

Avaliação da qualidade microbiológica e dos parâmetros enzimáticos da pasteurização de leite tipo “C” produzido na região norte do Paraná

Microbiological quality evaluation and pasteurization enzymatic parameters in type “C” milk produced in the north of Paraná state, Brazil

Ronaldo Tamanini¹; Livia Cavaletti C. da Silva¹; Alexandre Amorim Monteiro¹; Douglas Furtado Magnani²; Márcia de Aguiar F. Barros³; Vanerli Beloti^{4*}

Resumo

O presente trabalho teve como objetivo avaliar a qualidade microbiológica e parâmetros enzimáticos da pasteurização de 80 amostras de leites pasteurizados tipo C produzidos na região norte do Paraná no período de janeiro de 2004 a dezembro de 2005. Os resultados obtidos foram comparados com os padrões estabelecidos no Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA). As análises microbiológicas realizadas foram: contagem de aeróbios mesófilos, determinação do número mais provável de coliformes totais e coliformes termotolerantes. A avaliação da pasteurização foi realizada a partir da pesquisa das enzimas peroxidase e fosfatase alcalina. As amostras em desacordo com os padrões estabelecidos foram: 3,7% para aeróbios mesófilos, 30,0% para coliformes totais e 14,0% para coliformes termotolerantes. Ainda 16,2% das amostras apresentavam peroxidase negativa, indicando superaquecimento, o que pode causar prejuízos à composição do leite. Com os resultados obtidos podemos concluir que a qualidade microbiológica de parte das amostras foi insatisfatória.

Palavras chaves: Qualidade leite, avaliação microbiológica, pasteurização

Abstract

The aim of this study was to evaluate the microbiological quality and pasteurization enzymatic parameters in 80 samples of pasteurized milk produced in the north of Paraná state - Brazil from January, 2004 to December, 2005. The obtained results were compared with legislation established in the Regulation of Industry and Sanitary Federal Inspection of Food of Animal Origin. The microbiological analyses were mesophilic aerobes enumeration, most probable number (MPN) of total coliforms and thermotolerant coliforms. Peroxidase and alkaline phosphatase enzymes were used to evaluate the pasteurization process. Samples disagreeing with the standards were 3,7% to mesophilic aerobes, 30,0% to total coliforms and 14,0% to thermotolerant coliforms. Furthermore, in 16,2% of the samples the peroxidase was not present, indicating overheating, what may affect negatively milk composition. According to the results it could be verified that the microbiological quality of some samples were unsatisfactory.

Keywords: Milk quality, microbiological evaluation, pasteurization

¹ Programa de Pós Graduação em Ciência Animal (Sanidade Animal) da Universidade Estadual de Londrina, Londrina PR.

² Médico Veterinário Residente do Laboratório de Inspeção de Produtos de Origem Animal, DMVP, CCA, UEL, Londrina PR.

³ Médica Veterinária, responsável pelo Laboratório de Inspeção de Produtos de Origem Animal, DMVP, CCA, UEL, Londrina PR.

⁴ Docente do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, UEL, Londrina PR. Laboratório de Inspeção de Produtos de Origem Animal, Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, Universidade Estadual de Londrina. Londrina, Brasil. E-mail: neli@sercomtel.com.br; lipoa.uel@gmail.com

* Autor para correspondência

Introdução

O leite é definido como o produto oriundo da ordenha completa e ininterrupta, em condições de higiene, de vacas sadias, bem alimentadas e descansadas (BRASIL, 2002). Do ponto de vista nutricional, o leite é considerado um dos alimentos mais completos, por apresentar em sua composição alto teor de proteínas, vitaminas, sais minerais, além de ser importante fonte de cálcio, sendo amplamente comercializado e consumido pela população, e recomendado especialmente para crianças e idosos. Devido a sua composição, constitui um excelente meio de cultura para multiplicação de microrganismos (FRANCO; LANGRAF, 1996), podendo ter importante participação na veiculação das DTA (Doenças Transmitidas por Alimentos), quando consumido sem tratamento térmico adequado (BOOR, 1997). Diversos microrganismos patogênicos podem ser veiculados pelo leite, destacando-se *Mycobacterium tuberculosis*, *Brucella* spp., *Listeria monocytogenes*, *Campylobacter* spp., *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* (RIEDEL, 1992; ROBINSON, 1990). Além dos patogênicos, os microrganismos deteriorantes presentes no leite podem causar alterações químicas, tais como a degradação de gorduras, de proteínas e de carboidratos, tornando-o impróprio para o consumo e industrialização (COUSIN, 1982).

