

QUANTIFICAÇÃO DE BACTÉRIAS PSICROTRÓFICAS, COLIFORMES TOTAIS E TERMOTOLERANTES E *Pseudomonas* spp. EM LEITE CRU OBTIDOS DE ORDENHA MECÂNICA E MANUAL

Karen Damasceno de Souza¹, Denise Oliveira Pacheco², Paulo César Kneib³,
 Patricia Gomes Vivian¹, Carla Mendonça³, Eliezer Ávila Gandra⁴

¹Acadêmicas do Curso de Tecnologia em Alimentos – UFPel - karen__damasceno@hotmail.com

²Mestranda em Alimentos e Nutrição – UFPel – denisepacheco.qa

³Acadêmico do curso de Zootecnia – UFPel – pauli_nho1989@hotmail.com

⁴Professor Adjunto do Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos – UFPel
 carlaufpel@hotmail.com

⁴Professor Adjunto do Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos – UFPel
 gandraea@hotmail.com

1. INTRODUÇÃO

Segundo a Instrução Normativa nº51 (BRASIL, 2002), 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. A sua disponibilidade de nutrientes, alta atividade de água e seu pH próximo da neutralidade torna o leite um meio extremamente favorável ao crescimento microbiano (JAY, 2005).

A contaminação bacteriana do leite cru pode ocorrer a partir do próprio animal, do homem e do ambiente. Do ponto de vista higiênico-sanitário, os microrganismos de maior importância são os que contaminam o leite durante e após a ordenha. Essa contaminação é variável, tanto qualitativa quanto quantitativa, em função das condições de higiene existentes (VASCONCELLOS, 2009).

Quando se mensura a qualidade microbiológica de alimentos, frequentemente se utiliza a pesquisa de micro-organismos indicadores, como os do grupo coliformes (SANTOS, 2009). A enumeração de coliformes totais é utilizada para avaliar as condições higiênicas do produto, pois, quando em alto número, indica contaminação decorrente de falha higiênica durante o processamento, limpeza inadequada ou tratamento térmico insuficiente. Já a detecção de elevado número de coliformes termotolerantes em alimentos é interpretada como indicativo da presença de patógenos intestinais (CARVALHO et al, 2005; JAY, 2005).

Bactérias do gênero *Pseudomonas* têm sido isoladas com frequência do leite e de produtos lácteos, embora não representem mais do que 10% da microbiota do leite cru recém-ordenhado. Esse gênero inclui espécies que apresentam um tempo de geração curto entre 0 °C e 7 °C, e uma temperatura mínima de crescimento baixa, de até - 10 °C (MUNMANN, 2008).

A contaminação dos produtos lácteos por bactérias psicrófilas pode originar-se do suprimento de água de qualidade inadequada, deficiências de procedimentos de higiene e mastite (ALMEIDA et al., 2008). Portanto, procedimentos de higienização empregados na cadeia produtiva do leite constituem pontos críticos para a obtenção de uma matéria-prima de alta qualidade microbiológica.

Este trabalho objetivou avaliar a qualidade microbiológica do leite cru refrigerado de duas propriedades rurais, incluindo a presença de patógenos de interesse para a saúde do consumidor, e a associação entre a contaminação

microbiana e os procedimentos de higienização dos equipamentos de ordenha e armazenamento do leite na propriedade.

2. MATERIAL E MÉTODOS

As coletas foram realizadas em duas propriedades rurais da região Sul do Rio Grande do Sul, no mês de dezembro de 2012 e janeiro de 2013. Foram coletadas amostras provenientes da ordenha mecânica e da ordenha manual. Cada amostra consistiu de cerca de 500 mL de leite, sendo que, de cada uma das ordenhas foram coletas duas amostras, retiradas da parte superior e central do tanque de refrigeração, utilizando-se frascos esterilizados. Os frascos foram transportados em caixa isotérmica com gelo até o laboratório de análise.

As análises foram realizadas no Laboratório de Microbiologia de Alimentos da Faculdade de Nutrição, Universidade Federal de Pelotas e seguiram os procedimentos propostos por Downes e Ito, (2001) e Silva et al., (1997). As amostras foram submetidas a diluições seriadas até a diluição 10^{-3} .

Para a enumeração de coliformes totais e termotolerantes foi utilizada a técnica do Número Mais Provável (NMP). A enumeração de coliformes totais foi efetuada em Ágar Violet Red Bile (VRBA), com incubação a 35°C por 48 horas. A enumeração de coliformes termotolerantes foi realizada em Caldo *Escherichia coli* (EC), com incubação a $45,5^{\circ}\text{C}$ por 48 horas.

