

# Avaliação da qualidade sanitária de leite integral informal, pasteurizado, UHT e em pó comercializados na cidade de Medianeira e Serranópolis do Iguaçu – Paraná

## Evaluation of the sanitary quality of integral milk in nature, pasteurized, UHT and powder commercialized in Medianeira and Serranópolis do Iguaçu – Paraná

Tânia Aparecida Becker<sup>1</sup>; Isis Franco Negrelo<sup>1</sup>;  
Franciele Racoulte<sup>1</sup>; Deisy Alessandra Drunkler<sup>2\*</sup>

### Resumo

O leite é um dos principais componentes da dieta humana e a garantia da sua qualidade é questão de saúde pública. O objetivo deste trabalho foi avaliar as condições higiênico-sanitárias dos principais tipos de leite comercializados em Medianeira e Serranópolis do Iguaçu – Paraná. Foram analisadas vinte amostras de leite integral, sendo seis de leite informal, cinco de leite pasteurizado homogeneizado, cinco de leite UHT e quatro de leite em pó. A detecção de Aflatoxina M1 consistiu na extração e purificação através de colunas de imunoafinidade (*Aflatest-P*<sup>®</sup> e *Aflatest-M1*<sup>®</sup>) seguida de detecção por fluorimetria; para análise de antibiótico foi utilizado *kits Delvotest®-SP-NT test*; para a determinação de matérias estranhas foi empregado o método de filtração direta. Todas as metodologias encontram-se descritas na AOAC (2000). Apesar de se ter detectado aflatoxina M1 em três amostras acima do limite de detecção do método, os resultados obtidos encontraram-se dentro do padrão estabelecido pela legislação. Os leites analisados não apresentaram resultado positivo para antibióticos e nenhum tipo de matéria estranha. Deste modo, todas as amostras apresentaram qualidade higiênica sanitária satisfatória dentro dos parâmetros avaliados.

**Palavras-chave:** Aflatoxina, antibiótico, microscopia.

### Abstract

Milk is one of the main components of human diet and the guarantee of its quality is public health question. The aim of this work was to evaluate the hygienic sanitary conditions of the principal commercialized types of milk in Medianeira and Serranópolis do Iguaçu – Paraná. Twenty integral milk samples were analyzed, being six in nature, five of homogenized pasteurized, five of UHT and four of milk powder. Detection of the aflatoxin M1 consisted in the extraction and purification through an immunoaffinity column (*Aflatest-P*<sup>®</sup> and *Aflatest-M1*<sup>®</sup>) with subsequent detection fluorimetric. In the antibiotic analyses were used *Delvotest®-P-multi test kits*. The determination of foreign matter followed method of direct filtration. All the methodologies were proposal in the AOAC (2000). Although have been detected Aflatoxin M1 in three samples above lower limit detection of method, the results showed not to exceed the legal limits. Analyzed milk had not presented resulted positive for antibiotics and no foreign matter. In this way, all the samples had presented satisfactory sanitary hygienical quality.

**Key words:** Aflatoxin, antibiotic, microscopy

<sup>1</sup> Tecnólogas em Alimentos, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus de Medianeira, Medianeira-PR. E-mail: tania\_a\_becker@hotmail.com, isisnf@hotmail.com, franracolte@yahoo.com.br

<sup>2</sup> Docente, Dr<sup>a</sup> em Tecnologia em Alimentos, Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UFPR, Campus de Medianeira-PR. E-mail: deisydrunkler@utfpr.edu.br; deisy\_drunkler@yahoo.com.br

\* Autor para correspondência

## Introdução

Entende-se por leite, sem outra especificação, o produto oriundo da ordenha completa e ininterrupta, em condições de higiene, de vacas sadias, bem alimentadas e descansadas (BRASIL, 2002a). O Brasil ocupa a sexta posição em termos de produção leiteira e o vigésimo primeiro lugar em relação à produtividade. Dentre os estados, em termos de produção, o Paraná ocupa o terceiro lugar; a região oeste destaca-se nacionalmente como a sexta mesorregião produtora de leite e a quarta em relação à produtividade (ZOCCAL, 2009).

Aliado a produção e produtividade, deve estar à preocupação com a qualidade do leite, que pode ser definida como a somatória de vários atributos, entre os quais a estabilidade físico – química e microbiológica, o elevado nível higiênico e a inocuidade sanitária (BRASIL, 2002a), já que exerce importante influência nos hábitos de consumo e na produção de derivados (VIEIRA; KANEYOSHI; FREITAS, 2005).

Sendo assim, o Ministério da Agricultura preocupou-se em criar mecanismos legais para obtenção de leite com qualidade higiênico-sanitária satisfatória, com a criação do Programa Nacional de Melhoria da Qualidade do Leite (PNMQL) resultando na implantação da Instrução Normativa 51, de 18 de setembro de 2002 (NERO et al., 2005), que em conjunto com a Agência Nacional de Vigilância Sanitária, através da implantação do Plano Nacional de Controle de Resíduos em Produtos de Origem Animal (PNCR), do Programa Nacional de Controle de Resíduos de Medicamentos Veterinários em Alimentos Expostos ao Consumo (PAMVet) e do Regulamento Técnico Sobre Limites Máximos de Aflatoxinas Admissíveis no Leite, no Amendoim e no Milho (SPISSO; NÓBREGA; MARQUES, 2009), ampliaram o número de análises realizadas no leite e derivados lácteos, sugerindo não somente qualidade físico-química e microbiológica adequadas, mas também a utilização de parâmetros microscópicos e químicos, como

resíduos de antibióticos e micotoxinas, para garantir a inocuidade do produto.

