

ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DE LEITE COMERCIALIZADO EM UM MUNICÍPIO DO LESTE DE MINAS GERAIS

MICROBIOLOGICAL ANALYSIS OF MILK MARKETING IN THE MUNICIPALITY OF LESTE MINAS GERAIS

FERNANDA ALICE FONSECA VIANA **MARINS**¹, DENIA PATRIELY **BATISTA**¹, LAISA VENADES SALES **WERNECK**¹, PAULA RIBEIRO DE **SOUZA**², LAMARA LAGUARDIA VALENTE **ROCHA**^{3*}

1. Acadêmico do curso de graduação do curso de nutrição da Universidade UNEC- Centro universitário de Caratinga, Caratinga-MG; 2. Especialista em saúde e meio ambiente e farmacologia clínica pelo UNEC, Bacharel em farmácia e licenciada em ciências biológicas pela UNEC, Mestranda em ciências das religiões pela FUV; 3. Doutora em Biologia Celular e Estrutural pela UFV e Professora Titular do Instituto de Ciências da Saúde e do Curso de Nutrição do Centro Universitário de Caratinga

* Vila Onze,36, centro, Caratinga, Minas Gerais, Brasil. CEP: 35300-100. lamara.laguardia@gmail.com

Recebido em 23/10/2018. Aceito para publicação em 19/11/2018

RESUMO

O leite é um alimento rico em nutrientes essenciais ao crescimento e manutenção de uma vida saudável. O presente estudo trata-se de uma pesquisa exploratória, realizada por análises laboratoriais objetivando a determinação da qualidade higiênico-sanitária de uma amostra de leite *in natura* comercializada em um município do leste de Minas Gerais. As análises foram realizadas no mês de setembro de 2016. Realizou-se análise em triplicata para os diferentes testes microbiológicos no intuito de aumentar a confiabilidade dos resultados. Terminada a análise dos dados os resultados foram tabulados em uma planilha do Microsoft Excel 2010 e posteriormente representados em tabelas e gráficos. A amostra foi coletada de forma asséptica e mantida sob refrigeração, em seguida foi transportada no menor tempo possível até o Laboratório de Análise Microbiológica do Centro Universitário de Caratinga-UNEC. Foram realizados o teste da fervura, teste do álcool, determinação de coliformes totais e termotolerantes e a contagem de microrganismos mesófilos. As amostras apresentam de maneira geral boa qualidade microbiológica. Apresentando resultados negativos para coliformes termotolerantes, o que indica boas condições higiênico sanitárias do produto durante manipulação, armazenamento e transporte; além de resultados negativos nos testes de fervura e teste do álcool descartando assim o risco infecção por *Streptococcus*.

PALAVRAS-CHAVE: Leite *in natura*, análise microbiológica, coliformes.

ABSTRACT

Milk is a nutrient-rich food essential for growing and maintaining a healthy life. The present study is an exploratory study that was carried out through laboratory analyzes aiming at the determination of hygienic-sanitary quality of a sample of fresh milk marketed in a municipality in the east of Minas Gerais. The analyzes were carried out in September 2016. Triplicate was performed for the different microbiological tests in order to increase the reliability of the results. After the analysis of the data, the results were tabulated in a Microsoft Excel 2010 worksheet and later

represented in tables and graphs. The sample was collected aseptically and kept under refrigeration, then transported in the shortest possible time to the Laboratory of Microbiological Analysis of the University Center of Caratinga-UNEC. Boil test, alcohol test, determination of total and thermotolerant coliforms and counting of mesophilic microorganisms were performed. The samples generally have good microbiological quality. Presenting negative results for thermotolerant coliforms, which indicates good hygienic sanitary conditions of the product during handling, storage and transport; in addition to negative results in the alcohol boil and test, thus discarding the risk of *Streptococcus* infection.

KEYWORDS: Milk *in natura*, microbiological analysis, coliforms.