O controle microbiológico em amostras de leite é realizado, principalmente, através da pesquisa de microrganismos 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 de prateleira do produto. Os principais grupos de microrganismos indicadores de qualidade do leite são os aeróbios mesófilos (AM) e os coliformes (FRANCO; LANGRAF, 1996).

Microrganismos AM são todos aqueles capazes de crescer em temperaturas de 35-37° C em condições de aerobiose. Esses microrganismos

indicam a qualidade com que o alimento foi obtido ou processado, e sua presença em altas contagens é indicativa de procedimento higiênico inadequado na produção, no beneficiamento ou na conservação, dependendo da origem da amostra. Também deve-se considerar que todas as bactérias patogênicas de origem alimentar são mesófilas, e portanto, uma alta contagem de AM pode significar que houve condições para o crescimento de patógenos (FRANCO; LANGRAF, 1996).

O grupo dos coliformes totais (CT), ou coliformes a 30° C, são microrganismos pertencentes à família *Enterobacteriaceae* representados pelos gêneros *Escherichia*, *Enterobacter*, *Citrobacter* e *Klebsiella*, que apresentam a capacidade de fermentar lactose produzindo ácido e gás quando incubadas a 35-37° C (FRANCO; LANGRAF, 1996). Estes microrganismos indicam o nível de contaminação ambiental que o alimento agregou. São sensíveis à temperatura de pasteurização e sua presença em produtos tratados termicamente indica contaminação após processo.

Coliformes termotolerantes (CTT) ou coliformes a 45° C, correspondem aos coliformes totais que continuam fermentando a lactose com produção de gás quando incubados a 45° C. A presença de CTT indica uma possível contaminação de origem fecal, assim como eventual ocorrência de enteropatógenos (FRANCO; LANGRAF, 1996).

A pasteurização rápida é um tratamento térmico aplicado ao leite que consiste no aquecimento à temperatura de 72 a 75° C durante 15 a 20 segundos, com objetivo de eliminar os microrganismos patogênicos que possam contaminar o leite, tornando-o um produto inócuo ao consumo humano. Para prolongar seu tempo de prateleira, realiza-se resfriamento imediato em equipamento de placas até temperatura igual ou inferior a 4° C (BRASIL, 2002). A pasteurização é o ponto crítico quando se fala em APPCC (Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle), uma vez que não há nenhum tratamento posterior que elimine os perigos microbiológicos incorporados.

Para verificar se o tempo e temperatura utilizados na pasteurização foram eficientes, são pesquisadas duas enzimas: fosfatase alcalina e peroxidase. A fosfatase alcalina é sensível à pasteurização, e sua presença no produto final indica que o processo de pasteurização não foi eficiente. A peroxidase não é inativada pela pasteurização, mas é destruída em temperaturas superiores a 80° C sendo, portanto, utilizada para verificar se ocorreu o superaquecimento durante o tratamento térmico (PRATA, 2001).

A qualidade do leite pasteurizado tipo C tem sido estudada em várias regiões do Brasil, e diversos autores relatam que entre 15,0 e 53,0% das amostras possuem alterações microbiológicas (FREITAS et al., 2002; GARRIDO et al., 2001; MARQUES; COELHO JÚNIOR; SOARES, 2005).

O presente trabalho teve como objetivo avaliar em leites produzidos na região norte do Paraná a qualidade microbiológica e os parâmetros enzimáticos que indicam se a pasteurização foi realizada dentro dos limites de temperatura mínimos e máximos adequados. Busca-se assim, gerar dados que permitam acompanhar a evolução da qualidade do leite pasteurizado no país.

Material e Métodos

Foram utilizadas neste estudo, 80 amostras de leite pasteurizado tipo C encaminhadas ao Laboratório de Inspeção de Produtos de Origem Animal (LIPOA) da Universidade Estadual de Londrina (UEL), no período de janeiro de 2004 a dezembro de 2005, imediatamente anterior à implantação da Instrução Normativa 51. As amostras provenientes de 12 laticínios da região norte do Paraná foram enviadas em suas embalagens originais, em recipiente isotérmico. As análises microbiológicas realizadas foram: contagem de aeróbios mesófilos, determinação do número mais provável (NMP) de coliformes totais e coliformes termotolerantes (BRASIL, 1993). Avaliou-se a

pasteurização a partir da pesquisa das enzimas peroxidase e a fosfatase alcalina (BRASIL, 2003).