A quantificação de *Pseudomonas* spp foi efetuada por plaqueamento em superfície no meio *Pseudomonas* Ágar Isolamento, com incubação durante 48 horas a 30°C . A análise de micro-organismos psicrótróficos foi realizada por plaqueamento em profundidade utilizando Ágar Padrão para Contagem (PCA). Os resultados foram expressos em UFC.mL⁻¹.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados para a análise de coliformes totais e termotolerantes podem ser visualizados na Fig. 1.

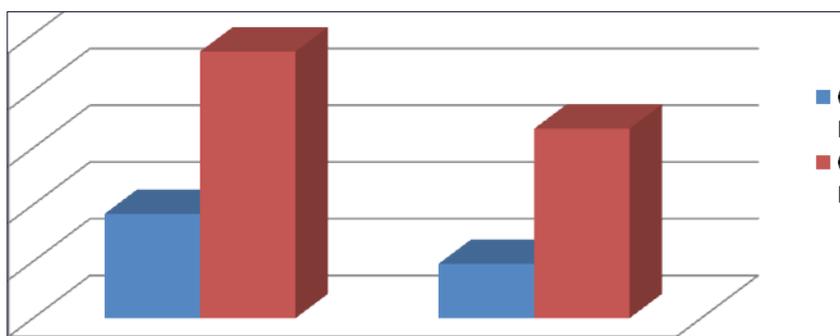


Figura 1 – Coliformes totais e termotolerantes em amostras de leite provenientes de ordenha manual e mecânica de duas propriedades rurais localizadas no sul do Rio Grande do Sul.

Ao analisar a Figura 1 fica evidente a maior contaminação, tanto por coliformes totais quanto por coliformes termotolerantes, nas amostras oriundas da ordenha mecânica. Em média, para coliformes totais as amostras apresentaram concentração de 0,92 e 2,35 Log₁₀ UFC.mL⁻¹, respectivamente, para as ordenhas

manual e mecânica. Já para coliformes termotolerantes foi de 0,48 e 1,67 Log₁₀ UFC.mL⁻¹NMP/mL, respectivamente, para as ordenhas manual e mecânica.

O resultado da enumeração de bactérias psicrotróficas está apresentado a seguir, na Fig. 2.

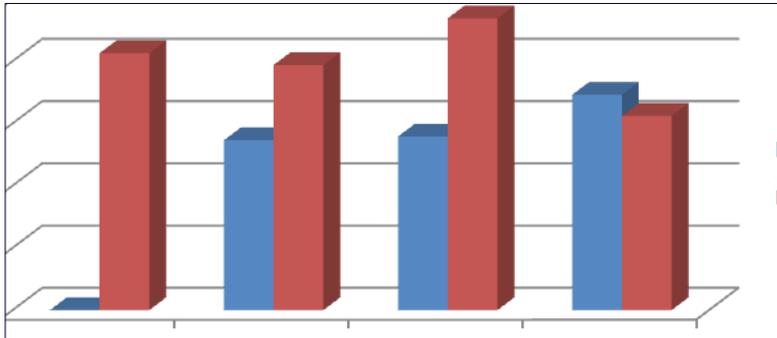


Figura 2 – Enumeração de bactérias psicrotróficas de amostras de leite provenientes de ordenha manual e mecânica de duas propriedades rurais localizadas no sul do Rio Grande do Sul.

Ao analisar a Figura 2 é possível verificar a maior contaminação das amostras de origem da ordenha mecânica, chegando a aproximadamente 5 Log UFC.mL⁻¹. Os resultados de enumeração de *Pseudomonas* spp. estão expostos na Fig. 3.

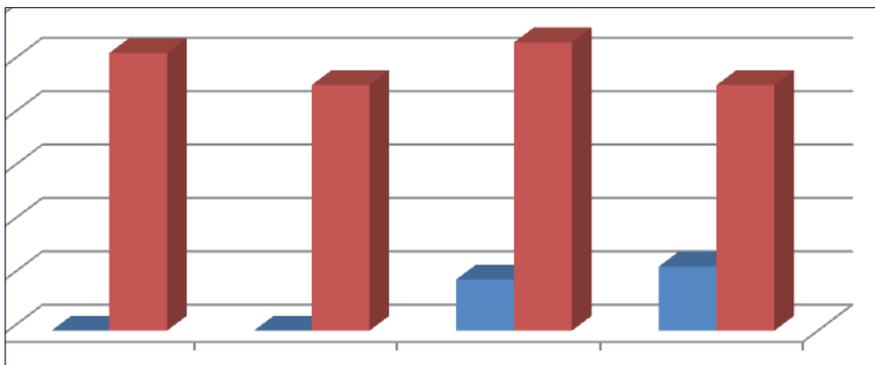


Figura 3 – Enumeração de *Pseudomonas* spp. em amostras de leite provenientes de ordenha manual e mecânica de duas propriedades rurais localizadas no sul do Rio Grande do Sul.

