

## QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE LEITE PASTEURIZADO TIPO B COMERCIALIZADO NA CIDADE DE CURITIBA, PR

### Microbiological quality of pasteurized milk type B marketed in Curitiba, PR

Marianne Ayumi SHIRAI<sup>1\*</sup>

Tahis Regina BAÚ<sup>2</sup>

Ramon Delano de ASSUNÇÃO<sup>3</sup>

Maria Lucia MASSON<sup>4</sup>

#### SUMÁRIO

O objetivo deste trabalho foi verificar a qualidade microbiológica de leite pasteurizado tipo B comercializado na cidade de Curitiba, PR, durante o período de vida útil. Nas amostras coletadas aleatoriamente em mercados, no momento em que eram colocados na gôndola, foram realizadas contagens de mesófilos, psicrotróficos, psicrotróficos proteolíticos e lipolíticos e a determinação da atividade de fosfatase alcalina e peroxidase. As amostras foram armazenadas sob refrigeração (5°C) e nova contagem microbiana foi feita no término do prazo de validade do produto. Os resultados indicaram que durante o prazo de validade, houve elevação na contagem de mesófilos em 4 amostras. Em 7 amostras verificou-se a multiplicação de psicrotróficos.

**Termos para indexação:** pasteurização; psicrotróficos; proteólise; lipólise.

#### 1 INTRODUÇÃO

O leite, devido sua composição, constitui um excelente meio de cultura para multiplicação de micro-organismos (FRANCO & LANGRAF, 1996), podendo ter importante participação na veiculação das doenças transmitidas por alimentos. A qualidade do leite pasteurizado é dependente da forma de obtenção da matéria-prima, carga microbiana do produto antes do tratamento térmico e condições de armazenamento do produto após pasteurização (ZYGOURA et. al, 2004).

O controle microbiológico em amostras de leite é realizado, principalmente, por meio da pesquisa de micro-organismos que, quando presentes, podem fornecer informações relevantes sobre as condições sanitárias da produção, processamento ou armazenamento. Os principais micro-organismos envolvidos na contaminação do leite são bactérias, vírus, bolores e leveduras.

O leite pode proporcionar o desenvolvimento de dois grandes grupos de bactérias: as mesófilas e psicrotróficas. Segundo o ICMSF (1980), mesófilos são os microrganismos capazes de se multiplicar em temperaturas ótimas na faixa de 30-45°C e os psicrotróficos na faixa de 25-30°C, além de se multiplicarem também em temperaturas de refrigeração. Alguns microrganismos que compõe esses grupos podem ser termodúricos, resistindo ao processo de pasteurização (FONSECA & SANTOS, 2000).

A pasteurização do leite tem como objetivo principal eliminar os microrganismos patogênicos que possam contaminar o leite, tornando-o um produto inócuo ao consumo humano. Este processamento térmico também tem por finalidade aumentar a vida de prateleira do alimento, reduzindo as alterações microbiológicas e enzimáticas do produto. A legislação brasileira estabelece que a pasteurização deve ser realizada

1 Programa de Pós-graduação em Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Paraná, Centro Politécnico, Caixa Postal 19011, CEP 81531-980, Curitiba – PR. Fone: (41) 3361-3232. e-mail: marianneshirai@yahoo.com.br.

2 Programa de Mestrado e Doutorado em Ciência de Alimentos, Universidade Estadual de Londrina, Londrina – PR. e-mail: tahisbau@yahoo.com.br.

3 Discente do curso de Engenharia Química, Universidade Federal do Paraná, Centro Politécnico, Curitiba – PR. e-mail: delano@ufpr.br.

4 Docente do Programa de Pós-graduação em Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Paraná, Curitiba – PR. e-mail: masson@ufpr.br.

\* Autor para correspondência.

submetendo o leite a temperaturas entre 72°C a 75°C por 15 a 20 segundos (BRASIL, 2002). 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).

