

ANÁLISE BACTERIOLÓGICA E FÍSICO-QUÍMICA DE LEITE CRU RESFRIADO, PROVENIENTE DE POSTO DE REFRIGERAÇÃO, SOB INSPEÇÃO FEDERAL, EM RIO BONITO, RJ.

Joana Tavares Talim ✉

Médica Veterinária

Robson Maia Franco

Universidade Federal Fluminense. Faculdade Medicina Veterinária. Departamento de Tecnologia de Alimentos. Niterói, RJ

✉ tavjoana@gmail.com

RESUMO

Com o objetivo de avaliar a qualidade microbiológica e físico-química do leite cru de propriedades rurais do município de Rio Bonito-RJ e arredores, foram analisadas 20 amostras de leite provenientes de Posto de Refrigeração, subsidiado à Indústria Nestlé, coletadas de latões e de tanque de refrigeração. Realizaram-se análises microbiológicas como Contagem Total de Bactérias Heterotróficas Aeróbias Mesófilas (B.H.A.M), Contagem total de Bactérias Heterotróficas Aeróbias Psicotróficas (B.H.A.P) seguindo as análises físico-químicas, tais como: temperatura, acidez titulável, prova alizarol, lactofermentação, prova da redução e contagem de células somáticas. Para as variáveis da prova do alizarol houve reprovação em 20% das amostras, já para acidez 95% estavam dentro dos padrões normais. A temperatura das amostras, no ato da

coleta, apresentou grandes variações em decorrência da distância e transporte inadequados. No teste da redução apenas 15% foram consideradas boas ou ótimas e na lactofermentação 100% das amostras formaram algum tipo de coágulo. Em relação à contagem de bactérias, as B.H.A.M foram encontradas fora dos padrões em 65% das amostras e nas B.H.A.P em 80% dos resultados encontrados. Quanto à contagem de células somáticas apenas uma amostra apresentou-se fora do padrão. Concluiu-se que a qualidade do leite pode ser melhorada por meio de assistência técnica e instrucional aos produtores, considerando os aspectos da legislação vigente associados à higienização adequada dos latões e utensílios de ordenha. O leite deve ser resfriado na fazenda e transportado sem delongas até a cooperativa.

Palavras-chave: Leite cru. Identificação bacteriana. Métodos físicos-químicos do leite cru.

ABSTRACT

With the objective of evaluating the microbiology and physicochemical quality of raw milk from rural properties in the city of Rio Bonito-RJ and surrounding areas, were analyzed 20 samples of raw milk from Refrigeration Station, subsidized by Nestlé, collected from bulk milk collectors and cooling tank. Microbiological analyzes were performed as Total Counting of Mesophilic Aerobic Heterotrophic Bacteria (M.A.H.B), Total Counting of Heterotrophic Aerobic Psychrophilic Bacteria (H.A.P.B) and physicochemical analyzes: temperature, titratable acidity, alizarol test, lactofermentation, reduction test and cell count somatic cells. For the variables of the alizarol test there was reprobation in 20% of the samples, already for acidity 95% were within normal standards. The temperature of the samples, at the time of collection, presented great

variations due to inadequate distance and transport. In the reductase test only 15% were considered good or optimal and in the lactofermentation 100% of the samples formed some type of clot. Regarding bacterial counts, M.A.H.B were found out of standards in 65% of samples and in H.A.P.B in 80% of the results found. As for somatic cell count, only one sample was out of standard. It is concluded that the quality of milk can be improved by providing technical and instructional assistance to producers and by appropriate hygiene of brass and milking utensils. The milk should be cooled on the farm and transported without delay to the Milk Collection Centers.

keywords: *Raw milk. Bacterial identification. Physical-chemical methods of raw milk.*

INTRODUÇÃO

Por definição, o leite é o produto integral da ordenha total e ininterrupta de uma fêmea leiteira sadia, bem nutrida e não fatigada. Deve ser produzido de forma adequada, isento de substâncias estranhas e não conter colostro (BRASIL, 1997). É um líquido branco, opaco, duas vezes mais viscoso que a água, de sabor ligeiramente adocicado e de odor pouco acentuado.