Sob o ponto de vista microscópico e macroscópico, o leite deve apresentar ausência de qualquer tipo de impureza ou elementos estranhos (BRASIL, 2002a). Apesar de algumas matérias estranhas não serem prejudiciais à saúde, a presença destas pode indicar que o leite não foi obtido dentro das condições higiênico-sanitárias satisfatórias, já que pode ser influenciada pelo processo de ordenha, se manual ou mecânica; pela forma como o produto é estocado na fazenda e pelas condições higiênicas dos equipamentos, utensílios, ambiente e dos funcionários, desde a obtenção até o processamento (CORREIA; RONCADA, 1997). Dependendo da matéria estranha, esta poderá carrear microrganismos potencialmente patogênicos ou deteriorantes que trarão problemas não somente de ordem de saúde pública, mas também tecnológica (PERESI et al., 2001). Outro importante ponto é que apesar de proibido, a comercialização de leite cru em feiras livres, vendidos em litros ou embalagens plásticas, aliadas as práticas de manipulação inadequadas, é atividade comum e que também agravam a qualidade microscópica do produto (BEUX, 1992).

Em relação aos contaminantes químicos, os resíduos de antibióticos podem se encontrar presentes no leite devido ao fato de serem utilizados no tratamento de infecções nos úberes das vacas, em especial quando não adotado boas práticas veterinárias, ou ainda incorporados à alimentação animal como suplemento dietético (SANTOS; FONSECA, 2007). O consumo de leite contendo resíduos de antibióticos põe em risco a saúde da população, podendo desencadear problemas alérgicos em indivíduos sensíveis, efeitos tóxicos e carcinogênicos, alterações no equilíbrio da microbiota intestinal e seleção de bactérias resistentes no trato intestinal dos consumidores (FOLLY; MACHADO, 2001). Ainda, a ação inibidora dos antibióticos sobre os processos de industrialização do leite e a impossibilidade de eliminação pelo processamento industrial são outros fatores que

contribuem para a necessidade da ausência deste contaminante no leite cru que será submetido à industrialização (CARVALHO; DURR; SANTOS, 2004). Sem contar as conseqüências econômicas para os produtores que têm não só que descartar o leite dos bovinos lactantes em tratamento, como sofrem penalidades no caso de ser detectado resíduos no leite a ser comercializado (BIACCHI; JORGE; UENO, 2004).

No Brasil, as aflatoxinas são as únicas micotoxinas cujos níveis máximos em alimentos estão previstos na legislação. No leite, encontra-se a aflatoxina M1, em decorrência do consumo de ração na alimentação de vacas lactantes contaminada por aflatoxina B1, toxina produzida por fungos pertencentes ao gênero *Aspergillus*, principalmente as espécies *A. flavus* e *A. parasiticus* (OLIVEIRA; FERRAZ, 2005). Segundo Ardic et al. (2008), há uma relação linear entre a quantidade de AFM1 no leite e AFB1 na alimentação consumida pelo animal. Relatou-se que 0.3-6.2% da AFB1 ingerida pelo animal através da alimentação são biotransformados no fígado em AFM1 e excretadas no leite, mas esta taxa de transmissão varia de animal para animal, de período e forma de alimentação e da forma que é realizada a ordenha. A aflatoxina M1 pode permanecer em produtos lácteos elaborados a partir de leites contaminados com esta toxina (MANETTA et al., 2009; TEKINSEN; UÇAR, 2008; PRANDINI et al., 2007). A preocupação no controle da ingestão de aflatoxinas deve-se a fato de que podem ocasionar um quadro de intoxicação aguda ou crônica, dependendo da concentração ingerida. Seus efeitos toxicológicos somente ocorrem após a ativação metabólica de suas moléculas pelas enzimas hepáticas (HUSSEIN; BRASEL, 2001). Embora o fígado seja o alvo primário, o desenvolvimento de tumores em outros órgãos, como pâncreas e intestino, tem sido observado (BUSBY JUNIOR et al., 1984). Existem evidências de que outras doenças, como a síndrome de Reye e o *Kwashiorkor* também estejam associadas às aflatoxinas (BAGGIO, 2006). O limite máximo de aflatoxina M1 permitido segue

a definição do Mercosul, GMC/RES. n°56/94, onde estabelece 0,5 mg/L (ppb) em leite líquido e 5,0 mg/L (ppb) para leite em pó (BRASIL, 2002b). Em alguns países da Europa (França, Alemanha, Bélgica, Suíça) e Japão, o limite máximo é de 50ng/L e 10ng/L, respectivamente (FAO, 1996), exigindo, dessa forma, um controle de qualidade cada vez mais rigoroso pelas indústrias alimentícias.

