

Área: Tecnologia de Alimentos

RELAÇÃO ENTRE A CONTAGEM BACTERIANA TOTAL, PROVA DE REDUTASE E A CONTAGEM DE PSICOTRÓFICOS EM LEITE CRU RESFRIADO

**Camila Comiotto, Eliane Maria de Carli, Vanessa de Souza Pelizzer, Daniela Bertol,
Antonia Erica Somavilla***

*Laboratório de Análises microbiológicas de alimentos, Curso de Engenharia de
Alimentos, Universidade do Oeste de Santa Catarina*

**E-mail: antonia_erica@hotmail.com*

RESUMO

A qualidade do leite cru está intimamente relacionada com o grau de contaminação inicial que ocorre logo após a ordenha e com o binômio tempo/temperatura em que o mesmo permanece desde a ordenha até o seu processamento na indústria, suas qualidades podem ser afetadas pela manipulação, temperatura na qual este leite é submetido e o transporte do leite até a indústria, estes fatores estão diretamente ligados para possíveis desenvolvimentos de microrganismos, como bactérias psicotróficas. Este trabalho visou verificar se há relação entre a contagem bacteriana total, com a presença de antibióticos, a prova de redutase. De acordo com o trabalho, concluiu-se que não é seguro basear-se apenas no teste de redutase, por ser um teste presuntivo e não quantitativo, sendo importante o auxílio de outros testes que tenham resultados mais expressivos.

Palavras-chave: micro-organismos, redutase, leite, psicotróficos.

1 INTRODUÇÃO

A qualidade do leite que se produz no Brasil é um problema muito difícil de resolver, onde muitos fatores estão envolvidos sejam eles de ordem social, econômica, cultural e até mesmo climática, e que não tem merecido a devida atenção no campo político, apesar do papel importante representado pelo leite na alimentação de várias pessoas, pois ele possui muitos nutrientes, tornando-se um excelente alimento para o homem. No momento do recebimento nos laticínios, mesmo em temperaturas de 7°C ou inferior, os microrganismos

psicrotróficos encontram condições favoráveis para o seu desenvolvimento e podem tornar-se dominantes na microbiota do leite (LORENZETTI, 2006).

É de suma importância que seja analisado o nível de contaminação do leite na indústria, pois um leite com alta contagem de microrganismos altera muito a qualidade do produto final, retardando a conservação, ou seja, o tempo de vida útil do produto. É importante ressaltar, que não só a presença de microrganismos altera a qualidade do leite e de seus derivados, mas também a presença de antibióticos alterando as propriedades organolépticas do produto e podendo torná-lo um produto maléfico, pelo fato de algumas pessoas apresentarem reação alérgica à penicilina, que pode aparecer no leite como resíduo. Um dos métodos mais utilizados na indústria é o teste de redutase que baseia-se na capacidade dos microrganismos presentes no leite de produzirem substâncias redutoras durante seu crescimento, reduzindo o azul de metileno, é uma forma indireta de medir a contagem de microrganismos mesófilos. A contagem bacteriana total e Psicrotróficos que tem a capacidade de multiplicar-se em condições de resfriamento são métodos que também são utilizados, estes ajudam a estimar e verificar como está a qualidade do leite, pois se houver uma alta contagem de microrganismos, pode-se relacionar com falta de condições básicas de higiene de um modo geral, bem como temperaturas de refrigeração não adequadas.

Dessa forma este trabalho, visa verificar se há relação entre a contagem bacteriana total, método que estima os microrganismos viáveis, com a presença de antibióticos, a prova de redutase.

2 DESENVOLVIMENTO

2.1 MATERIAL E MÉTODOS

Adotou-se como objeto de estudo o leite cru (matéria-prima) de uma indústria de laticínios situada na região oeste de Santa Catarina. As amostras foram coletadas diariamente dos Silos. Este leite chega até o laticínio em caminhões isotérmicos com um tempo médio de pós-ordenha de 24/48 horas.

Foram realizadas análises físico-químicas de acidez, determinação da redutase e antibióticos. As análises microbiológicas, realizadas foram: contagem de microrganismos Psicotróficos e mesófilos do leite cru.

As amostras foram coletadas nos meses de fevereiro, março e abril de 2009, bem como as análises físico-químicas e microbiológicas também foram realizadas neste período.

Para determinação de acidez total foi adicionado a um copo de béquer de 50 mL, como auxílio de uma pipeta graduada 10 mL de leite e três a cinco gotas de uma solução alcoólica de fenoltaleína a 2%. Paralelamente, em uma bureta graduada com capacidade para 25 mL, procedeu-se a titulação da amostra com solução de hidróxido de sódio (N/9). A titulação foi efetuada pelo gotejamento da solução de hidróxido de sódio ao leite contendo fenoltaleína, até o aparecimento de ligeira tonalidade rósea, persistente por pelo menos 30 segundos. O volume de hidróxido de sódio gasto durante o processo de titulação foi multiplicado por 10 e o resultado obtido correspondente ao grau de acidez titulável da amostra analisada.