1. INTRODUÇÃO

Bersot *et al.* (2010), afirma que no Brasil, o leite *in natura* faz parte de um consumo comum, tanto por questões culturais, como sociais e também regionais. Mesmo este produto *in natura* podendo representar risco para saúde de seus consumidores, a praticidade, baixos preços, a cultura regional, além de se acreditar que o produto vindo direto do local de produção é mais saudável que os industrializados, são comumente justificados por estes fatores o consumo do leite *in natura*¹.

Segundo Melo (2013) as características qualitativas do leite disponibilizado ao ser humano para seu consumo têm despertado a preocupação e a atenção de pesquisadores, sendo este alimento de grande relevância no âmbito nutricional, socioeconômico e na saúde pública. A indústria de produtos lácteos deve ser referenciada pela qualidade e segurança dos alimentos, sendo estes aspectos imprescindíveis à saúde do consumidor².

O consumidor pode apresentar considerável agravo a sua saúde pelo consumo do leite cru, sendo o leite excelente vetor para micro-organismos patogênicos, causador de diversas enfermidades de procedência

alimentar³.

Para Winck *et al.* (2010), o leite é um produto delicado e extremamente perecível, devido aos seus aspectos físico-químicos e biológicos, ocorrendo modificações por microrganismos muito facilmente. Dessa forma, o leite e seus derivados podem levar a surtos de intoxicação e infecção alimentar, ocasionado por variedade de microrganismos que encontram meio propício para seu desenvolvimento⁴.

Cada vez mais as legislações normatizadoras de produtos lácteos e o mercado consumidor têm aumentado as exigências em se tratando da qualificação dos alimentos. Segundo as leis em vigor, a rede de produção destes derivados deve ter engajamento em alcançar e conservar protótipo de excelência em qualidade e inofensividade dos produtos, do momento de aquisição da matéria-prima até consumidor final⁵.

Irregularidade na manipulação e, sobretudo falta de zelo higiênico na hora da ordenha, tal como uso de desinfetantes inapropriados, são motivadores de alta contagem bacteriana e células somáticas no leite, completa Lacerda *et al.* (2010)⁶.

A Instrução Normativa brasileira nº 62 (IN-62), de 29 de dezembro de 2011, institui alguns pré-requisitos para o leite cru bovino, quanto sua qualidade, sendo os requisitos físicos e químicos, microbiológicos, presença de resíduos químicos e de contagem de células somáticas⁷.

Diante do exposto, o presente trabalho teve como objetivo principal analisar a qualidade microbiológica de leite comercializado em um município do Leste de Minas Gerais.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Trata-se de uma pesquisa exploratória, qualitativa que foi realizada por meio de análises laboratoriais, para a determinação da qualidade higiênico-sanitária do leite comercializado nesse município do Leste Mineiro. As análises foram realizadas no mês de setembro de 2016.

Para a seleção e coleta das amostras do leite, apenas um local foi escolhido. Observou-se predominância da venda do leite *in natura* neste ponto comercial da cidade, razão pela qual o mesmo foi selecionado para o presente estudo. A amostra foi coletada de forma asséptica e mantida de sob refrigeração em seguida foi transportada no menor tempo possível até o Laboratório de Análise Microbiológica do Centro Universitário de Caratinga-UNEC. Realizou-se análise em triplicata para os diferentes testes microbiológicos no intuito de aumentar a confiabilidade dos resultados. Terminada a análise dos dados os resultados foram tabulados em uma planilha do Microsoft Excel 2010 e posteriormente representados em tabelas e gráficos.

Durante o preparo das amostras, as embalagens foram desinfetadas com álcool 70% e abertas com tesoura. Todo material utilizado foi previamente esterilizado para evitar contaminação. As amostras foram separadas em amostra A e amostra B, onde

amostra A refere-se ao leite *in natura* e amostra B o leite após a cocção. Foram retiradas da cápsula 25 mL das amostras e colocadas em erlenmeyer contendo 225 mL de água peptonada 0,1% estéril (diluuição 10–1). A partir desta foram feitas sucessivas diluições decimais, tantas quanto necessárias, conforme descrito no Standard Methods for the Examination of Dairy Products –APHA⁸.