Em vista do acima exposto, o trabalho teve por objetivo avaliar a qualidade higiênico sanitária dos leites integral cru informal, pasteurizado, UHT e em pó, através da identificação de possíveis contaminações por matérias estranhas, medicamentos (antibióticos) e micotoxinas (aflatoxinas M1) comercializados nos municípios de Medianeira e Serranópolis do Iguaçu – Paraná.

## Material e Métodos

### Obtenção das amostras

Realizou-se levantamento de marcas comercializadas nos municípios de Medianeira e Serranópolis do Iguaçu-PR, e, a partir do resultado desta pesquisa, foram analisadas 5 amostras de leite UHT integral homogeneizado, 5 amostras de leite pasteurizado integral e homogeneizado, 4 amostras de leite em pó integral e 6 amostras de leite cru informal, sendo que, das amostras de leite informal, 4 eram providas de ordenha mecânica e 2 amostras de ordenha manual, totalizando 20 amostras, que representaram marcas distintas, porém com datas de validade aproximadas.

As amostras, em suas embalagens originais, foram devidamente identificadas, acondicionadas em recipiente isotérmico, levadas ao Laboratório de Análises Microbiológicas, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná-Campus Medianeira, para realização das análises de microscopia e de antibiótico, e ao Laboratório Central da Cooperativa Agroindustrial Lar para realização de análises de aflatoxinas. Foram armazenadas sob refrigeração ( $4^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$ ) até o dia da realização das análises.

Os reagentes químicos utilizados foram de qualidade P.A., com exceção do solvente orgânico utilizado nas análises de aflatoxinas, do qual se utilizou Metanol Grau HPLC (AOAC, 2000).

## Metodologia

### *Análise microscópica*

A determinação de matérias estranhas nos diferentes tipos de leites foi realizada pelo método de filtração direta, empregando a técnica nº 960.49 da AOAC (2000), com adaptação do método. Para as amostras fluidas, foram medidos 225 mL de cada amostra com auxílio de uma proveta e transferidas para um béquer; o leite em pó foi reconstituído conforme instruções no rótulo e posteriormente medida a quantidade indicada na técnica e procedido como para o leite fluido. A seguir, as amostras foram submetidas a aquecimento por 10 minutos em placa aquecedora e posteriormente filtradas em papel filtro qualitativo, empregando bomba à vácuo e as paredes do frasco lavadas com água destilada aquecida a 50-60°C. O papel filtro foi retirado, colocado sobre placa de Petri para posterior visualização no microscópio estereoscópio, sob aumento de 10 a 40X.

### *Determinação de antibiótico*

As análises de antibiótico foram realizadas empregando a metodologia n.982.18 descrito na AOAC (2000), onde foram utilizados kits no formato de ampolas do *Delvotest*<sup>®</sup>*SP-NT* (DSM Food Specialities, Holanda), contendo em seu interior ágar com esporos de *Bacillus stearothermophilus* var. *calidolactis*, uma seringa dosadora regulada

para 0,1 mL e ponteiras descartáveis (AOAC, 2000). No momento da análise as amostras estavam em torno de 37°C e foram utilizadas ponteiras para cada amostra, inoculando-se 0,1 mL de cada amostra em cada ampola. Para a incubação utilizou-se banho – maria a 64°C durante 3 horas. Os resultados do teste foram lidos da seguinte forma: coloração amarela indicava ausência de antibiótico e coloração azul indicava presença de antibiótico.

### *Análise de aflatoxina M1*

A análise de aflatoxina M1 nas diferentes amostras seguiu o proposto na metodologia n.991.31 (AOAC, 2000) com algumas modificações, conforme descrito na Figura 1, empregando para tal os kits *Aflatest-P*<sup>®</sup> e *Aflatest-M1*<sup>®</sup> (VICAM<sup>®</sup>).

As colunas de imunoafinidade *Aflatest-P*<sup>®</sup> permitem isolar aflatoxinas B1, B2, G1, G2 e M1. Sua faixa de detecção é de 1,00 a 300ppb em fluorímetro. O limite de detecção para este método é de 0,10ppb, sendo que, os resultados encontrados abaixo desse valor foram interpretados como “Não Detectado” (ND). Os procedimentos utilizados para realização das análises através de *kit Aflatest-M1*<sup>®</sup> foram exatamente os mesmos que para *kit Aflatest-P*<sup>®</sup>, porém substituiu-se a coluna *Aflatest-P*<sup>®</sup> por coluna de imunoafinidade *Aflatest-M1*<sup>®</sup>. Esse tipo de coluna é específica para análise de aflatoxinas em leites, apresentando maior sensibilidade na detecção, que varia de 10ppt a 3,0ppb. O limite de detecção para este método também é de 0,10ppb, sendo que, os resultados encontrados abaixo desse valor foram interpretados como “Não Detectado” (ND).

### EXTRAÇÃO DA AMOSTRA

Homogeneizar 50mL da amostra com 5g de NaCl P.A. (leite em pó integral foi reconstituído diluindo-se 6,5g de em 50mL de água destilada, conforme instruções do rótulo). Centrifugar a 3500rpm/ 10min. Coletar 10 mL da amostra desnatada.