Para análise de bactérias mesofílicas e psicrotróficas a partir da amostra de leite foram realizadas diluições seriadas em solução salina peptonada 0,1% de 10^{-1} até 10^{-6} . Semeou-se 1 mL de cada diluição em placas de Petri estéreis. Adicionou-se cerca de 15 a 20 mL de PCA fundido e mantido em banho-maria a 46-48°C. Após homogeneizou-se cada placa esperando que ocorresse a solidificação do ágar em temperatura ambiente. Incubaram-se as placas invertidas a $36 \pm 1^\circ\text{C}$ por 48 horas para mesófilos, sendo que para psicrotróficos foram incubados a temperatura de 7°C , em geladeira durante o período de 7 dias. A contagem foi feita pelo contador de colônias, seguindo o método padrão em placas com 25 a 250 colônias. As colônias contadas nas placas foram multiplicadas pelo fator de diluição das placas correspondentes, fornecendo o número de microrganismos mesófilos e psicrotróficos por mL de leite. (Com base Instrução Normativa Nº 62, de 26 de agosto de 2003).

Para teste de redutase foi utilizado um tubo de ensaio esterilizado, contendo 1 mL de solução de azul de metileno, adicionava-se 10 mL de leite e incubava-se em banho-maria e acompanhava-se o tempo para verificar a perda da coloração azul, ou seja, ficar 4/5 do tubo branco novamente, e assim marcando o horário. O resultado corresponde ao número de horas que a amostra levou para perder a coloração. (BRITO, et al, 2007 Embrapa).

Para determinação de antibiótico utilizou-se neste trabalho para detecção de antibióticos no leite o kit Delvotest SP NT(Gist-Brocade).

2.2 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em relação aos resultados das análises de acidez, todos os valores encontrados ficaram dentro do padrão estabelecido pela legislação vigente IN 51/2002 e que pode apresentar uma variação entre 14 e 18°D. Não foi possível estabelecer uma relação deste parâmetro com a contagem bacteriana, uma vez que, os valores foram bastante variáveis desde situações em que não foi possível estimar o número das colônias por apresentarem-se em quantidade inferior ao estabelecido para contagem, até valores incontáveis. No entanto, o resultado para a acidez foi o mesmo nas duas situações, como pode ser verificado na tabela 1, para a Rota 20, que apresentou nas avaliações 01 e 14 incontável e nas avaliações 04 e 18, número inferior ao nível de contagem. Isto não está de acordo com o que foi relatado por LORENZETTI, (2006) valores de acidez dentro da legislação indicam que o leite coletado possui “baixa carga de microrganismos” mesófilos e que este leite foi transportado sob refrigeração adequada, pois são microrganismos mesófilos presentes no leite que sob temperatura inadequada de transporte transformam a lactose do leite no ácido láctico.

Em relação à contagem bacteriana total os valores obtidos excederam ao padrão estabelecido pela IN 51/2002, o máximo para este parâmetro é de 750.000 UFC/mL. As avaliações 01, 02, 07, 08, 09, 14 não estão de acordo com a normativa descrita acima. Segundo BEHMER (1999) de modo geral, a carga microbiana do leite é uma variável dependente de carga inicial e da taxa de multiplicação dos microrganismos. A carga bacteriana inicial pode ser definida como a concentração de microrganismos existentes no leite armazenado no tanque resfriador, imediatamente após o término da ordenha e depende basicamente de vários fatores. O primeiro diz respeito à contaminação microbiana do leite dentro da própria glândula mamária, ou seja, da saúde do rebanho em termos de mastite, o segundo fator está relacionado com higiene da ordenha, e mais especificamente, com a limpeza e a desinfecção da superfície dos tetos e finalmente as condições de limpeza dos utensílios e equipamentos de ordenha também são fundamentais observando-se a qualidade da água utilizada na lavagem dos tetos durante a ordenha, e também na higienização e desinfecção do sistema de ordenha. Nas avaliações onde não obteve-se o número mínimo de colônias para contagem, que correspondem as amostras 04, 10, 11, 12, 13, 15 e 18, verificou-

se resultado positivo no teste de inibidores, podendo-se assim estabelecer uma relação direta do resultado do teste com a baixa contagem bacteriana total.

