

Qualidade microbiológica do leite cru refrigerado

Microbiological quality of chilled raw milk

Calidad microbiológica de la leche cruda enfriada

Recebido: 23/10/2020 | Revisado: 27/10/2020 | Aceito: 31/10/2020 | Publicado: 05/11/2020

Fernanda dos Santos Candido

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7663-231X>

Universidade Federal de Rondônia, Brasil

E-mail: fercandido.ta@gmail.com

Talita Oliveira Mendonça

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6739-7071>

Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Brasil

E-mail: talita.medvet18@gmail.com

Dayane da Silva Zanini

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5457-5016>

Universidade Federal de Rondônia, Brasil

E-mail: dayanezanini.medvet@gmail.com

Mayra Meneguelli

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6369-958X>

Universidade Federal de Rondônia, Brasil

E-mail: mayrameneguelli@gamil.com

Felipe Mateus Berndt

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8211-5095>

Universidade Federal de Rondônia, Brasil

E-mail: felipeberndt@hotmail.com

Igor Mansur Muniz

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0863-6647>

Universidade Federal de Rondônia, Brasil

E-mail: igor.mansur@unir.br

Resumo

Visando o padrão de qualidade Italc Alimentos, onde seus produtos estão em mais de vinte mil pontos de vendas no país e em prol da comunidade em parceria com a universidade foi

avaliado a qualidade da matéria prima que chega direto do produtor na indústria. O objetivo nesse trabalho foi analisar a qualidade microbiológica do leite cru em 27 tanques entre ordenha manual e ordenha mecânica em propriedades rurais do município de Rolim de Moura - RO. As amostras foram analisadas pelo método do número mais provável (NMP). Os resultados revelaram que 100% das amostras foram positivas para coliformes totais e 60% para coliformes termotolerantes. Havendo diferença significativa entre os tipos de ordenha, onde 50% das amostras de ordenha mecânica foram negativas para *E. coli*, nas de ordenha manuais apenas 17,64% foram negativas, evidenciando a necessidade de um maior controle de qualidade e orientação ao produtor sobre melhores técnicas de higiene.

Palavras-chave: *Escherichia coli*; Coliformes; Ordenha.

Abstract

Aiming at the Italac Food quality standard, where its products are in more than twenty thousand points of sale in the country and for the benefit of the community in partnership with the university, the quality of the raw material that arrives directly from the producer in the industry was evaluated. The objective of this work was to analyze the microbiological quality of raw milk in 27 tanks between manual and mechanical milking in rural properties in the municipality of Rolim de Moura - RO. The samples were analyzed using the most likely number (NMP) method. The results revealed that 100% of the samples were positive for total coliforms and 60% for thermotolerant coliforms. With significant difference between the types of milking, where 50% of the mechanical milking samples were negative for *E. coli*, in the manual milking only 17.64% were negative, showing the need for greater quality control and guidance to the producer on best hygiene techniques.

Keywords: *Escherichia coli*; Coliforms; Milking.

Resumen

Apuntando al estándar de calidad de Italac Alimentos, donde sus productos se encuentran en más de veinte mil puntos de venta en el país y en beneficio de la comunidad en alianza con la universidad, se evaluó la calidad de la materia prima que llega directamente del productor en la industria. El objetivo de este trabajo fue analizar la calidad microbiológica de la leche cruda en 27 tanques entre ordeño manual y mecánico en propiedades rurales del municipio de Rolim de Moura - RO. Las muestras se analizaron utilizando el método del número más probable (NMP). Los resultados revelaron que el 100% de las muestras fueron positivas para coliformes totales y el 60% para coliformes termotolerantes. Con diferencia significativa entre

los tipos de ordeño, donde el 50% de las muestras de ordeño mecánico resultaron negativas para *E. coli*, en el ordeño manual solo el 17,64% fueron negativas, evidenciando la necesidad de un mayor control de calidad y orientación al productor sobre mejores técnicas de higiene.

Palabras clave: *Escherichia coli*; Coliformes; Ordeño.

1. Introdução

A Instrução Normativa nº 76 de 26 de novembro de 2018, que regulamenta e fixa a identidade e as características de qualidade que devem apresentar o leite cru refrigerado, juntamente com a Instrução Normativa nº 77/2018, onde são definidos critérios para obtenção de leite de qualidade e seguro ao consumidor e que englobam desde a organização da propriedade, suas instalações e equipamentos.

