amostras de leite pasteurizado, as contagens de mesófilos variaram de $2,4 \times 10^3$ a $4,4 \times 10^6$ UFC/ml, sendo que das 6 amostras analisadas deste leite, apenas 2 (33,3%) apresentou valor acima do tolerado pela legislação (**Tabela 1**).

Tabela 1. Contagens totais de mesófilos e psicrotróficos pelo método PCA.

Amostras	Mesófilos (UFC/ml)	Mesófilos Past. (UFC/ml)	Psicrotróficos (UFC/ml)	Psicrot. Past. (UFC/ml)
I PIH1	$2,5 \times 10^3$	0	0	0
I PIH2	3×10^4	0	0	0
II PPH1	$1,0 \times 10^5$	$3,5 \times 10^4$	2×10^1	$0,5 \times 10^1$
II PPH2	$2,4 \times 10^3$	$2,5 \times 10^2$	0	0
III PIN1	$4,4 \times 10^6$	0	$5,4 \times 10^1$	2×10^1
III PIN2	$1,0 \times 10^4$	$5,5 \times 10^3$	$1,5 \times 10^0$	0
AIV PIH1	$4,8 \times 10^3$	0	0	0
AIV PIH2	$1,3 \times 10^3$	$1,7 \times 10^2$	0	0

(Dados: I, II, III e IV = marcas; 1 e 2 = amostra; (PIH = Leite Pasteurizado Integral Homogeneizado); (PPH = Leite Pasteurizado Padronizado Homogeneizado); (PIN = Leite Pasteurizado Integral); (A PIH = Leite A Pasteurizado Integral Homogeneizado))

Zocche et al. (2002) observaram que 3,1% das amostra do leite tipo “C” (atual leite pasteurizado) apresentaram contagem superior ao limite da legislação ($3,7 \times 10^6$ UFC/ml), semelhante à amostra encontrada na presente pesquisa ($4,4 \times 10^6$).

As contagens de psicrotróficos tiveram valores variando de 0 a $5,4 \times 10^1$ UFC/ml. Para Mahieu (1991), contagens de psicrotróficos a partir de 10^6 UFC/ml, já permitem modificações de sabor, odor e consistência em leite e derivados. Portanto, podemos considerar que as contagens de psicrotróficos neste trabalho estiveram muito abaixo do mencionado, não apresentando alterações organolépticas.

Após o tratamento térmico realizado no laboratório, todas as amostras analisadas tiveram seus valores diminuídos, mostrando que o processo no laboratório foi eficaz (**Figura 1**).

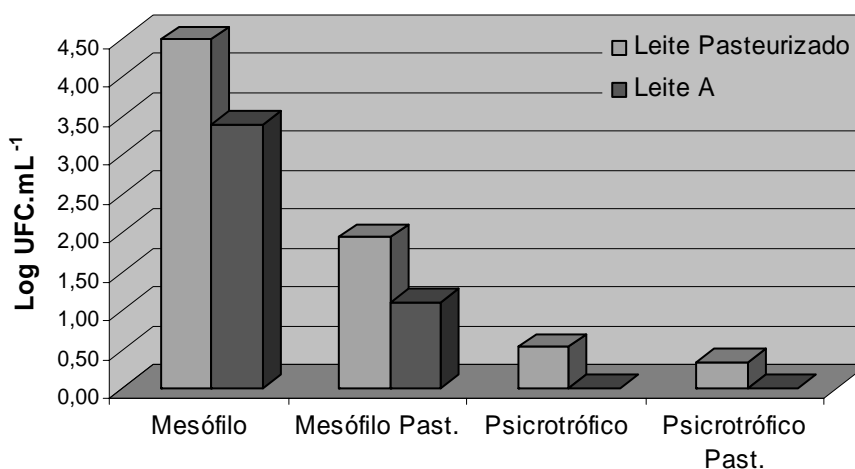


Figura 1. Médias das contagens de mesófilos e psicrotróficos, antes e após a pasteurização no laboratório.