Os produtos lácteos pasteurizados podem conter, ainda, muitos microrganismos vivos capazes de se multiplicarem, o que limita sua vida de prateleira. Por isso a pasteurização deve ser combinada com outros métodos de conservação, sendo que muitos produtos pasteurizados são estocados sob refrigeração, como é o caso do leite (POTTER & HOTCHKISS, 1995).

A conservação do leite cru em temperaturas de refrigeração, por períodos prolongados, pode resultar em perda de qualidade, que está associada ao crescimento de bactérias psicrotróficas. Essas bactérias produzem enzimas extracelulares, como proteases e lipases, que são termorresistentes, e atividade residual mesmo na ausência de células bacterianas viáveis (GRIFFITHS et al., 1981; PATEL et al., 1983; MUIR, 1996; CHEN et al., 2003). Com o aumento da proteólise há uma redução no valor econômico do leite pelo seu impacto negativo sobre as proteínas funcionais, especialmente a caseína (MA et al., 2003). O desenvolvimento de altos níveis de ácidos graxos livres devido à lipólise transmite sabor ranço em produtos lácteos e no leite pasteurizado, tornando-os sensorialmente inaceitáveis pelo consumidor (MA et al., 2000).

A contaminação pós-pasteurização do leite e produtos lácteos está geralmente associada à limpeza deficiente dos equipamentos para embalagem ou contaminação por meio do ar. Embalagens contaminadas, assim como contaminação aérea, podem ser fontes consideráveis de psicrotróficos no leite após a pasteurização e, desta forma, contribuir para a redução da vida de prateleira do leite e derivados (SANTOS & FONSECA, 2002).

As contagens microbianas elevadas no leite pasteurizado podem indicar alta carga bacteriana na matéria prima ou permanência do produto em temperatura inadequada (não refrigeração, refrigeração deficiente ou baixa taxa de refrigeração), manipulação inadequada, equipamentos e plantas de processamento não sanitizadas ou sanitizados inadequadamente e pasteurização deficiente (ROGICK, 1987).

O objetivo deste trabalho foi avaliar a qualidade microbiológica de amostras de leite pasteu-

rizado comerciais durante o seu tempo de vida útil, na cidade de Curitiba, Paraná.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

Foram coletadas 10 amostras de leite pasteurizado tipo B, de diferentes marcas (n=10), em duplicata, no comércio de Curitiba – PR, no período de outubro a novembro de 2009. As amostras foram coletadas no momento em que eram colocados nas gôndolas dos supermercados e imediatamente analisados ( $T_i$ ) no Laboratório de Tecnologia de Alimentos, da Universidade Federal do Paraná. As amostras foram transportadas em caixa de isopor para o laboratório e armazenadas sob refrigeração (5°C) e analisadas no término do prazo de validade, conforme informações da embalagem ( $T_p$ ).

As contagens de mesófilos e de psicrotróficos foram realizadas em ágar padrão – PCA (Difco) com incubação a 35°C/48 horas e a 7°C/10 dias respectivamente (SILVA et al., 2007). Os psicrotróficos proteolíticos foram determinados em ágar padrão – PCA (Difco) suplementado com 10% de leite em pó desnatado e incubação a 7°C/10 dias (FRANK et al., 1992). A contagem de psicrotróficos lipolíticos foi feita em Agar tributirina, com incubação a 7°C/10 dias (FRANK et al., 1992). A atividade da enzima fosfatase alcalina e da peroxidase foi feita conforme métodos analíticos para leite e produtos lácteos da Instrução Normativa nº 68 de 2006 do MAPA (BRASIL, 2006).

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em todas as amostras analisadas, a atividade da enzima fosfatase alcalina foi negativa e da peroxidase foi positivo, estando de acordo com os padrões estabelecidos pela Instrução Normativa nº 51 do Ministério da Agricultura para o leite pasteurizado (BRASIL, 2006).

Na Tabela 1 serão apresentados os resultados referentes às contagens de mesófilos, psicrotróficos, psicrotróficos proteolíticos e lipolíticos em amostras comerciais de leite pasteurizado.