### FILTRAÇÃO

Filtrar em filtro de microfibras (1,5µm).



### CROMATOGRAFIA DE AFINIDADE

Passar o filtrado pela coluna de afinidade (*Aflatest-P*<sup>®</sup> e *Aflatest-M1*<sup>®</sup>). Lavar a coluna com solução metanol:água (10:90). Eluir as aflatoxinas com solução metanol:água (80:20).



### QUANTIFICAÇÃO

Adicionar 1mL do revelador ao eluato e agitar. Colocar a cubeta em um fluorímetro calibrado (VICAM<sup>®</sup>). Verificar leitura digital após um minuto.

**Figura 1.** Fluxograma do procedimento geral para determinação de aflatoxina M1 utilizando as colunas de imunoafinidade *Aflatest-P*<sup>®</sup> e *Aflatest-M*<sup>®</sup> (VICAM).

Fonte: Adaptada da metodologia n. 991.31 (AOAC, 2000).

## Resultados e Discussão

### *Análise microscópica*

O leite pode ser contaminado por matérias estranhas de origem biológica (pêlos, insetos, ácaros excrementos) ou não (como terra) (CORREIA; RONCADA, 1997). Na análise microscópica não houve a identificação de contaminantes por sujidades leves ou pesadas e matérias estranhas, fazendo com que os produtos apresentassem ausência de sujidades, larvas e parasitas em 225 mL da amostra, estando assim de acordo com a legislação vigente no que se refere às matérias macroscópicas e microscópicas prejudiciais à saúde humana, segundo a Resolução RDC nº 175 (BRASIL, 2003). Pouquíssimos trabalhos têm sido realizados nesta linha de pesquisa para leite e derivados lácteos. Martins, Silva e Brandão (2004) ao avaliarem a presença de matérias estranhas em leite pasteurizado tipo C comercializados na região

da Zona da Mata de Minas Gerais verificaram que 81,4% das amostras analisadas encontraram-se em desacordo com a legislação vigente, apresentando algum tipo de sujidade.

### *Análise de Antibióticos*

Os resultados mostraram que nenhuma das 20 amostras, distribuídas nos grupos de leite informal, leite pasteurizado, leite UHT e leite em pó, ambas integrais, apresentaram resíduos antimicrobianos. Este método detecta antimicrobianos pertencentes às classes penicilina, cloxacilina, sulfametazina, sulfadiazina, cefalexina, gentamicina, que são os mais comumente utilizados nos tratamentos de mastite (LE BRETON; SAVOY-PERROUD; DISERENS, 2007).

Como resultados positivos preocupam, pois a presença de antibióticos traz diversos problemas,



tanto sob o ponto de vista da saúde pública quanto tecnológico, os resultados negativos demonstram que as amostras analisadas atendem ao programa de qualidade do leite quanto ao PNCR (BRASIL, 1999). Por sua vez, os resultados para leite UHT e em pó descritos no Relatório 2004/ 2005 sobre Monitoramento de Resíduos em Leite Expostos ao Consumo (BRASIL, 2010), apresentaram algum tipo de antimicrobiano, onde o leite em pó apresentou a maior percentagem de contaminação. Apesar de não ter sido detectado resíduos de antibióticos nas amostras analisadas, esta não é a realidade nacional, conforme pode ser observado nos trabalhos realizados por Mattos et al. (2010), Bando et al. (2009), Nero et al. (2007) e Barros, Jesus e Silva (2001), assim como não é um problema exclusivo do Brasil, já que estudos realizados em outros países também apontam a ocorrência de antimicrobianos em leite (SANI; NIKPOOYAN; MOSHIRI, 2010; UNUSAN, 2009; KANG'ETHE et al., 2005).

Outro ponto que deve ser levado em consideração quanto a obtenção dos resultados deste trabalho diz respeito ao método escolhido para análise (*Delvotest<sup>®</sup> SP-NT*), que devido a sensibilidade poderia contribuir para a obtenção de resultados falso-positivos, devido a fatores como alto conteúdo de células somáticas e a presença de inibidores naturalmente presentes no leite, como por exemplo lactoferrina, lisoenzima, entre outras (HILLERTON et al., 1999; ANDREW et al., 1997; CARLSSON; BJORCK; PERSSON, 1989). Assim, em uma situação de baixa prevalência de amostras positivas, poderia aumentar o valor preditivo negativo do teste, como sugerido no trabalho realizado por Mendes et al. (2008) e reforçado pelos resultados encontrados nesta pesquisa.

Como pode ser visto até então, as questões que envolvem a melhoria da qualidade do leite ao nível de produção são complexas e requerem o esforço conjunto de todos os setores relacionados, como academia, serviços de inspeção, vigilância sanitária e campanhas periódicas de esclarecimentos visando principalmente os produtores da importância em

controlar o uso de medicamentos nos animais em lactação (NASCIMENTO; MAESTRO; CAMPOS, 2001).

#### *Análises de aflatoxina M1*

Os resultados das análises de aflatoxina M1 encontram-se descritos na Tabela 1.