Sendo um dos principais alimentos da dieta humana, tanto como valor nutricional como valor emocional. Por sua composição química, ele é um excelente substrato para o homem e também para uma infinidade de micro-organismos, que utilizam esses princípios nutritivos como alimento. A atividade dos micro-organismos próprios do leite é claramente benéfica uma vez que confere a ele suas propriedades físicas, químicas e organolépticas. A atividade microbiana não controlada, em

contrapartida, é altamente prejudicial já que promove alteração na sua qualidade, tornando-o impróprio ao consumo. Mudanças na estrutura da pirâmide populacional, nos hábitos de consumo, no aumento do poder aquisitivo e nas condições de bem-estar das pessoas têm influenciado positivamente o consumo *per capita* de lácteos em países emergentes (VILELA, 2017). Baseando-se nisso, a avaliação do leite cru *in natura* faz-se necessária por ser um grande indicador de parâmetro da qualidade técnica de manejo e das condições higienicossanitárias adotadas, resultando ou não em produto de alto valor biológico.

De acordo com a Instrução Normativa nº 51 (já alterada pela IN nº 62), o leite cru refrigerado, independentemente do seu tipo, deve ser coletado na propriedade rural e transportado a granel, visando promover a redução geral de custos de obtenção e, principalmente, a conservação de sua qualidade até a recepção em estabelecimento submetido a inspeção sanitária oficial.

O Posto de Refrigeração (SIF 4487), subsidiado à Indústria de Laticínios local sob inspeção federal, funciona como Cooperativa do Município de Rio Bonito, no estado do Rio de Janeiro, onde recebe leite cru de diversos outros municípios locais, tais como: Maricá, Silva Jardim, Tanguá e adjacências.

Uma vez que o produto chega ao Posto de Refrigeração, uma série de normas laboratoriais de controle diário são recomendadas, tais como, medição de temperatura, teste do álcool alizarol com concentração mínima de 72% de volume/volume, acidez titulável, índice crioscópico, densidade relativa a 15/15°C, teor de gordura, pesquisa de fosfatase alcalina, pesquisa de peroxidase, porcentagem de sólidos totais e sólidos não gordurosos, pesquisa de neutralizantes de acidez e de reconstituintes da

densidade, e outras pesquisas que se façam necessárias apoiadas na legislação vigente.

Após a realização dos procedimentos de rotina, o leite é armazenado no Posto e refrigerado em equipamento de placas em temperatura não superior a 4°C, admitindo a permanência do produto nesse estabelecimento pelo período máximo de 6 horas.

No intuito de avaliar a qualidade microbiológica do leite cru, foram analisadas um total de 20 amostras, no período de março à maio, provenientes de latão e do tanque de refrigeração. Antes da coleta de cada uma delas, realizaram-se três provas de Controle Físico-químico no Posto: prova do alizarol, avaliação de temperatura e determinação de acidez. As provas de Controle Microbiológico se processaram no laboratório de Controle Microbiológico da Universidade Federal Fluminense e consistiram em lactofermentação, prova da redução, contagem de células somáticas (CSS) por meio do método de Breed, contagem de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas (B.H.A.M) e contagem de bactérias heterotróficas aeróbias psicotróficas (B.H.A.M).

Assim, este trabalho teve por objetivo avaliar a qualidade do leite cru produzido sob inspeção federal na região de Rio Bonito, no Rio de Janeiro, por meio dos resultados das análises laboratoriais, armazenamento e transporte encontradas, com a finalidade de fornecer subsídios para a adoção de medidas governamentais, educativas e sanitárias para o controle de qualidade.

MATERIAL E MÉTODOS

As amostras de leite cru refrigerado foram coletadas em Posto de Refrigeração localizado no município de Rio Bonito, do estado do Rio de Janeiro, que recebem e refrigeram aproximadamente 40.000L de leite.

Para a coleta, manuseio e manutenção das 20 amostras totais seguiu-se o procedimento padrão de 200 mL de leite cru resfriado, em frascos de vidro esterilizados previamente no laboratório do Departamento de Controle Microbiológico da Universidade Federal Fluminense. No momento da coleta das amostras, as temperaturas foram medidas, a prova do alizarol ou teste do alizarol foi realizada em álcool 78% (v/v) e o método para determinar a acidez foi o teste de acidez titulável (Dornic) pelo qual, os valores normais para leite cru estão entre 15 e 18 °D (SILVA et al., 2001). Após esses procedimentos, as amostras foram imediatamente colocadas em banho de gelo, com temperatura inferior a 4°C, e transportadas ao laboratório para a realização das análises microbiológicas.