A contagem inicial de mesófilos nas amostras de leite pasteurizado variou de  $5,6 \times 10^2$  a  $8,9 \times 10^4$  UFC.mL<sup>-1</sup>. A Instrução Normativa nº 51 do Ministério da Agricultura estabelece que este tipo de produto deve apresentar contagem máxima de  $8,0 \times 10^4$  UFC.mL<sup>-1</sup>, sendo que apenas uma amostra apresentou contagem superior ao limite máximo recomendado. Após o período de armazenamento, 7 amostras mantiveram-se com contagens dentro do estabelecido pela legislação, variando de  $9,0 \times 10^2$  a  $7,8 \times 10^3$  UFC.mL<sup>-1</sup>. Para as demais, a contagem foi significativamente maior podendo representar risco a saúde do consumidor.

**Tabela 1** – Contagens de Mesófilos e Psicotróficos em amostras de leite pasteurizado tipo B durante o período de vida útil, comercializados na cidade de Curitiba, PR.

Amostras	Contagem de Mesófilos (UFC.mL <sup>-1</sup> )		Contagem de Psicotróficos (UFC.mL <sup>-1</sup> )					
			Total		Proteolíticos		Lipolíticos	
	Ti	Tf	Ti	Tf	Ti	Tf	Ti	Tf
A	6,6 x10 <sup>3</sup>	2,7 x10 <sup>4</sup>	4,5 x10 <sup>1</sup>	5,9x10 <sup>4</sup>	<10 <sup>1</sup>	1,4 x10 <sup>4</sup>	1,0 x10 <sup>1</sup>	5,0 x10 <sup>3</sup>
B	4,5 x10 <sup>3</sup>	6,9 x10 <sup>3</sup>	5x10 <sup>1</sup>	1,7 x10 <sup>4</sup>	2 x10 <sup>1</sup>	1,6 x10 <sup>4</sup>	<10 <sup>1</sup>	1,0 x10 <sup>4</sup>
C	2,1 x10 <sup>3</sup>	7,8 x10 <sup>3</sup>	4 x10 <sup>1</sup>	3,5 x10 <sup>3</sup>	<10 <sup>1</sup>	1,1 x10 <sup>3</sup>	6,0 x10 <sup>1</sup>	4,0 x10 <sup>3</sup>
D	2,8 x10 <sup>3</sup>	6,3 x10 <sup>3</sup>	<10 <sup>1</sup>	9,0 x10 <sup>2</sup>	1 x10 <sup>1</sup>	6,0 x10 <sup>1</sup>	<10 <sup>1</sup>	2,0 x10 <sup>3</sup>
E	8,9 x10 <sup>4</sup>	1,0 x10 <sup>6</sup>	1,2 x10 <sup>4</sup>	8,9 x10 <sup>5</sup>	<10 <sup>1</sup>	1,0 x10 <sup>4</sup>	<10 <sup>1</sup>	1,0 x10 <sup>4</sup>
F	7,3 x10 <sup>2</sup>	4,0 x10 <sup>5</sup>	6,6 x10 <sup>1</sup>	1,6x10 <sup>5</sup>	1,6 x10 <sup>1</sup>	2,8 x10 <sup>4</sup>	1,5 x10 <sup>1</sup>	3,4 x10 <sup>3</sup>
G	5,6 x10 <sup>2</sup>	2,3 x10 <sup>5</sup>	1,1 x10 <sup>2</sup>	3 x10 <sup>4</sup>	1,3 x10 <sup>2</sup>	4,0 x10 <sup>4</sup>	1,5 x10 <sup>1</sup>	2,7 x10 <sup>3</sup>
H	9,4 x10 <sup>2</sup>	9,7 x10 <sup>2</sup>	<10 <sup>1</sup>	<10 <sup>1</sup>	<10 <sup>1</sup>	<10 <sup>1</sup>	<10 <sup>1</sup>	<10 <sup>1</sup>
I	7,3 x10 <sup>4</sup>	1,0 x10 <sup>3</sup>	<10 <sup>1</sup>	<10 <sup>1</sup>	<10 <sup>1</sup>	<10 <sup>1</sup>	<10 <sup>1</sup>	<10 <sup>1</sup>
J	7,7 x10 <sup>4</sup>	9,0 x10 <sup>2</sup>	<10 <sup>1</sup>	<10 <sup>1</sup>	<10 <sup>1</sup>	<10 <sup>1</sup>	<10 <sup>1</sup>	<10 <sup>1</sup>