Na realização do teste da fervura, fez-se transferência de 5 mL para um tubo de ensaio da amostra do leite *in natura*, esperou-se a fervura até ebulição do produto. Após ebulição, observou-se se houve ou não coagulação (leite alterado ou normal).

Já no Teste do Álcool, foi realizado a transferência de 5 mL do leite *in natura* para tubo de ensaio, após foi acrescentado 5 mL de álcool 70%. Após a mistura observou-se se houve ou não coagulação e se apresentou formação de grumos nas paredes do tubo.

Para a Determinação de coliformes totais e termotolerantes partindo-se da diluição 10⁻³, foram transferidos 1 mL para tubos contendo caldo lactosado (CL) que continham tubos de Dühran invertidos. Após incubação a 35° C durante 48h, dos tubos positivos, que apresentaram produção de gás e turvação, foi transferida uma alçada para dois tubos, um contendo caldo lactosado biliado verde brilhante (CLBVB), incubado a 35° C durante 48h, para verificar a presença de coliformes totais e outro contendo caldo EC, incubado em banho-maria a 44,5° C durante 24h para detectar a *E. coli*.

Para realizar a contagem de microrganismos mesófilos, os microrganismos foram submetidos a contagem em Ágar Nutriente. Selecionou-se a diluição 10⁻³ da amostra e inoculou 0,1 mL em placas de petri estéreis. Misturou o inóculo ao meio de cultura com ajuda da alça. As placas foram incubadas a 35 °C por 48 horas. Os resultados foram expressos em Unidade Formadora de Colônias por mL de leite. (UFC.mL–1).

3. RESULTADOS

A amostra de leite *in natura* não apresentava alterações em suas propriedades organolépticas, assim foi analisada sob duas condições: *in natura* e após a cocção.

No teste da Fervura a amostra do leite *in natura* não coagulou, demonstrando ser de boa qualidade. O teste da fervura baseia-se no fato de que o aquecimento reduz o pH.

Para identificação de animais portadores de infecções por *Streptococcus* sem manifestações clínicas, é indicado o teste do álcool, a infecção leva à coagulação do leite. A amostra não coagulou o que nos permite constatar que o animal não apresenta quadro de infecção por *Streptococcus*.

Através do teste presuntivo, para verificação de coliformes totais, pudemos observar no primeiro teste (CL), para os três tubos de 10; 1 e 0,1ml da amostra A (leite *in natura*), um resultado positivo para todos os tubos. Diante o resultado do teste presuntivo, foi realizado um teste confirmativo para coliformes Totais

(CLBVB), com um resultado positivo para todos os tubos. Resultado este caracterizado pela presença de turvação e presença de gás nos tubos invertidos de Duhran. Tabela 1:

Tabela 1. Teste presuntivo e confirmativo para coliformes totais para amostra A de Leite.

Amostra A	CL	CLBVB
10	+	+
10	+	+
10	+	+
1	+	+
1	+	+
1	+	+
0,1	+	+
0,1	+	+
0,1	+	+

+ (presença); - (ausência)

A amostra B, leite após cocção. Foram também utilizados tubos com diferentes diluições (10; 1 e 0,1ml) tendo uma variação em seu resultado entre positivos e negativos. Considerando os resultados do teste presuntivo Confirmativo sobre coliformes totais (verde brilhante), foi realizado apenas com os tubos de resultados positivos do teste com CL. Como mostra tabela 2:

Tabela 2. Teste presuntivo e confirmativo para coliformes totais para amostra B de leite.

Amostra B	CL	CLBVB
10	+	+
10	+	-
10	-	-
1	-	-
1	-	-
1	-	-
0,1	+	+
0,1	+	+
0,1	-	-

+ (presença); - (ausência)

Após a constatação da presença de coliformes totais na amostra de leite, foi realizado teste presuntivo para os termotolerantes (EC), também chamado coliformes fecais. Resultado negativo em todos os tubos. Tubos sem turvação e/ou formação de gás.