As amostras do leite cru refrigeradas foram submetidas à prova da lactofermentação espontânea para verificação do tipo de bactéria mesofílica predominante no leite e, após incubação, fez-se avaliação do coágulo formado. Já na redutase foi necessário utilizar a mistura de 90% de amostra com 10% de azul de metileno (BRITO et al., 2009).

O processamento bacteriológico das amostras foi realizado no interior da câmara asséptica, na zona de segurança. A contagem de B.H.A.M foi obtida em função das diluições 10^5 , 10^8 , 10^7 adicionada em Agar Padrão

para Contagem e incubada em estufa a 35 °C por 24 horas. Já para a Contagem de B.H.A.P foi realizado o mesmo procedimento, com a diferença da incubação ser a 7 °C por 10 dias.

A Contagem Microbiana pela microscopia direta consistiu em um exame microscópico previamente calibrado, de um esfregaço em lâmina microscópica (FM), obtendo assim o número de 80 campos contados (SILVA et al., 2001).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com os resultados obtidos na prova do alizarol, observou-se que apenas 20% das amostras apresentaram resultado indesejável, sendo 10% suspeitas, pois adquiriram coloração arroxeada, indicando presença de água ou redutores como bicarbonato de sódio, e 10% positivas pois sofreram coagulação e adquiriram coloração amarelada, indicando teor de acidez elevado. Em estudos realizados por Freire (2006) observou-se que de 55 amostras analisadas, oito delas apresentaram-se não estáveis ao alizarol, sofrendo coagulação. Faustino et al. (2009) observaram que, das oito amostras estudadas por eles, duas estavam em desacordo (25%). Já Fernandes et al. (2010) verificaram 100% das amostras dentro do padrão. Vale ressaltar que todas as comparações foram realizadas em teste alizarol 75% (v/v).

A temperatura das amostras de

leite cru resfriado sofreu a maior oscilação, sendo as mais elevadas medidas nos latões a granel e as de menor valor no tanque de refrigeração. Após determinada a média aritmética, a temperatura padrão ficou em 18°C, temperatura essa considerada bem acima do que determina a legislação, de 4 °C para refrigeração em tanques por expansão direta e de 7 °C em refrigeração por tanques de imersão. Em ambos os casos o leite permanece no período máximo de 3 horas antes de ser direcionado para as indústrias de beneficiamento, conforme Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (Instrução Normativa nº 62 de 2011).

Com relação à Acidez Titulável Dornic, 95% das amostras foram consideradas dentro do padrão de qualidade exigidos pela legislação, os outros 5% caracterizando leite ligeiramente ácido. Soares et al. (2003) verificaram que 19,1% das amostras estavam em desacordo com o estabelecido pela legislação, enquanto Fernandes et al. (2010) encontraram 100% das amostras em acordo.

Para a prova da redução, contrariando o estudo de Carvalho et al. (2004) e Fernandes et al. (2010), 55% das amostras não descoloraram, caracterizando assim presença de inibidor bacteriano ou conservante; 10% coraram parcialmente, indicando presença de inibidor bacteriano, 10% foram classificadas como muito

Quadro 1 - Interpretação dos resultados da prova da redução ou redutase referente a qualidade das amostras.

Tempo aproximado de redução do azul de metileno	Qualidade do Leite
Menos que 1 hora	Péssimo
Entre 1h e 3h	Ruim
Entre 3h e 5h	Regular
Entre 5h e 7h	Boa
Até 8h	Ótima

Quadro 2 - Interpretação dos resultados da prova de lactofermentação quanto aos tipos de coágulos.

Tipos de coágulo	Interpretação
Gelatinoso GE1: uniforme, sem separação do soro e sem produção de gás	A lactose foi transformada em ácido láctico com coagulação ácida da caseína. Os micro-organismos responsáveis são os homofermentativos, principalmente os dos gêneros <i>Streptococcus</i> e <i>Lactobacillus</i> .
Gelatinoso-Caseoso GE2: os coágulos são mais ou menos contraídos, em bastonetes ininterruptos, com liberação de soro esverdeado e pequenas bolhas de gás	Além da presença dos dos gêneros <i>Streptococcus</i> e <i>Lactobacillus</i> , atuaram também <i>Escherichia coli</i> e <i>Streptococcus citrovorus</i> .
Caseoso-Esponjoso C2: os coágulos apresentam em grãos ou flocos. O soro apresenta leitoso, amarelo e maior formação de gases	Os micro-organismos atuantes são os heterofermentativos e termodúricos.
Esponjoso-gasosos E1: ocorre grande formação de gases.	Os micro-organismos presentes são os termodúricos e termófilos. Têm-se neste grupo os chamados coliaerogenes (<i>Escherichia coli</i> e <i>Enterobacter aerogenes</i>)

ruins, 10% como regulares; 5% consideradas boas e 10% como ótimas (referência quadro 1).