A melhor condição de produção, obtenção, estocagem, transporte e acondicionamento nas plantas de processamento são etapas fundamentais para garantir a qualidade do leite e de seus derivados (Cerqueira, et al., 2009). Assim, a qualidade do produto final está diretamente relacionada à carga microbiológica do leite ao chegar à indústria beneficiadora (Guerreiro, et al., 2005).

Italac é uma das principais indústrias do setor lácteo do país, onde seus produtos chegam a mais de vinte mil pontos de vendas, entre varejistas, atacadistas e distribuidores. A fim de melhorar a qualidade do leite recebido de produtores rurais, visando o padrão de qualidade dos produtos, realizou-se uma parceria com a universidade para avaliar a qualidade microbiológica do leite cru refrigerado de tanques do município Rolim de Moura - RO.

Objetivou-se avaliar a qualidade microbiológica quanto ao Número Mais Provável (NMP) de coliformes a 30 °C e 45 °C, e presença de *Escherichia coli* no leite cru refrigerado de tanques pertencentes ao grupo Italac, bem como comparar a qualidade do leite cru entre tanques de ordenha mecânica em relação aos tanques ordenha manual.

2. Metodologia

Foram avaliadas amostras de leite cru refrigerado, armazenados em tanques de propriedades leiteiras, fornecedoras de matéria prima predestinadas e pertencentes ao grupo industrial mineiro do ramo de laticínios Italac, no município de Rolim de Moura – RO, entre os meses de dezembro de 2018 a fevereiro de 2019.

Procedeu-se coleta de 27 amostras de leite cru, sendo 17 oriundas de ordenha manual e 10 de ordenha mecânica. Todas coletadas diretamente do tanque de refrigeração em frasco de 50 mL com tampa rosca esterilizados, refrigeradas e encaminhadas ao Laboratório de Microbiologia da Universidade Federal de Rondônia *campus* Rolim de Moura.

O leite foi mantido sob refrigeração em caixa térmica com gelo e transportadas ao laboratório no dia da obtenção das amostras, onde foram mantidas refrigeradas em temperatura de 4°C até o momento das análises.

Para as análises das amostras, as embalagens contendo as amostras foram limpas e descontaminadas com álcool 70%. Que foram homogeneizadas e abertas sob a área de segurança do bico de Bunsen. Foram colhidos 25 mL de leite e diluídos em 225 mL de Água Peptonada 0,1% esterilizadas, onde foram efetuadas diluições seriadas até 10⁻³, procedendo com a colheita de 1000µL da diluição 10⁻¹ para tubo contendo 9 mL de Água Peptonada 10⁻² e sendo transferido 1000µL dessa diluição para um segundo tubo de 9 mL com Água Peptonada 10⁻³. Para a detecção de coliformes totais e termotolerantes, foi usado o método Número Mais Provável (Silva, et al., 2017).

O método de Número Mais Provável consiste no exame de uma série de tubos onde foram inoculados diferentes volumes das amostras. O valor obtido resulta da consulta a tabelas que foram estimadas com base em fórmulas de probabilidade (Cerqueira, 2009).

Dentro de tubos contendo Caldo Lactosado e tubos de Durham foram inoculados 1000µL das diluições 10⁻¹, 10⁻², 10⁻³, respectivamente e incubados a 37° C por 24 horas, as amostras que apresentaram produção de gás e turvação do meio foram submetidas à prova de confirmação (Nascentes & Araújo, 2012).

Para a confirmação de coliformes totais, alíquotas dos tubos positivos para a fermentação de lactose foram inoculados em Caldo Verde Brilhante Bile Lactose 2% e incubados a 35°C por 24 horas.

Para a confirmação de coliformes termotolerantes, alíquotas dos tubos positivos para a fermentação de lactose foram inoculados em Caldo Escherichia coli (EC), incubados a 45°C por 24 horas.

A partir dos tubos de Caldo EC positivos, alíquotas foram estriadas em Ágar Eosina Azul de Metileno (EMB), para o crescimento de apenas Escherichia coli (Nascentes & Araújo, 2012). Metodologia aplicada de acordo com a Associação Brasileira de Normas Técnicas.