Para a amostra B (Leite após cocção) foram realizados testes confirmativos para coliformes termotolerante dos tubos, que deram positivos para teste presuntivo com CL. Sendo dois de 10 ml, e dois de 0,1 ml com resultados negativos.

O resultado final do teste confirmativo termotolerantes (EC), foi negativo para todos os tubos usados, o que se conclui com a ausência de turvação e formação de gases dentro destes tubos. Sendo

assegurada a ausência de microrganismos coliformes fecais, principais indicadores de contaminação de alimentos. Por motivo de não haver resultado positivo, não houve necessidade do teste confirmativo para coliformes fecais.

Observe tabela 3, com dados sobre a contagem de Microrganismos mesófilos.

Tabela 3. Contagem de microrganismos mesófilos em Ágar Nutriente.

ID	UFCx10 ⁻⁴ por g/produto	Diversidade	Gram
A	Incontáveis	Bactérias e Leveduras	Bacilos (Gram Negativo)
B	Incontáveis	Leveduras	

ID: identificação das amostras.

4. DISCUSSÃO

Alguns autores como Galvão Júnior (2010)⁹ e Rangel (2009)¹⁰, definem a “qualidade do leite” como um termo que abrange não somente propriedades nutricionais do produto, mas também a qualidade da produção, segundo a sanidade no momento da ordenha, refrigeração, conservação do leite em temperatura adequada de 4°C, e métodos que assegurem sua aquisição.

Considerando assim a análise microbiológica de extrema importância para a identificação de possíveis alterações e contaminação.

No presente momento, sugere-se que alimentos com elevada contagem de Coliformes totais são inadequados ao consumo humano, devido redução do valor nutricional, das modificações nas características do produto e risco de contágio por microrganismos patogênicos¹¹.

A sinalização de contaminação fecal direta ou indireta é indicada pela presença de *Escherichia coli*, bactéria natural do agrupamento dos coliformes termotolerantes, a confirmação da presença do mesmo no leite, aponta falhas de higienização durante aquisição e manipulação da matéria prima^{12, 13}.

Em 2014, Silveira e Bertagnoli¹⁴ realizaram a avaliação qualitativa do leite *in natura* comercializado em feiras livres do município de Santa Maria-RS de modo informal; foi confirmada a presença de coliformes termotolerantes, em todas as amostras de leite *in natura*. Em outro estudo promovido em 2016 por Melo (2016)¹⁵, foi avaliado as propriedades do leite *in natura* que é usado na produção dos derivados lácteos em um laticínio na região de Curimatá Paraibano; Em todas as amostras do leite usado na produção destes produtos, constatou-se estar inteiramente dentro dos critérios fixados pela IN 62, que trata da regulamentação dos padrões de individualidade e qualidade do leite cru refrigerado.

Assim, damos destaque a esses estudos pela extrema importância a segurança da saúde do consumidor, sendo que a existência dessa bactéria no organismo do ser humano pode causar sintomatologias, como: cólica, desarranjo intestinal, hipertermia, calafrios e possivelmente diarreia sanguinolenta¹⁶.

5. CONCLUSÃO

Baseando-se nos resultados obtidos pelos testes realizados, é possível concluir que as amostras de leite comercializadas nesta cidade do leste de Minas Gerais, apresentam de maneira geral boa qualidade microbiológica. Apresentando resultados negativos para coliformes termotolerantes, o que indica boas condições higiênicas sanitárias do produto durante manipulação, armazenamento e transporte; além de resultados negativos nos testes de fervura e teste do álcool descartando assim o risco infecção dos animais por *Streptococcus*.

Contudo, sugere-se que cada vez mais, haja uma melhora nas boas práticas de produção, manuseio e armazenamento do alimento, além de uma legislação e fiscalização mais efetiva a fim de assegurar a qualidade do produto e minimizar os riscos à saúde dos consumidores.

AGRADECIMENTOS ou FINANCIAMENTO

Agradecemos a instituição UNEC- Centro Universitário de Caratinga, pela viabilização da realização da parte laboratorial desse estudo.