As amostras de leite apresentaram valores variando de 0 a $5,4 \times 10^2$ para coliformes totais. As 2 amostras do leite tipo A e uma do leite pasteurizado apresentaram valores acima dos padrões exigidos (**Tabela 2**). Mucelin et al. (2003) encontraram apenas uma amostra contaminada por coliformes totais ($17,5$ NMP/ml), bem abaixo dos resultados encontrados no presente trabalho.

As amostras de leite tipo A e pasteurizado apresentaram valores com entre 0 a $1,8 \times 10^2$ para coliformes fecais. De acordo com a IN51, uma das amostras do leite tipo A e uma do leite pasteurizado apresentaram valores fora dos padrões

exigidos por esta legislação, ou seja, a amostra AIV PIH1 e amostra III PIN1, com os valores $1,3 \times 10^2$ e $1,8 \times 10^2$ NMP/ml, respectivamente (**Tabela 3**).

Tabela 2. Coliformes totais antes e após a pasteurização no laboratório das amostras de leites pasteurizados, comercializados em Bandeirantes e analisados pelo método de tubos múltiplos.

Amostras	Tubos Múltiplos (NMP/ml)	Tubos Múltiplos Trat.. (NMP/ml)
I PIH1	< 0,90	< 0,90
I PIH2	< 0,90	< 0,90
II PPH1	< 0,90	< 0,90
II PPH2	< 0,90	< 0,90
III PIN1	$1,8 \times 10^2$	< 0,90
III PIN2	< 0,90	< 0,90
AIV PIH1	$5,4 \times 10^2$	< 0,90
AIV PIH2	1,8	< 0,90

(Dados: I, II, III e IV = marcas; 1 e 2 = amostra; (PIH = Leite Pasteurizado Integral Homogeneizado); (PPH = Leite Pasteurizado Padronizado Homogeneizado); (PIN = Leite Pasteurizado Integral); (A PIH = Leite A Pasteurizado Integral Homogeneizado))

Tabela 3. Coliformes fecais das amostras de leites pasteurizados, comercializados em Bandeirantes e analisados pelo método de tubos múltiplos, antes e após a pasteurização no laboratório.

Amostras	Tubos Múltiplos (NMP/ml)	Tubos Múltiplos Repast. (NMP/ml)
I PIH1	0	0
I PIH2	0	0
II PPH1	0	0
II PPH2	0	0
III PIN1	$1,8 \times 10^2$	0
III PIN2	0	0
AIV PIH1	$1,3 \times 10^2$	0
AIV PIH2	0	0

(Dados: I, II, III e IV = marcas; 1 e 2 = amostra; (C PIH = Leite C Pasteurizado Integral Homogeneizado); (C PPH = Leite C Pasteurizado Padronizado Homogeneizado); (C PIN = Leite C Pasteurizado Integral); (A PIH = Leite A Pasteurizado Integral Homogeneizado)).

Mucelin *et al.* (2003) observaram que apenas uma amostra esteve contaminada por coliformes fecais (13 NMP/ml). Já Macedo e Pflanzler Jr. (2005), 12,5% das amostras apresentaram valores acima dos padrões legais vigentes.

Tabela 4. Contagem de *Staphylococcus* sp obtidas em amostras de leites pasteurizados, antes e após a pasteurização no laboratório.

Amostras	<i>Staphylococcus</i> sp. (UFC/ml)	<i>Staphylococcus</i> sp. Past. (UFC/ml)
I PIH1	$2,1 \times 10^2$	$8,5 \times 10^1$
I PIH2	$0,5 \times 10^1$	0
II PPH1	$4,2 \times 10^2$	$0,5 \times 10^2$
II PPH2	$3,8 \times 10^2$	0
III PIN1	$3,0 \times 10^4$	$0,5 \times 10^3$
III PIN2	$5,5 \times 10^2$	$2,8 \times 10^2$
IV A PIH1	0	0
IV A PIH2	$5,0 \times 10^2$	$0,5 \times 10^2$

(Dados: I, II, III e IV = marcas; 1 e 2 = amostra; (PIH = Leite Pasteurizado Integral Homogeneizado); (PPH = Leite Pasteurizado Padronizado Homogeneizado); (PIN = Leite Pasteurizado Integral); (A PIH = Leite A Pasteurizado Integral Homogeneizado)).