Observou-se que das amostras de leite analisadas, 70% (14) apresentaram contaminação por Aflatoxina M1; porém, somente 3 (15%) apresentaram resultados acima do limite de detecção estipulado pelo método (0,10ppb) (Tabela 1). Dentre estas amostras, uma representa amostra de leite informal integral (16,66% das amostras de leite informal integrais pesquisadas) que foi detectada através de cromatografia por imunoafinidade com coluna específica para leite, neste caso, *Aflatest-M1<sup>®</sup>*. As outras duas contaminações foram detectadas em uma amostra de leite pasteurizado integral homogeneizado (20% do total desse tipo de amostra) e outra em leite UHT integral homogeneizado, totalizando também 20% das amostras de leite UHT analisadas, apresentando em ambos os casos, resultados de 0,12ppb, empregando a coluna de imunoafinidade *Aflatest-P<sup>®</sup>*. A variação dos resultados entre os kits das colunas de imunoafinidade *Aflatest M1<sup>®</sup>* e *Aflatest-P<sup>®</sup>* deve-se ao fato de que a primeira é a ideal pra realização de análises de aflatoxina M1 em leites, tendo sensibilidade maior que a outra, no entanto, a utilização de coluna *Aflatest-P<sup>®</sup>* para esse tipo de análise é certificada pela empresa que fornece esses kits. Apesar de Lopez et al. (2003) ter verificado maior nível de contaminação por aflatoxina M1 em amostras de leite em pó na Argentina, neste trabalho foram as amostras que apresentaram menor índice de contaminação, talvez devido à diluição da toxina, decorrente da mistura de leite contaminado e não contaminado, durante o beneficiamento pelas usinas de leite (SABINO; PURCHIO; ZORZETTO, 1989), já que nestes casos as indústrias beneficiadoras destes produtos compram matéria-prima de várias procedências.

**Tabela 1.** Resultados das análises de aflatoxinas M1 em amostras de leites, comercializados nas cidades de Medianeira e Serranópolis do Iguaçu utilizando, pelos kits *Aflatest-P*<sup>®</sup> e *Aflatest-M1*<sup>®</sup>

AMOSTRA	AFLATOXINA M1 (Coluna <i>Aflatest-M1</i> <sup>®</sup> )	AFLATOXINA M1 (Coluna <i>Aflatest-P</i> <sup>®</sup> )
<b>Leite informal integral</b>		
A	0,25 ppb	ND (0,020 ppb)
B, C	ND* (0 ppb)	ND (0 ppb)
D	ND (0,0012 ppb)	ND (0,075 ppb)
E	ND (0,030 ppb)	ND (0 ppb)
F	ND (0,025 ppb)	ND (0 ppb)
<b>Leite pasteurizado integral homogeneizado</b>		
A	ND (0 ppb)	ND (0,033 ppb)
B	ND (0 ppb)	ND (0 ppb)
C	ND (0,058 ppb)	0,12 ppb
D	ND (0 ppb)	ND (0,060 ppb)
E	ND (0,060 ppb)	ND (0 ppb)
<b>Leite UHT integral homogeneizado</b>		
A	ND (0,025 ppb)	ND (0,014 ppb)
B	ND (0,037 ppb)	ND (0,0078 ppb)
C	ND (0,098 ppb)	ND (0,021 ppb)
D	ND (0,039 ppb)	0,12 ppb
E	ND (0,014 ppb)	ND (0,063 ppb)
<b>Leite em pó integral</b>		
A, C e D	ND (0 ppb)	ND (0 ppb)
B	ND (0,0082 ppb)	ND (0 ppb)

\* ND: Não detectado (limite de detecção de 0,10 ppb).

A, B, C, D, E: em leites processados, referem-se às diferentes marcas e em leites informais referem-se à ordenha mecânica (A, B, C e D) e à ordenha manual (E e F).

Todas as amostras que apresentaram contaminação acima do limite estipulado pelo método encontraram-se dentro do limite recomendado pela legislação brasileira (BRASIL, 2002b), porém fora dos padrões para produtos internacionais, estando acima dos limites estipulados por países da Europa e Japão (50ng/L e 10ng/L, respectivamente). Apesar do resultado obtido, a confiabilidade dos resultados analíticos na determinação de micotoxinas é preocupante, tendo em vista vários fatores, como a distribuição não uniforme das micotoxinas nos alimentos, as baixas concentrações, em que os níveis encontrados estão em µg/kg e ainda a presença de interferentes (Pereira et al., 2005).

No Brasil, trabalhos vêm sendo realizados com o objetivo de detectar AFM1 em leite e com resultados similares aos encontrados pela presente pesquisa no

que diz respeito ao fato de que todas as amostras analisadas encontraram-se dentro dos padrões estabelecidos pela legislação vigente. Shundo et al (2009), ao analisar 125 amostras de leite em pó, leite pasteurizado e leite UHT, verificaram que 95,2% das amostras apresentaram aflatoxina M1. Prado et al. (1999), no período de agosto de 1998 a abril de 1999, em Belo Horizonte (MG), analisaram 61 amostras de leite, dentre elas, 18 de leite pasteurizado tipo C, 32 de leite esterilizado e 11 amostras de leite em pó, onde puderam observar que 50 amostras (82%) apresentaram AFM1 (6-77 ng/L). Baggio (2006), em estudo comparativo entre as técnicas de CLAE e CCD, analisaram 40 amostras de leite pasteurizado tipo C padronizado e homogeneizado provenientes de 21 Distritos Sanitários do estado do Paraná. Todas as amostras

de leite que apresentaram níveis detectáveis de aflatoxina M1 (57,5% das amostras analisadas por cromatografia líquida de alta eficiência e 42,5% analisadas pela cromatografia de camada delgada) encontraram-se dentro do limite máximo de 0,5 µg/L, estabelecido pela legislação brasileira; por sua vez, 8 amostras estavam com níveis acima de 0,05 µg/L, que é a tolerância máxima aceita pela Comunidade Européia.