Os resultados foram confrontados com os padrões vigentes na época da realização das análises, estabelecidos para o leite pasteurizado tipo C no Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA), aprovado pelo Decreto nº 30.691, de 29-03-1952 e alterado pela última vez pelo Decreto nº 2.244 de 04-06-1997 (Quadro 1).

Análises realizadas	Padrão
Fosfatase	Ausência
Peroxidase	Presença
Aeróbios Mesófilos	até 150.000 UFC/mL
Coliformes Totais	até 5 NMP/mL
Coliformes Termotolerantes	Ausência/mL

Quadro 1. Padrões estabelecidos para o leite pasteurizado tipo C no RIISPOA (BRASIL, 1997).

Resultados e Discussão

Os resultados das contagens de AM estão demonstrados na tabela 1. Pode-se observar que 3 (3,7%) amostras apresentaram contagens superiores a 150.000 UFC/mL de AM. Este resultado foi similar ao relatado por Mendes et al. (2005) que em Alfenas-MG encontraram 3,3% acima do limite tolerável. No entanto, autores relatam resultados variáveis. Leite Júnior, Torrano e Gelli (2000) em João Pessoa-PB não observaram nenhuma amostra fora do padrão. Por outro lado Carvalho et al. (2004) em Patos-PB, obtiveram índice de 83,3% de leite tipo C com contagens elevadas de AM. Já Zooche et al. (2002) que pesquisaram amostras de leite pasteurizado produzidos na região oeste do Paraná encontraram 6,3 % com contagens acima da estabelecida pela legislação para o mesmo grupo de microrganismos.

Tabela 1. Faixas de contagens de microrganismos aeróbios mesófilos (UFC/mL) em 80 amostras de leite pasteurizado Tipo C, produzidos na região norte do Paraná entre janeiro de 2004 e dezembro de 2005.

Faixa de Contagem em UFC/mL	Número de amostras	%
[5; 100)	7	8,8
[100; 1.000)	15	18,8
[1.000; 10.000)	41	51,3
[10.000; 100.000)	13	16,2
[100.000; 150.000)	1	1,2
[150.000; 459.000]	3	3,7
Total	80	100,0

Em relação aos CT as contagens (Tabela 2) variaram de < 0,3 a 1100 NMP/mL, sendo que 24 (30,0%) amostras apresentaram resultados acima do limite tolerável pela legislação. Resultado semelhante foi obtido por Freitas et al. (2002) que pesquisaram em Belém-PA 51 amostras de leite pasteurizado tipo C, encontraram 32,3 % acima do limite estabelecido. Catão e Ceballos (2001) na Paraíba observaram 50,0% das amostras acima do permitido. Por outro lado, os resultados de Carvalho et al. (2004) demonstraram apenas 10,0% de amostras fora do padrão.

Tabela 2. Faixas de contagens de coliformes totais (NMP/mL) em 80 amostras de leite pasteurizado Tipo C, produzidos na região norte do Paraná entre janeiro de 2004 e dezembro de 2005.

Faixa de Contagem	Nº	%
≤ 0,3	49	61,3
0,3 5	7	8,7
> 5	24	30,0
Total	80	100,0

Quanto aos CTT, as contagens (Tabela 3) variaram de < 0,3 a 460 NMP/mL, sendo que 14 (17,5%) amostras apresentavam esses microrganismos. Este resultado difere dos relatados por Freitas et al. (2002) e Zocche et al (2002) que não encontraram nenhuma amostra em desacordo

com o estabelecido. Catão e Ceballos. (2001) que pesquisaram 30 amostras de leite pasteurizado tipo C, sendo 19 (63,3%) amostras acima do limite tolerável.

Tabela 3. Faixas de contagens de coliformes termotolerantes (NMP/mL) em 80 amostras de leite pasteurizado Tipo C, produzidos na região norte do Paraná entre janeiro de 2004 e dezembro de 2005.