Outro parâmetro aferido dentro das amostras foi o pH utilizando o peagâmetro de Bancada Ph2600, após a retirada a quantidade necessária da amostra para a análise microbiológica e o aparelho devidamente calibrado.

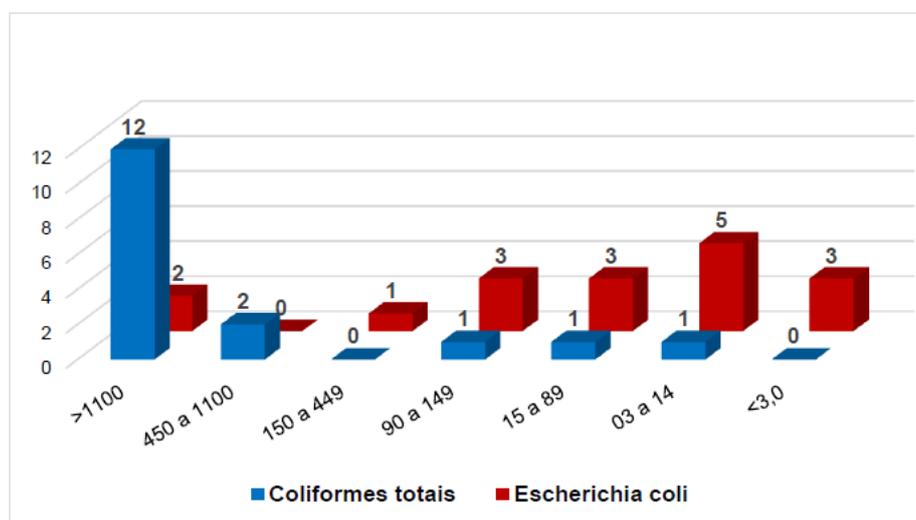
3. Resultados e Discussão

Todas amostras analisadas, tanto de ordenhas manuais como de ordenhas mecânicas, tiveram crescimento positivo para coliformes totais a 30/35°C, não havendo diferença entre os dois tipos de ordenhas.

Já em comparação aos coliformes termotolerantes como a *E. coli* das 27 amostras analisadas, 19 apresentaram o crescimento da *Escherichia coli* em ágar BEM, e 14 destas estavam nas amostras de ordenha manual.

O Gráfico 1 mostra que, das 17 amostras provenientes de ordenha manual 100% deram positivas quanto a presença de coliformes totais e 82,36% positivas para a presença da *Escherichia coli* no meio Ágar Eosina Azul de Metileno (EMB).

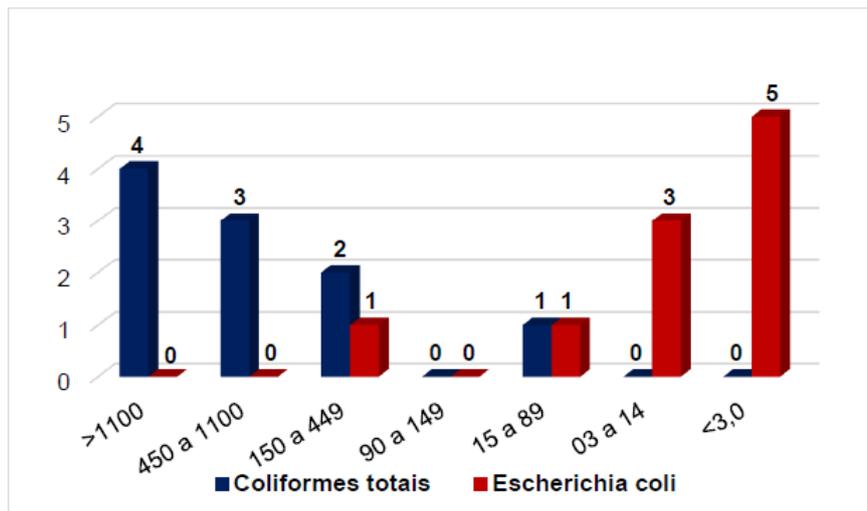
Gráfico 1 - Incidência de coliformes totais e *Escherichia coli* nas amostras de ordenha manual.