Apesar do bom resultado, seria interessante avaliar a ocorrência de aflatoxina M1 em função da época do ano, conforme o trabalho realizado por Heshmati e Milani (2010), já que interfere na disponibilidade de pasto e, conseqüentemente, no tipo de alimentação do animal.

## Conclusões

Nenhuma amostra de leite apresentou contaminação por matérias estranhas ou por antibióticos, podendo-se assim, relacionar esses resultados à constante melhoria dos estabelecimentos, treinamentos de pessoal e manuseio do leite desde a sua obtenção até o beneficiamento.

Conclui-se que os valores obtidos de aflatoxina M1 em todas as amostras de leite analisadas mostraram-se dentro dos padrões exigidos pela legislação brasileira, porém acima dos limites estipulados por países da Europa e Japão.

## Agradecimentos

À Solcampo Importação Comércio e Representação de Produtos para Análise de Alimentos Ltda., pela doação dos kits *Aflatest-P*<sup>®</sup> e *Aflatest-M1*<sup>®</sup>.

## Referências

ANDREW, S. M.; FROBISH, R. A.; PAAPE, M. J.; MATURIN, L. J. Evaluation of selected antibiotic residue screening tests for milk from individual cows and examination of factors that affect the probability of false-

positive outcomes. *Journal of Dairy Science*, California, USA, v. 80, n. 11, p. 3050-3057, 1997.

ARDIC, M.; KARAKAYA, Y.; ATASEVER, M.; ADIGUZEL, G. Aflatoxin M1 levels of Turkish white brined cheese. *Food Control*, Reino Unido, v. 20, n. 3, p. 196-199, 2009.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMIST – AOAC. *Official methods as analysis of the association of official analytical chemists*. 17. ed. Washington: AOAC International Method, 2000.

BAGGIO, E. C. R. *Determinação de Aflatoxina M1 em leite pasteurizado pelos métodos de CCD e CLAE utilizando coluna de imunoafinidade*. 2006. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Setor de Tecnologia. Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos. Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

BANDO, E.; OLIVEIRA, R. C.; FERREIRA, G. M.; MACHINSKI JUNIOR, M. Occurrence of antimicrobial residues in pasteurized milk commercialized in the state of Paraná, Brazil. *Journal of Food Protection*, Des Moines, USA, v. 72, n. 4, p. 911-914, 2009.

BARROS, G. M. S.; JESUS, N. M. de; SILVA, M. H. Pesquisa de resíduos de antibióticos em leite pasteurizado tipo C, comercializado na cidade de Salvador. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*, Salvador, v. 2, n. 3, p. 69-73, 2001.

BEUX, N. R. *Noções de microscopia alimentar: pesquisa de materiais estranhas e identificação de elementos histológicos*. Curitiba: CEPPA, 1992.

BIACCHI, N. C.; JORGE, A. O. C.; UENO, M. Detecção de resíduos antibióticos em leite bovino na região do Vale do Paraíba, São Paulo. *Revista Biociências*, Taubaté, v.10, n. 1/2, p. 47-49, jan./jun. 2004.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. *Instrução Normativa nº42, de 20 de dezembro de 1999*. Dispõe sobre o Plano nacional de controle de resíduos em produtos de origem animal – pncr e os programas de controle de resíduos em carne-PCRC, Mel- PCRM, leite-PCRL e pescado-PCR. 1999.

BRASIL. Ministério da Saúde Agência Nacional de Vigilância Sanitária. *Resolução RDC nº 175, de 08 de julho de 2003*. Dispõe sobre o regulamento técnico de avaliação de matérias macroscópicas e microscópicas prejudiciais à saúde humana em alimentos embalados. 2003.

BRASIL. *Programa de análise de resíduos de medicamentos veterinários em alimentos de origem animal – pamvet – relatório 2004/2005 – monitoramento de resíduos em leite exposto ao consumo*. 2010.