Faixa de Contagem	Nº	%
≤ 0,3	66	82,5
> 0,3	14	17,5
Total	80	100,0

Com relação à presença das enzimas fosfatase e peroxidase, verificamos que a fosfatase alcalina estava ausente em todas as amostras, indicando que todas atingiram a temperatura de pasteurização, resultado idêntico encontrado por Zocche et al. (2002) avaliando 16 amostras. A peroxidase estava ausente em 13 (16,2%) amostras, indicando superaquecimento. Serafim, Moro e Sturmer (2001) em Cruz Alta-RS avaliando 38 amostras, encontraram 7,8% com ausência da peroxidase e Zocche et al. (2002) não encontram esta enzima em 50,0% das amostras. O superaquecimento altera a composição do leite e é utilizado quando a matéria prima é ruim, sendo um recurso para garantir a

durabilidade e parâmetros microbiológicos até a data de validade. Com relação aos resultados das análises microbiológicas das amostras com peroxidase negativa, as contagens de aeróbios mesófilos variaram de 5 a 11.000 UFC/mL, valor que poderia ser bem maior se a temperatura de pasteurização tivesse sido respeitada, 4 amostras excederam o padrão para coliformes totais e 3 para coliformes termotolerantes, indicando recontaminação pós-pasteurização.

A frequência de amostras de leite pasteurizado em desacordo com os padrões estabelecidos pela legislação (BRASIL, 1997) quanto às análises microbiológicas e eficiência da pasteurização está na tabela 4. Verificou-se que 38 (47,5 %) amostras pertencentes a 11 laticínios, apresentaram pelo menos uma análise fora do padrão estabelecido.

Tabela 4. Frequência de amostras de leite pasteurizado tipo C produzidos na região norte do Paraná entre janeiro de 2004 e dezembro de 2005 fora dos padrões determinados pela legislação (BRASIL, 1997).

Análises realizadas		
Fosfatase	0	0
Peroxidase	13	16,2
Aeróbios Mesófilos	3	3,7
Coliformes Totais	24	30,0
Coliformes Termotolerantes	14	17,5

Como todas as amostras atingiram a temperatura de pasteurização, a presença de coliformes, microrganismos bastante sensíveis à temperatura, indica provável recontaminação pós-pasteurização. Essa recontaminação pode ser atribuída à deficiência na limpeza e sanificação de equipamento ou à qualidade da água utilizada nos procedimentos de limpeza e enxágüe. As falhas nos procedimentos de higienização permitem que os resíduos aderidos aos equipamentos e superfícies se transformem em potencial fonte de contaminação (ZOTTOLA, 1994). Esses resíduos constituem fontes de energia para que microrganismos possam se multiplicar. A evolução deste processo forma uma massa composta por resíduos, microrganismos e seus produtos extracelulares que recebe o nome de biofilme (SILVA JÚNIOR, 2002). No biofilme os microrganismos se tornam mais resistentes à ação de agentes químicos e físicos usados nos procedimentos de higienização, tornando difícil sua eliminação (PARIZI, 1998).

Conclusões

A qualidade microbiológica do leite pasteurizado Tipo C produzido na região norte do Paraná não foi satisfatória, pois um número elevado de amostras não atendeu aos padrões estabelecidos pela legislação.

O grupo dos coliformes totais foi o grupo de microrganismos encontrado com maior frequência em desacordo com a legislação e indicam contaminação pós-pasteurização.

Coliformes termotolerantes no leite pasteurizado podem indicar a presença de enteropatógenos no leite.

Todas as amostras foram pasteurizadas e algumas superaquecidas.

Estes resultados sugerem a necessidade de maior rigor com relação à limpeza e sanificação de tubulações e equipamentos que entram em contato com o leite após a pasteurização, para que se possa ter um produto final inócuo para o consumidor.