Fonte: Os autores, (2020).

Conforme o Gráfico 2, dentro das dez amostras provenientes de propriedade que utilizam de ordenha mecânica, todas apresentaram a presença de coliformes totais no meio VB, enquanto para os coliformes termotolerantes 50% tiveram a presença da *Escherichia coli*.

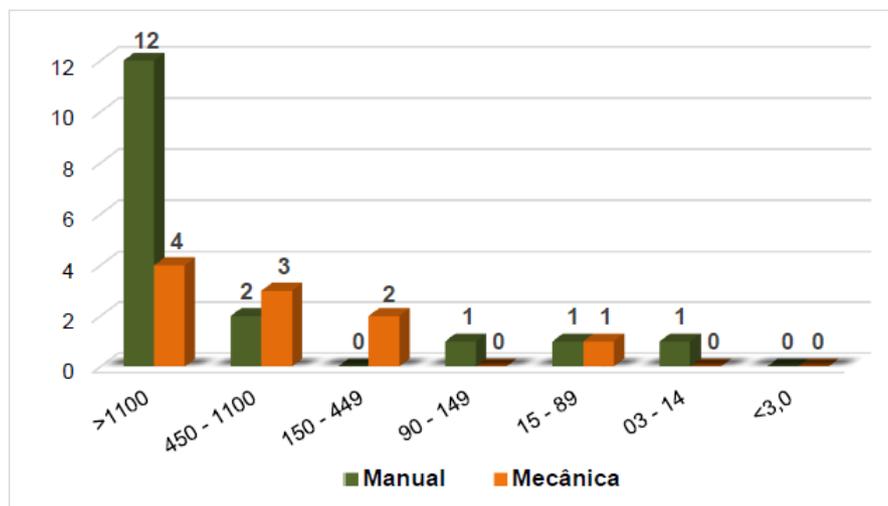
Gráfico 2 - Incidência de coliformes totais e *Escherichia coli* nas amostras de ordenha mecânica.



Fonte: Os autores, (2020).

Quando comparamos a ordenha manual e a ordenha mecânica para os coliformes totais, observamos que todas apresentaram crescimento, o que pode ser visto no Gráfico 3.

Gráfico 3 - Incidência de coliformes totais nas amostras de ordenha manual e mecânica.

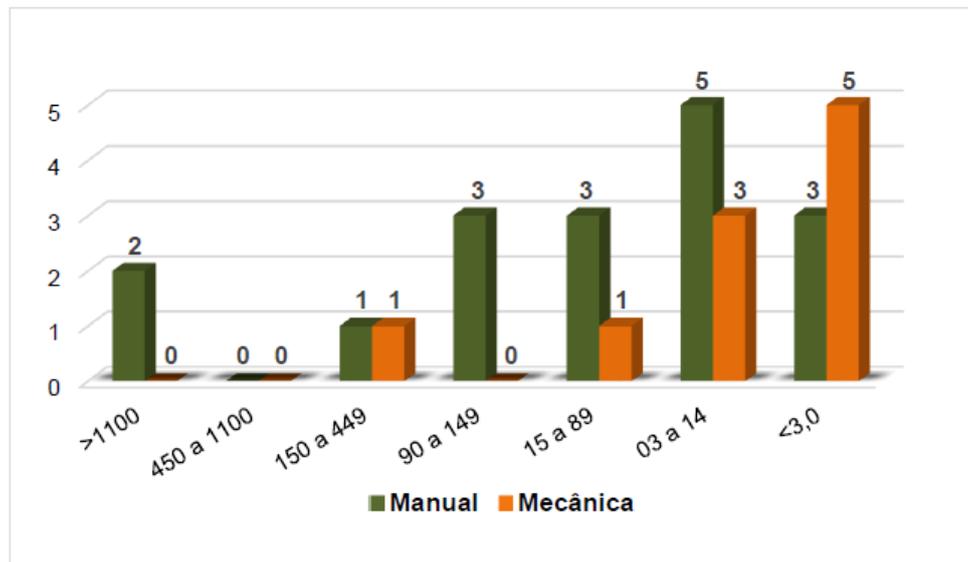


Fonte: Os autores, (2020).