- Disponível em: <[http://www.anvisa.gov.br/alimentos/pamvet/relat%F3rio\\_leite\\_2004-05.pdf](http://www.anvisa.gov.br/alimentos/pamvet/relat%F3rio_leite_2004-05.pdf)>. Acesso em: 16 jun. 2010.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. *Instrução Normativa nº 51, de 18 de setembro de 2002*. Dispõe sobre os regulamentos técnicos de produção, identidade e qualidade do leite tipo A, do leite tipo B, do leite tipo C, do leite pasteurizado e do leite cru refrigerado e o regulamento técnico da coleta de leite cru refrigerado e seu transporte a granel. 2002a.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. *Resolução RDC nº 274, de 2002*. Regulamento técnico Mercosul sobre limites máximos de aflatoxinas admissíveis no leite, no amendoim, no milho. 2002b.
- BUSBY JUNIOR, W. F.; GOLDMAN, M. E.; NEWBERNE, P. M.; WOGAN, G. N. Tumorigenicity of fluoranthene in a newborn mouse lung adenoma bioassay. *Carcinogenesis*, Oxford, v. 5, n. 10, p. 1311-1316, 1984.
- CARLSSON, A.; BJORCK, L.; PERSSON, K. Lactoferrin and lysozyme in milk during mastitis and their inhibitory effect in Delvotest P. *Journal of Dairy Science*, California, USA, v. 72, n. 12, p. 3166-3175, 1989.
- CARVALHO, M. P.; DURR, J. W.; SANTOS, M. V. *O compromisso com a qualidade do leite no Brasil*. Passo Fundo: UPF, 2004, v. 1, 2004.
- CORREIA, M.; RONCADA, M. J. Características microscópicas de queijos prato, mussarela e mineiro comercializados em feiras livres da Cidade de São Paulo. *Revista Saúde Pública*, São Paulo, v. 31, n. 3, p. 296-301, jun. 1997.
- FOLLY, M. M.; MACHADO, S. D. C. A. Determinação de resíduos de antibióticos, utilizando-se métodos de inibição microbiana, enzimático e imunoensaios no leite pasteurizado comercializado na região norte do estado do Rio de Janeiro, Brasil. *Revista Ciência Rural*, Santa Maria, v. 31, n. 1, p. 95-98, 2001.
- FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS – FAO. *Worldwide Regulations for Mycotoxins*, 1995. A Compendium, Roma, n. 64, p. 9-20, 1996.
- HESHMATI, A.; MILANI, J. M. Contamination of UHT milk by aflatoxin M1 in Iran. *Food Control*, Reino Unido, v. 21, n. 1, p. 19-22, 2010.
- HILLERTON, J. E.; HALLEY, B. I.; NEAVES, P.; ROSE, M. D. Detection of antimicrobial substances in individual cow and quarter milk samples using delvotest microbial inhibitor tests. *Journal of Dairy Science*, California, USA, v. 82, n. 4, p. 704-711, 1999.
- HUSSEIN, S. H.; BRASEL, J. M. Toxicity, metabolism and impact of mycotoxins on humans and animals. *Toxicology*, Ireland, v. 167, n. 2, p. 101-134, 2001.
- KANG'ETHE, E. K.; ABOGE, G. O.; ARIMI, S. M.; KANJA, L. W.; OMORE, A. O.; MCDERMOTT, J. J. Investigation of the risk of consuming marketed milk with antimicrobial residues in Kenya. *Food Control*, Reino Unido, v. 16, n. 4, p. 349-355, 2005.
- LE BRETON, M. H.; SAVOY-PERROUD, M. C.; DISERENS, J. M. Validation and comparison of the Copan Milk Test and Delvotest SP-NT for the detection of antimicrobials in milk. *Analytica Chimica Acta*, Netherlands, v. 586, n. 1/2, p. 280-283, 2007.
- LOPEZ, C. E.; RAMOS, L. L.; RAMAD, S. S.; BULACIO, L. C. Presence of aflatoxin M1 in milk for human consumption in Argentina. *Food Control*, Reino Unido, v. 14, n. 1, p. 31-34, 2003.
- MANETTA, A. C.; GIAMMARCO, M.; DI GIUSEPPE, L.; FUSARO, I.; GRAMENZI, A.; FORMIGONI, A.; VIGNOLA, G.; LAMBERTINI, L. Distribution of aflatoxin M1 during Grana Padano cheese production from naturally contaminated milk. *Food Chemistry*, Oxford, v. 113, n. 3, p. 595-599, 2009.
- MARTINS, F. O.; SILVA, C. A. O.; BRANDÃO, S. C. C. Avaliação de matérias estranhas em leite pasteurizado tipo C comercializado na região da Zona da Mata de Minas Gerais. *Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes*, Juiz de Fora, MG, v. 59, n. 339, p. 401-405, 2004.
- MATTOS, M. R.; BELOTI, V.; TAMANINI, R.; MAGNANI, D. F.; NERO, L. A.; BARROS, M. A. F.; PIRES, E. M. F.; PAQUEREAU, B. P. D. Qualidade do leite cru produzido na região do agreste de Pernambuco, Brasil. *Semina: Ciências Agrárias*, Londrina, v. 31, n. 1, p. 173-182, jan./mar. 2010.
- MENDES, C. G.; SAKAMOTO, S. M.; SILVA, J. B. A.; LEITE, A. Í. Pesquisa de resíduos de beta-lactâmicos no leite cru comercializado clandestinamente no município de Mossoró, RN, utilizando o Delvotest SP. *Arquivos do Instituto de Biologia*, São Paulo, v. 75, n. 1, p. 95-98, jan./mar. 2008.
- NASCIMENTO, G. G. F.; MAESTRO, V.; CAMPOS, M. S. P. Ocorrência de resíduos de antibióticos no leite comercializado em Piracicaba-SP. *Revista de Nutrição*, Campinas, v. 14, n. 2, p. 119-124, 2001.
- NERO, L. A.; MATTOS, M. R.; BARROS, M. A. F.; BELOTI, V.; FRANCO, B. D. G. M. Resíduos de antibióticos em leite cru de quatro regiões leiteiras no Brasil. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, v. 27, n. 2, p. 391-393, abr./jun. 2007.