REFERÊNCIAS

- [1] Bersot LS, Dauguer H, Maziero MT, Pinto JPAN, Barcellos VC, Galvão JA. Raw milk trade: Profile of the consumers and microbiological and physicochemical characterization of the product in Palotina-PR region. Revista do instituto de laticínios Cândido Tostes, Juiz de Fora. 2010; 65(373).
- [2] Melo CWB. Avaliação da gestão da qualidade na empresa viva mais indústria e comércio de laticínios Ltda. Universidade federal da Paraíba, Bananeiras – PB, 2013.
- [3] Claes, W. L., Cardoen, S., Daube, G., Block, J., Dewettinck, K., Dierick, K., Zutter, L., Huyghebaert, A., Imberechts, H., Thiange, P., Herman, L. Raw or heated cow milk consumption: Review of risks and benefits. Food Control. 2013; 31.
- [4] Winck CA, *et al.* Padrões de qualidade do leite cru no Brasil: inserção mercadológica internacional ou exclusão social. In: VLLL Congresso latinoamericano de sociologia rural, porto de galinhas, anais. Porto de galinhas. 2010.
- [5] Brito MAVP. Resíduos de antibióticos no leite: um problema que tem solução. Juiz de Fora: Embrapa. 2006.
- [6] Lacerda LM, Mota RA, Sena MJ. De. Contagem de células somáticas, composição e contagem bacteriana total do leite de propriedades leiteiras nos municípios de Miranda do norte, Itapecurú-Mirin e Santa Rita, Maranhão. Arquivos do instituto de biologia. 2010.
- [7] Brasil. Instrução Normativa nº 62 de 29 de dezembro de 2011. Aprova o 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. Diário Oficial da União, Brasília. 2011.
- [8] APHA - American Public Health Association. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. Speck ML, ed. 2a ed. Washington DC, USA. 1984.
- [9] Galvão Júnior JGB, Rangel AHN, Medeiros HR, *et al.* Efeito da produção diária e da ordem de parto na composição físico-química do leite de vacas de raças zebuínas. Acta Veterinária Brasilica. 2010; 4(1).
- [10] Rangel AHN, Medeiros HR, Silva JB, *et al.* Correlação entre a contagem de células somáticas (CCS) e o teor de gordura, proteína, lactose e extrato seco desengordurado do leite. Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável. 2009; 4(3).
- [11] Alves JÁ, *et al.* Qualidade de produto minimamente processado à base de abóbora, cenoura, chuchu e mandioquinha-salsa. Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas. 2010; 30(3).
- [12] Benigno APA, Rocha AVP, Liberato MCTC, Cunha FA. Isolamento e identificação de cepas de *Escherichia coli* de leite pasteurizado tipo B e C comercializados em Fortaleza-CE. 2009.
- [13] Maciel JF, Carvalho EA, Santos LS, Araujo JB, Nunes VS. Qualidade microbiológica de leite cru comercializado em Itapetinga-BA. Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal. 2008.
- [14] Silveira ML, Bertagnolli MM. Avaliação da qualidade do leite cru comercializado informalmente em feiras livres no município de Santa Maria-RS. Revista Visa em Debate [online], [Acesso 13 Out. 2018] Disponível em: <https://www.researchgate.net>. 2014; 2,(2).
- [15] Melo CWB, Macedo GS, Barbosa FR. Avaliação da qualidade do leite *in natura* utilizado no processo produtivo de um laticínio na região do Curimataú Paraibano, XXV Congresso Brasileiro de ciência e tecnologia de alimentos, Curimataú Paraibano. 2016.
- [16] Barbosa DA, Lage MM, Badaró ACL. Qualidade microbiológica da água dos bebedouros de um Campus universitário de Ipatinga, Minas Gerais. NUTRIR GERAIS – Revista Digital de Nutrição, Ipatinga. 2009; 3(5). [Acesso 14 de Out. 2017] Disponível em <https://www.unileste.edu.br/>