O uso de ordenha mecanizada, onde o contato do leite com o meio ambiente e o ordenhador diminui as chances de contaminação do produto, porém quando levamos em conta uma higienização inadequada dessa ordenha a contaminação também se torna presente.

Já quando analisamos os resultados da ordenha manual e da ordenha mecânica para a *Escherichia coli* observamos que das dez amostras oriundas da ordenha mecânica, cinco foram negativas para o crescimento, ou seja, 50%. Conforme o Gráfico 4, quando comparamos com as oriundas da ordenha manual onde, de 17 amostras apenas três foram negativas, ou seja, igual a $\leq 3,0$ representando que apenas 17,64% das amostras de ordenha manual não tiveram crescimento pra *E.coli* no meio EMB.

Gráfico 4 - Incidência de coliformes termotolerantes (*Escherichia coli*) nas amostras de ordenha manual e mecânica.



Fonte: Os autores, (2020).

Já os valores do pH se encontraram dentro da faixa de 6,08 e 7,27, com média de 6,25 valores que revelam um pH próximo a neutro, sendo considerando um valor bom, evidenciando um padrão de temperatura sem muitas alterações, não favorecendo o crescimento microbológico.

O elevado número de microrganismos no leite cru está associado à inadequada obtenção higiênica do leite, como a possível permanência de resíduos de leite na superfície dos equipamentos (Nascentes & Araújo, 2012).

Tanto a ordenha manual quanto a mecânica, quando realizadas de forma incorreta, podem causar contaminação do leite, seja a manual pela falta de higienização do ordenhador, como a mecânica pela falta de higiene dos utensílios (Martins, et al., 2005; Netto, et al., 2009).

Em nosso trabalho, apesar das ordenhas manuais apresentarem valores altíssimos para a presença de *Escherichia coli*, comprovando grande contaminação quando comparamos com a mecânica, não elimina a contaminação das ordenhas mecânicas onde também encontramos a presença de *E. coli*, ficando evidenciada à falta de higienização adequada das teteras.

A qualidade do leite está diretamente relacionada à saúde, alimentação e manejo dos animais, com a qualificação da mão-de-obra, higiene dos equipamentos e utensílios utilizados durante a ordenha (Pinna & Lizieire, 2000). As mesmas encontradas aqui, onde foi observada a necessidade de conscientização do ordenhador quanto a saúde, sanidade do rebanho onde em algumas das propriedades visitadas o ordenhador não tinha ouvido falar sobre pré-dipping e pós-dipping.

Coliformes termotolerantes, como *E. coli*, podem alcançar os tanques de refrigeração através da contaminação fecal do úbere ou equipamentos utilizados na ordenha (Van Kessel, 2002), contaminação essa que presenciamos em algumas propriedades de ordenha manual, onde se iniciava a ordenha sem a limpeza adequada dos tetos e úbere estes apresentando resquícios de fezes e poeira.

Em pesquisa realizada por Melo et al. (2010), amostras de leite cru obtidos de duas fazendas apresentaram valores de até 23 NMP/mL de coliformes termotolerantes, valores muito distantes dos que encontramos nessa pesquisa, o que pode estar relacionado ao baixo número de amostras coletadas por Melo.

Segundo Ma et al. (2000) a qualidade do produto final está diretamente relacionada à carga microbiológica do leite ao chegar na indústria beneficiadora. A aceitação do leite fluido por parte do consumidor depende em grande parte das suas características sensoriais, tais como sabor e aroma, assim como do seu valor nutricional.

Quando avaliamos a existência de contaminações de origem fecal, a bactéria analisada é *E. coli*, usada como indicador mais específico para esse tipo de análise, porque seria o único membro do grupo dos coliformes de origem exclusivamente fecal, ao usarmos esse indicador verificamos a presença em nossas amostras, matéria prima que posteriormente irão para as indústrias para o beneficiamento e produção dos derivados, chegando ao consumidor, visto que nenhum processo de pasteurização é 100% eficaz, influenciando diretamente na qualidade do produto final (Silva, 2002; Tronco, 2008; Madappa, 2017).