Todas as amostras analisadas apresentaram *Staphylococcus* sp, com exceção de apenas umas das duas amostras de leite A (**Tabela 4**). A elevada contagem desses microrganismos são fatores preocupantes. Concentrações desses microrganismos variando de 10^5 a 10^6 UFC/ml são consideradas suficientes para a produção de toxinas estafilocócicas. (ASSUMPÇÃO *et al.* 2003). Na presente pesquisa, o maior valor encontrado foi $3,0 \times 10^4$ UFC/ml, ou seja, fora da dose infectiva, mas que preocupa o fato do leite ser um excelente meio de cultivo bacteriano.

CONCLUSÃO

Mediante os resultados obtidos no presente trabalho, concluiu-se que 2 amostras de leite tipo A e 33% das amostras de leite Pasteurizado apresentaram contaminação por mesófilos, o que confirma a necessidade de uma melhor ação por parte dos órgãos fiscalizadores para minimizar os produtos em desacordo. Além disso, observou-se contaminação por coliformes totais e fecais, o que se torna evidente que problemas sanitários têm ocorrido na obtenção, tratamento e conservação do leite.

Apesar de não existir uma legislação própria sobre a contaminação por *Staphylococcus* sp., em leite, 7 amostras (87,5%) apresentaram este tipo de bactérias, isto indica prováveis falhas no processo de pasteurização ou recontaminação após o tratamento térmico. Por isso, devem ser implantados programas de qualidade para garantir melhores condições higiênico-sanitárias das indústrias durante todo o processo até a distribuição e comercialização.

REFERÊNCIAS

ASSUMPÇÃO, E.G.; PICCOLI-VALLE, R.H.; HIRSCH, D. ABREU, L. R. Fontes de contaminação por *Staphylococcus aureus* na linha de processamento de queijo prato. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. Belo Horizonte, v.55, n.3, 2003.

FONSECA, L. F. L.; SANTOS, M. V. **Qualidade do leite e controle de mastite**. São Paulo : Lemos Editorial, 175p, 2000.

FREITAS, J. A; OLIVEIRA, J. P. de; SUMBO, F.D. Características físico-químicas e microbiológicas do leite fluido exposto ao consumo na cidade de Belém, Pará. **Higiene Alimentar**, v.16, n. 10, p. 89-95, 2002.

GARCIA, C. A; SILVA, N.R.; LUQUETI, B. C.; MARTINS, L. P.; SILVA, R. T.; VIEIRA, R. C. Influência do ozônio sobre a microbiota do leite “in natura”. **Higiene Alimentar**, v.11, n.70, p. 37-49, 2000.

MACEDO, R.E.F.; PFLANZER JR, S. B. Avaliação da qualidade microbiológica do leite pasteurizado tipo c, comercializado na região metropolitana de Curitiba, PR. **Higiene Alimentar**, v.19, n.128, p. 103-107, 2005.

MAHIEU, H. Modificaciones de la leche despues de su recogida. In: LUQUET, F.M. **Leche y Productos Lacteos** . La leche de la Mama a la Lecheria. Zaragoza: Acribia, S.A., p. 181-226, 1991.

Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal-DIPOA. Instituição Normativa n.51 de 18/09/2002. Disponível em: <[http:// www.agricultura.gov.br/](http://www.agricultura.gov.br/)> (Acessado em 10 de setembro de 2007).

MUCELIN, C. A; FENIMAN, C. M.; PASINI, G. Avaliação microbiológica do leite pasteurizado tipo C comercializado no município de Medianeira - PR. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo - SP, v. 17, n. 104/105, p. 77-86, 2003.

OLIVEIRA, R.P.S. Condições microbiológicas e avaliação da pasteurização em amostras de leite comercializadas no município de Piracicaba-SP. **Dissertação de Mestrado** – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” / ESALQ, Universidade de São Paulo, Piracicaba, SP, 2005.

SBAMPATO, C.G. Influência de dois sistemas de pasteurização na composição do leite e do soro do queijo tipo gorgonzola. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v.53, n.305, p. 15-20, 1998.

VANDERZANT C; SPLITTSTOESSER DF. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. Washington: American Public Health le Association, 1219 p. 1992.

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. **Archives of Veterinary Science**, v.7, n.2, 2002.