Referências

- BOOR, K. J. Pathogenic microorganisms of concern to the dairy industry. *Dairy, Food and Environmental Sanitation*, Ames, v.17, n.11, p.714-717, 1997.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Decreto n.30.691, de 29 de maio 1952 e alterado pela ultima vez pelo Decreto n.2.244 de 4de junho de 1997. Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA). *Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil*, Brasília, 5 jun. 1997. Seção 1, p.11555.
- _____. Instrução Normativa n.51 de 18 de setembro de 2002. Regulamento Técnico de Produção, Identidade e Qualidade de Leite Tipo A, Tipo B, Tipo C e Cru refrigerado. *Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil*, Brasília, 29 set. 2002. Seção 1, p.13.
- _____. Instrução Normativa n.22 de 14 de abril de 2003. Oficializa os Métodos Analíticos Oficiais Físico-Químicos, para Controle de Leite e Produtos Lácteos. *Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil*, Brasília, 2 maio 2003. Seção 1, p.3.
- _____. Portaria n.101 de 11 de agosto de 1993. Aprova e oficializa os métodos analíticos para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes - métodos microbiológicos. *Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil*, Brasília, 17 ago.1993. Seção 1, p.11937.
- 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-usina da cidade de Patos, Paraíba. *Revista Higiene Alimentar*, São Paulo, v.18, n.123, p.62-66, 2004.
- CATÃO, R. M. R.; CEBALLOS, B. S. O. *Listeria spp.*, Coliformes totais e fecais e *E. coli* no leite cru e pasteurizado de uma industria de laticínios, no estado da Paraíba (Brasil). *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, v.21, n.3, p.281-287, set./dez. 2001.
- COUSIN, M. A. Presence and activity psychotrophic microorganisms in milk and dairy products. *Journal of Food Protection*, Des Moines, v.45, p.172-207, 1982.
- FRANCO, B. D. G. M.; LANGRAF, M. *Microbiologia dos alimentos*. São Paulo: Atheneu, 1996.
- FREITAS, J. A.; OLIVEIRA, J. P.; SUMBO, F. D.; CARVALHO, R. C. F.; AMORIM JÚNIOR, B.; MORAES, R. J.; MARINHO, R.; SARRAF, K. A. Características físico-químicas e microbiológicas do leite fluido exposto ao consumo na cidade de Belém, Pará. *Revista Higiene Alimentar*, São Paulo, v.16, n.100, p.89-96, 2002.
- GARRIDO, N. S.; MORAIS, J. M. T.; BRIGANTI, R. C.; OLIVEIRA, M. A.; BERGAMINI, A. M. M.; OLIVEIRA, S. A. V.; FÁVARO, R. M. D. Avaliação da qualidade físico-química e microbiológica do leite pasteurizado proveniente de mini e micro-usinas de beneficiamento da região de Ribeirão Preto/SP. *Revista do Instituto Adolfo Lutz*, São Paulo, v.60, n.2, p.141-146, 2001.
- LEITE JÚNIOR, A. F.; TORRANO, A. R. D. M.; GELLI, D. S. Qualidade microbiológica do leite tipo "C" pasteurizado, comercializado em João Pessoa, Paraíba. *Revista Higiene Alimentar*, São Paulo, v.14, n.74, p.45-49, 2000.
- MARQUES, M. S.; COELHO JÚNIOR, L. B.; SOARES, P. C. Avaliação da qualidade microbiológica do leite pasteurizado tipo C processado no estado de Goiás. In: CONGRESSOS LATINO-AMERICANO, 2., 2005, Rio de Janeiro. *Anais...* São Paulo: Higiene Alimentar, 2005. p.
- MENDES, J. B.; TAHAN, F.; OLIVEIRA, F. L. R.; BUENO, J. M.; MONTEIRO, M. R. P. Avaliação da qualidade microbiológica do leite pasteurizado tipo "C" comercializado na cidade de Alfenas, MG. *Revista Higiene Alimentar*, São Paulo, v.19, n.135, p.64-67, 2005.
- PARIZZI, S. Q. F., *Adesão bacteriana em superfície de serviços de alimentação hospitalar avaliada pela microscopia de epifluorescência*. 1998. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.
- PRATA, L. F. *Fundamentos de ciência do leite*. Jaboticabal: FUNEP/UNESP, 2001.
- RIEDEL, G. *Controle sanitário de alimentos*. 2.ed. São Paulo: Atheneu, 1992.
- ROBINSON, R. Q. *Dairy microbiology: the microbiology of milk*. New York: Elsevier Applied Science, 1990. v.1.
- SERAFIM, T.; MORO, E. M. P.; STURMER, F. C. R. Análise e controle microbiológico do leite tipo "C" distribuídos em Cruz Alta - RS, Brasil. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA, 21., 2001, Foz do Iguaçu. *Resumos...* Rio de Janeiro: Armazém das Letras, 2001. p.383.
- SILVA JÚNIOR., E. A. B. Biofiles. In: _____. *Manual de controle higiênico sanitário em alimentos*. 5. ed. São Paulo: Livraria Varela, 2002. p.170.
- 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.
- ZOTTOLA, E. A., Microbial attachment and biofilm formation: a new problem for the food industry? *Food Technology*, Chicago, v.48, n.7, p.107-114, 1994.