4. Considerações Finais

Ficou evidenciada a presença de coliformes totais e de coliformes termotolerantes no leite cru refrigerado no município de Rolim de Moura – RO, assim como, a diferença entre a ordenha manual e mecânica, constatando-se que quanto maior a tecnificação maior qualidade do leite.

Ações educacionais e um comprometimento mais efetivo dos serviços de inspeção são importantes ferramentas a serem utilizadas como uma forma de auxiliar a melhora das condições produtivas e influenciar positivamente a qualidade do leite.

É necessário que se realizem mais trabalhos, para promover a adoção das técnicas profiláticas durante a etapa produtiva, na cadeia do leite, assim promoverá diminuições significativas na contagem total de bactérias, comprovando a importância de práticas de higiene e limpeza sobre a qualidade microbiológica do leite.

Referências

Brasil. (2004). Ministério Da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 76, de 26 de novembro de 2018. Brasília - DF, 2018.

Cerqueira, M. M. O. P.; Leite, M. O. (1995). Doenças Transmissíveis pelo Leite e Derivados. *Cadernos técnicos da escola de vet. da UFMG*, 13:39-62.

Cerqueira, M. M. O. P., Paiva, C. A. V., Leite, M. O., Fonseca, L. M., Souza, R. M., Penna, C. F. A. M. (2018). *Impacto da qualidade da matéria-prima na indústria de laticínios*, 2009. Recuperado de <http://multimedia.3m.com/mws/media/6859110/impactoqualidade-materia-prima.pdf>

Guerreiro, P. K. et al. (2005). Qualidade microbiológica de leite em função de técnicas profiláticas no manejo de produção. *Ciências Agrotécnicas*, 29(1), 216-222.

Ma, Y., et al. (2000). Effects of somatic cell count on quality and shelf-life of pasteurized fluid milk. *Journal Dairy Science*, Champaign, 83, 264-274.

Madappa, T. (2017). *Escherichia coli* (E. coli) Infections. *Medscape*. Recuperado de <
<https://emedicine.medscape.com/article/217485-overview#a5>>.

Martins, M. L. et al. (2005). Detection of the apr gene in proteolytic psychrotrophic bacteria isolated from refrigerated raw milk. *International Journal of Food Microbiology*, 102, 203-211.

Melo, B. A., Santos, T. M. C., Barbosa, Y. R. S., Moura, C. T. R., Montaldo, Y. C. (2010). Aspectos microbiológicos de amostras de leite cru coletadas no município de Major Isidoro – Alagoas. *Revista Verde De Agroecologia E Desenvolvimento Sustentável*. Paraíba, 5(5), 01-05.

Nascentes, R. M., & Araújo, B. C. DE. (2012). Comparação da qualidade microbiológica de leite cru, pasteurizado e UHT comercializados na cidade de Patos de Minas, MG. *Perquirere*, 9(1), 212–223.

Netto, A. S., et al. (2009). Estudo comparativo da qualidade do leite em ordenha manual e mecânica. *Revista do Instituto de Ciências de Saúde*, 27(9), 345-349.

Pinna, M. H., & Lizieire, R. S. (2000). Leite de qualidade. *Revista do Conselho Federal de Medicina Veterinária*, Brasília, 21, 47-51.

Silva, P. H. F. (2002). Leite: aspectos de composição e propriedades. *Química Nova na Escola*, (6), 3-5.

Silva, N., Junqueira, V. C. A., Silveira, N. F. de A., Taniwaki, M. H., Gomes, R. A. R., Okazaki, M. M. (2017). *Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água*. 560, (5a ed.), São Paulo.

Tronco, V. M. (2008). *Manual para inspeção da qualidade do leite*. Santa Maria. (3a ed.) Editora Universidade Federal de Santa Maria. 203 p.

Van Kessel, J. A. (2011). Prevalence of Salmonella enterica, Listeria monocytogenes, Escherichia coli Virulence Factors in Bulk Tank Milk and InLine Filters from US Dairies. *J. Food Prot.*, (74), 759-768.

Porcentagem de contribuição de cada autor no manuscrito

Fernanda dos Santos Candido – 40 %

Talita Oliveira Mendonça – 15%

Dayane da Silva Zanini – 15%

Mayra Meneguelli – 10%

Felipe Mateus Berndt – 10 %

Igor Mansur Muniz – 10 %