tipo GE1; três amostras com coágulo esponjoso tipo E1 e uma amostra coágulo caseoso tipo C2. (referência quadro 2)

Quanto à contagem de Bactérias Heterotróficas Aeróbicas Mesofílicas, 65% das amostras caracterizaram-se acima do limite máximo de $6,0 \times 10^5$ UFC/mL estabelecido pela Instrução Normativa nº 62/2011 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Já para a contagem de Bactérias Heterotróficas Aeróbicas Psicrófilas, 80% das amostras de leite cru foram consideradas desqualificadas uma vez que a contagem excedeu a potência de 10^6 . Apesar de não haver um limite estabelecido pela legislação em leite cru refrigerado, a presença das psicrófilas é preocupante, já que algumas espécies podem alterar as características do leite, bem como serem prejudiciais à saúde dos consumidores. Em relação à contagem de Células Somáticas (CSS), apenas uma amostra foi considerada como fora do padrão estabelecido como

máximo de $4,0 \times 10^5$ UFC/mL pela Instrução Normativa nº 62 (BRASIL, 2011); nas demais amostras, 70% delas enquadraram-se como leite bom, onde a CSS foi inferior a $2,0 \times 10^5$ UFC/mL e 25% como leite regular obtendo resultado entre $2,0 \times 10^5$ UFC/mL e $3,0 \times 10^5$ UFC/mL. Segundo Little (1938), citado por Kitchen (1981), no leite de vacas sadias a CCS gira em torno de 5×10^4 UFC/mL, porém sendo a contagem até $1,0 \times 10^5$ UFC/mL aceita como normal. Smith (1996) e Brito e Brito (1998) consideram como limite aceitável $2,0 \times 10^5$ UFC/mL, já $3,0 \times 10^5$ UFC/mL é, geralmente, considerado indicativo da presença de inflamação da glândula mamária.

CONCLUSÃO

A maioria das amostras de leite cru resfriado encontrado no município de Rio Bonito, não se encontrou em condições apropriadas para sua comercialização *in natura*, de acordo com as exigências do Ministério da Saúde e da Agricultura.

Do ponto de vista da qualidade do leite, a preocupação principal é a

presença de bactérias psicrotólicas que contribuem para a deterioração do mesmo e, conseqüentemente, dos produtos lácteos produzidos a partir dele. Essas bactérias se multiplicam no leite cru, desenvolvendo atividades metabólicas que levam à fermentação de carboidratos e à degradação de proteínas e lipídeos, influenciando na manutenção da qualidade do leite. As enzimas produzidas por esse tipo de bactéria são muito estáveis ao calor e resistentes ao processo térmico convencional.

Pela coleta ser granelizada, em alguns casos, o leite é processado somente alguns dias após a ordenha. Esse período de estocagem refrigerada, mas sem qualquer tratamento térmico ou químico, leva ao aumento do número de micro-organismos psicrotóxicos, uma vez que se encontram amplamente distribuídos na natureza como no solo, água, plantas e animais. Altas contagens desse tipo de bactéria estão associados à deficiências de higiene na ordenha, falhas na limpeza e na sanitização do tanque e equipamentos. Em uma produção leiteira com boas condições de higiene, a contagem de bactérias psicrotólicas

é reduzida, mas se as condições são ruins, essas podem corresponder a 75% ou mais do total da população bacteriana total como foi constatado no presente trabalho.