- NERO, L. A.; MATTOS, M. R.; BELOTI, V.; BARROS, M. A. F.; PINTO, J. P. de A. N.; ANDRADE, N. J.; SILVA, W. P.; FRANCO, B. D. G. M. Leite cru de quatro regiões leiteiras brasileiras: perspectivas de atendimento dos requisitos microbiológicos estabelecidos pela instrução normativa 51. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, v. 25, n. 1, p. 191-195, jan./mar. 2005.
- OLIVEIRA, C. A. F.; FERRAZ, J. C. O. Occurrence of aflatoxin M1 in pasteurised, UHT milk and milk powder from goat origin. *Food Control*, Reino Unido, v. 18, n. 4, p. 375-378, 2005.
- PEREIRA, M. M. G.; CARVALHO, E. P. de; PRADO, G.; ROSA, C. A. R.; VELOSO, T., SOUZA, L. A. F. de; RIBEIRO, J. M. M. Aflatoxinas em alimentos destinados a bovinos e em amostras de leite da região de Lavras, Minas Gerais – Brasil. *Ciência e Agrotecnologia*, Lavras, v. 29, n. 1, p. 106-112, jan./fev. 2005.
- PERESI, J. T. M.; GRACIANO, R. A. S.; ALMEIDA, I. A. Z. C. de; LIMA, S. I. de; RIBEIRO, A. K.; CARVALHO, I. S. de. Queijo tipo minas frescal artesanal e industrial: qualidade microscópica, microbiológica e teste de sensibilidade aos agentes antimicrobianos. *Revista Higiene Alimentar*, São Paulo, v. 15, n. 83, p. 63-69, abr. 2001.
- PRADO, G.; OLIVEIRA, M. S.; ABRANTES, F. M.; SANTOS, L. G.; SOARES, C. R.; VELOSO, T. Ocorrência de Aflatoxina M1 em leite consumido na cidade de Belo Horizonte – Minas Gerais / Brasil – agosto/98 à abril/99. *Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, v. 19, n. 3, p. 420-423, set./dez. 1999.
- PRANDINI, A.; TANSINI, G.; SIGOLO, S.; FILIPPI, L.; LAPORTA, M.; PIVA, G. On the occurrence of aflatoxin M1 in milk and dairy products. *Food and Chemical Toxicology*, England, v. 47, n. 5, p. 984-991, 2007.
- SABINO, M.; PURCHIO, A.; ZORZETTO, A. P. Variations in the level of aflatoxin in cows milk consumed in the city of São Paulo, Brazil. *Food Additives and Contaminants*, v. 6, n. 3, p. 321-326, 1989.
- SANI, A. M.; NIKPOOYAN, H.; MOSHIRI, R. Aflatoxin M1 contamination and antibiotic residue in milk in Khorasan province, Iran. *Food and Chemical Toxicology*, England, v. 48, n. 8/9, p. 2130-2132, 2010.
- SANTOS, M. V.; FONSECA, L. F. L. *Estratégias para controle de mastite e melhoria da qualidade do leite*. Porto Alegre: Manole, 2007. v. 1.
- SHUNDO, L.; NAVAS, S. A.; LAMARDO, L. C. A.; RUVIERI, V.; SABINO, M. Estimate of aflatoxin M1 exposure in milk and occurrence in Brazil. *Food Control*, Reino Unido, v. 20, n. 7, p. 655-657, 2009.
- SPISSO, B. F.; NÓBREGA, A. W. de; MARQUES, M. A. S. Resíduos e contaminantes químicos em alimentos de origem animal no Brasil: histórico, legislação e atuação da vigilância sanitária e demais sistemas regulatórios. *Ciência e Saúde Coletiva*, São Paulo, v. 14, n. 06, p. 2091-2106, 2009.
- TEKINSEN, K. K.; UÇAR, G. Aflatoxin M1 levels in butter and cream cheese consumed in Turkey. *Food Control*, Reino Unido, v. 19, n. 1, p. 27-30, 2008.
- UNUSAN, N. Occurrence of chloramphenicol, streptomycin and tetracycline residues in ultra-heat-treatment milk marketed in Turkey. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, London, v. 60, n. 5, p. 359-364, 2009.
- VIEIRA, L. C.; KANEYOSHI, C. M.; FREITAS, H. *Criação de gado leiteiro na Zona Bragantina- qualidade do leite*. Sistemas de produção 02. [S.l]: EMBRAPA, dez. 2005. Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br>>. Acesso em: 19 fev. 2008.
- ZOCCAL, R. *Produção, industrialização e comercialização*. 2009. Disponível em: <<http://www.cnpgl.embrapa.br>>. Acesso em: 01 set. 2009.