Analisando o gráfico acima se observa novamente a maior contaminação das amostras obtidas da ordenha mecânica, com concentrações microbianas superiores a 2,5 Log UFC/mL, enquanto as amostras provenientes ordenha manual não alcançaram 0,5 Log UFC/mL.

Fagundes et al. (2003) ao analisarem a contaminação de equipamentos de duas propriedades leiteiras, uma com higienização adequada e outra sem higienização adequada, encontraram contagens de *Pseudomonas* spp. da ordem de 4 Log UFC/cm², similar aos resultados encontrados neste trabalho

Considerando as concentrações verificadas nas amostras provenientes da ordenha mecânica fica evidenciado a existência de prováveis falhas higiênicas e

sanitárias, se considerarmos as concentrações de coliformes termotolerantes verificadas, relacionadas especificamente a esta ordenha na propriedade avaliada. Observa-se a necessidade de canalizar esforços na melhoria das condições higiênicas e sanitárias durante a ordenha (higienização de equipamentos e utensílios), o armazenamento, e na refrigeração rápida do leite. Por serem estes fatores os prováveis responsáveis pelas maiores taxas de contaminação nas amostras de leite de ordenha mecânica quando comparadas às de ordenha manual.

4. CONCLUSÃO

Foi possível enumerar coliformes totais, termotolerantes, micro-organismos psicotróficos e *Pseudomonas* spp em todas as amostras provenientes de duas propriedades rurais da região sul do Rio Grande do Sul. As amostras de leite advindas da ordenha mecânica apresentaram concentrações microbianas superiores às amostras de ordenha manual provavelmente devido a práticas inadequadas de higiene.

5. REFERÊNCIAS

- ARCURI E.F. ; BRITO M.A.V.P.; BRITO J.R.F.; PINTO S.M.; ÂNGELO F.F.; SOUZA G.N.; Arq. Bras. Med. Vet. Zootec. Belo Horizonte v.58 no.3, Jun 2006.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. INSTRUÇÃO NORMATIVA nº 62 de 19 de JANEIRO de 2012. Estabelece o Regulamento Técnico de Produção, Identidade e Qualidade do Leite Tipo A, do Leite Tipo B, do Leite Tipo C e do Leite Cru Refrigerado. ; BRASÍLIA, DF. DOU. 1988.
- ALMEIDA RODRIGUES, A C.; ARRUDA PINTO, P S.; DANTAS VANETTI, M C.; BEVILACQUA, P D.; PINTO, M S.; NERO, L.A.; Análise e monitoramento de pontos críticos no abate de frangos utilizando indicadores microbiológicos. **Ciência Rural**. Santa Maria, v.38 n.7, out 2008.
- CARVALHO, et. al., Presença de microrganismos mesófilos, psicotróficos e coliformes em diferentes amostras de produtos avícolas. **Arquivo Instituto Biologia**, São Paulo, v.72, n.3, p.303-307, jul./set., 2005.
- DOWNES, F. P., ITO, H. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. ed. Washington: American Public Health Association (APHA), 2001. 676p.
- FAGUNDES, C. M.; FISCHER, V.; SILVA, W. P. da; CARBONERA, N.; ARAÚJO, M. R. Presença de *Pseudomonas* spp em função de diferentes etapas da ordenha com distintos manejos higiênicos e no leite refrigerado. **Ciência Rural**, v.36, n.2, mar-abr, 2006.
- JAY, J. M. Microbiologia de Alimentos. 6 ed. Porto Alegre: Artmed, 2005.
- SANTOS, J. S. **Avaliação da qualidade microbiológica de carnes de frango comercializadas na cidade de Aracaju – SE**. 2009. 41f. Monografia (Especialização em Gestão da Qualidade Vigilância Sanitária em Alimentos) Universidade Federal Rural do Semi-Árido – UFERSA, Recife.
- SILVA, N; JUNQUEIRA, V; SILVEIRA, N; **Manual de métodos de análise microbiológicas de alimentos**. Varela, 544p. 1997.
- MUNMANN L.; DILKIN P.; KOWALSKI H C.; ALMEIDA A C.; MALLMANN A C.; VASCONCELLOS, F. P. **Revisão sobre a qualidade do leite no Brasil: Aspectos Físicos, Químicos e Nutritivos**. 2009. 38f. Monografia (Curso de Higiene e Inspeção em Produtos de Origem Animal). Instituto Qualitas, Campinas.