REFERÊNCIAS

- BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa 62. Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água, **DOU**, Brasília, DF, 26 de agosto de 2003.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 62, de 29 de dezembro de 2011. Altera Instrução Normativa nº 51, de 18 de setembro de 2002. **DO** [da] República Federativa do Brasil. Brasília, DF, 30 dez. 2011. Seção 1, nº 25, p.6-11.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001. Aprova o Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. **DO** [da] República Federativa do Brasil. Brasília, DF, 10 jan. 2001. Seção 1, nº7, p. 45-53.
- BRASIL. Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal. Aprovado pelo Decreto nº 30.691, de 29 de março de 1952, alterado pelo Decreto nº 1.255, de 25 de junho de 1962, alterado pelo Decreto nº 1.812, de 09 de fevereiro 1996. **DO**[da] República Federativa do Brasil. Brasília, DF, 08 de fevereiro de 1996. Seção 1, p.2241-43.
- BRITO, JRF et al. Adoção de boas práticas agropecuárias em propriedades leiteiras da Região Sudeste do Brasil como um passo para a produção de leite seguro. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.32, n.2, p.125-131, 2004.
- CARVALHO, MGX et al. Análise microbiológica do leite in natura e pasteurizado tipo C proveniente de uma mini-usina da cidade de Patos, Paraíba. **Rev Higien Alimentar**, São Paulo, v.18, n.123, p.62-66, 2004.
- FAUSTINO, MVS et al. Avaliação do leite in natura comercializado clandestinamente no município de Currais Novo/RN. In: **IV Congresso de Pesquisa e Inovação da rede Norte e Nordeste de Educação Tecnológica**, Belém/PA, 2009.
- FERNANDES, VG; MARICATO, E. Análises Físico-Químicas de Amostras de Leite Cru de um Laticínios em Bias -MG. **Rev. Inst. Latic. Cândido Tostes**, n.375, p.3-10, jul/ago. 2010.
- FREIRE, MF. **Análise das características físico-químicas de leite cru refrigerado entregue em uma cooperativa no estado do Rio de Janeiro no ano de 2002**. Rio de Janeiro, 2006. 33 f.
- Monografia (Especialização Higiene e Inspeção de Produtos de Origem Animal e Vigilância Sanitária) – Universidade Castelo Branco.
- MINISTÉRIO DA AGRICULTURA. **Regulamento da inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal** - RIISPOA. Disponível em: <<http://www.agais.com>>. Acesso em 19 out. 2011a.
- SILVA, N; JUNQUEIRA, VCA; SILVEIRA, NFA. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água**. 2. ed. São Paulo: Varela, 2001.
- SILVEIRA, TML et al. Publicado em **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.57, n.1, p.128-132, 2005.
- SOARES, FM; FONSECA, LM; NE- POMUCENO JÚNIOR, F. Características físico-químicas e rendimento de leite "in natura" recebido em um laticínios no interior do estado do Rio de Janeiro. In: CONGRESSO LATINO-AMERICANO DE HIGIENISTAS DE ALIMENTOS. CONGRESSO BRASILEIRO DE HIGIENISTAS DE ALIMENTOS. 2003, Belo Horizonte. **Anais...** Belo Horizonte - MG: Sociedade Brasileira de Higienistas de Alimentos, 2003. p.199.
- VILELA, D; RESENDE, JC; LEITE, JB; ALVES, E. A evolução do leite no Brasil em cinco décadas. **Rev de Política Agrícola**, ano XXVI, n.1, p.5-24, jan/fev/mar. 2017.

TALHER DE PLÁSTICO DE BATATA SUBSTITUI OS USADOS POR *FAST FOODS*.

O designer sueco Pontus Törnqvist criou um talher de plástico de batata, que se decompõe em menos de dois meses. Seu objetivo inicial era justamente combater a poluição ambiental causada pelos talheres de plástico utilizados em *fast foods*. Enquanto, em média, seu período de uso é de 20 minutos, o de sua duração na natureza chega a 450 anos.

Assim, o designer passou a fazer experimentos com algas marinhas e usava juntamente, uma pasta feita de amido de batata e água. Ao derramar acidentalmente um pouco desse fluido, notou que ele havia secado formando um filme plástico. Abandonou, então, as algas e se concentrou na fécula de batata, cuja produção é abundante na Suécia.

Para aprimorar ainda mais seu invento, Törnqvist passou um tempo nas dependências do Material Design Lab, em Copenhague, Dinamarca. Trata-se de um laboratório propício para o estudo de novos materiais. Lá, adicionou um ingrediente natural para tornar o plástico de batata ainda mais flexível. Com seu talher de plástico de batata, Törnqvist ganhou o James Dyson Award, prêmio voltado para inovações de design do mundo todo. (ABBA, dez 2018)