Para Psicotróficos não existe parâmetro descrito na legislação vigente para leite cru, mas de acordo com FURTADO, (2005) se o número de Psicotróficos no leite refrigerado, não exceder de 500.000 a 1.000,000 por mL, não haveria motivos para preocupação, se o leite fosse imediatamente pasteurizado. Quando o número exceder a 5 milhões/mL, há um considerável risco de alteração das proteínas e gordura, com conseqüente alteração no sabor e odor e mesmo a redução no rendimento dos queijos. Para as avaliações 01, 03, 04, 05, 06, 10, 11, 12, 13, 15, 16, 17, 18 a redutase apresentou-se num tempo alto, estando de acordo com o padrão estabelecido para este requisito.

A análise de redutase é considerada como uma forma indireta de medir microrganismos mesófilos presente na matéria-prima de modo que as bactérias em desenvolvimento consomem o oxigênio presente no leite e abaixam o potencial de oxidação até um ponto em que ocorre o descolorimento do azul de metileno, voltando o leite a ficar branco. Neste sentido, todas as amostras apresentaram tempo de redutase acima do estabelecido na legislação, porém no Devoltest resultado positivo para as avaliações 02, 04, 07, 08, 09, 10, 11, 12, 13, 14, 15 e 18, e isto pode ter sido a causa do tempo maior para redução do teste, devido a interferências da presença de substâncias inibidoras.

Para as avaliações 03, 04, 05, 06, 10, 11, 12, 13, 15, 16, 17, 18 que a Contagem Bacteriana Total ficou com número inferior ao mínimo para efetuar contagem nas placas e com resultado no Devoltest negativo, não foi possível afirmar que o resultado da redutase, seja devido à baixa contagem bacteriana, uma vez que outros testes para detecção de adulteração não foram realizados.

Os resultados para os testes de inibidores demonstram que em 66 % das amostras o resultado apresentou-se positivo. Isto evidencia um sério problema, pois é um dos maiores desafios impostos à indústria de alimentos no mundo, tendo como conseqüência a interferência na fabricação de alguns produtos lácteos, considerados prejudiciais para consumidores. De acordo com BRITO (2008) a presença de resíduos de antibióticos pode acarretar reações alérgicas à penicilina, mesmo em pequenas quantidades; os resíduos de antibióticos poderiam atuar sobre as bactérias do ambiente e/ou presentes nos animais, selecionando amostras resistentes, o que pode prejudicar futuros tratamentos, se necessários.

3 CONCLUSÃO

De acordo com este trabalho não foi possível estabelecer uma relação entre a Contagem Bacteriana Total, a Contagem de Psicotróficos e o resultado do teste de redutase, mas mostrou evidências de que não é seguro para a indústria se basear somente no teste de redutase, por este ser um teste presuntivo qualitativo e não quantitativo, mostrando assim a importância da realização de outros testes complementares e que expressam resultados mais expressivos em termos de quantificação.

Por outro lado, como não foram realizadas outras análises para detecção de substâncias adulterantes não foi possível estabelecer se o teste de redutase, por ter apresentado um tempo alto, pode estar relacionado diretamente com a presença de inibidores. É necessário que a indústria busque alternativas, para que os resultados possam ser confiáveis. Outros testes se fazem necessários, entre eles, testes para detecção de fraude e inibidores do leite e métodos quantitativos para determinar a flora bacteriana do leite.

O fato de encontrado resultados positivos a presença inibidores mostra que há um grande problema existente nas indústrias, sendo um fator relevante quando se trata no assunto da qualidade do leite, pois o mesmo influencia na qualidade dos produtos lácteos e também para segurança alimentar dos consumidores.

REFERÊNCIAS

BEHMER, Manuel Lecy Arruda. Tecnologia do leite, SP: 13^o ed. Editora Noel, 1999.

BRITO, M.A.V.P. et al. *Qualidade do leite*. Disponível em:
<http://www.fernandomadalena.com/site_arquivos/903.pdf>. Acesso em: 09 de Nov. 2008>.

BRITO, Maria Aparecida et al. *Teste de redutase*. Brasília: Embrapa, 2007. Disponível em:
<http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Agencia8/AG01/arvore/AG01_192_21720039246.html>. Acesso em: 08 nov. 2008.

FURTADO, Múcio M. *Principais Problemas dos Queijos: Causas e Prevenção*. São Paulo: Fonte Comunicações e Editora Ltda, 2005. 200 p.

LORENZETTI, Daiane Karina. *Influência do tempo e da temperatura no desenvolvimento de microrganismos psicotróficos no leite cru de dois estados da região sul*. 2006. Dissertação

(Mestrado em Tecnologia de Alimentos)- Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR, 2006.

INSTRUÇÃO normativa 51 publicação voltada aos produtores de leite. Disponível em: <www.deputadobohngass.com.br/pt/publicacoes/instrucao.pdf/informativo> - Acesso em: 15 mai.2009.