No trabalho de Zocche et al. (2002), a contagem de mesófilos em amostras de leite pasteurizado comercializados na região oeste do Paraná apontou que os produtos estavam em conformidade com a legislação. Segundo Leite Júnior et al. (2000), em João Pessoa-PB não observaram nenhuma amostra de leite fora do padrão para o mesmo grupo de micro-organismos. Entretanto, Carvalho et al. (2004), em trabalho realizado em Patos-PB, obtiveram 83,3% acima do recomendado para contagem de mesófilos no leite pasteurizado tipo C.

A contagem elevada de mesófilos no leite pasteurizado pode significar matéria prima com alta contaminação, equipamentos não sanitizados, pasteurização deficiente e exposição do produto nas gôndolas em temperatura inadequada, ou seja, acima de 7°C, conforme recomendado pela IN nº 51.

A contagem total de psicotróficos no tempo inicial variou de <10<sup>1</sup> a 1,2 x 10<sup>4</sup> UFC.mL<sup>-1</sup>. A legislação brasileira não estabelece uma contagem para psicotróficos em leite pasteurizado e leite cru. Constatou-se que em três amostras não foi observado o desenvolvimento de psicotróficos, corroborando com os de psicotróficos proteolíticos e lipolíticos. Ao final do prazo de validade do produto, observou-se que as amostras que apresentaram contagens de psicotróficos tinham uma contagem de mesófilos acima de 10<sup>3</sup> UFC.mL<sup>-1</sup>. Isso favoreceu também a proteólise e lipólise verificada pelo desenvolvimento de psicotróficos proteolíticos e lipolíticos. Logo, o leite pasteurizado com alta contagem de mesófilos incentivou a proteólise e lipólise durante o armazenamento refrigerado.

A contagem de psicotróficos proteolíticos e lipolíticos nas amostras de leite ao final da vida de prateleira variou de <10<sup>1</sup> a 2,8 x 10<sup>4</sup> UFC.mL<sup>-1</sup>. Em estudo similar, Cardoso (2006), encontrou contagem média de micro-organismos psicotróficos lipolíticos de 6,3x10<sup>4</sup> UFC.mL<sup>-1</sup> em leite cru utilizado na fabricação de queijo Minas frescal. Zocche et al. (2002), verificaram que em relação à contagem de psicotróficos, 68,8% das amostras de leite pasteurizado tipo C apresentavam-se abaixo de 10<sup>2</sup> UFC.mL<sup>-1</sup>.

A legislação brasileira não estabelece limites para a presença de psicotróficos no leite pasteurizado, entretanto a multiplicação destes está associado a diversos problemas de qualidade dos produtos lácteos, como redução da vida de prateleira, alteração de sabor e odor do leite, redução do rendimento industrial na fabricação de queijos e geleificação do leite longa vida (SØRHAUG & STEPANIAK, 1997).

#### 4 CONCLUSÃO

Conclui-se que leite pasteurizado, com alta contagem de mesófilos, favorece o desenvolvimento de psicotróficos com conseqüente proteólise e lipólise que podem provocar diversos problemas de qualidade no leite e seus derivados.

Portanto, a ordenha, o processamento e o armazenamento adequado são fundamentais para obter um produto lácteo com boa qualidade microbiológica.

#### SUMMARY

The aim of this work was to evaluate the

microbiological quality of pasteurized milk type B marketed in Curitiba city, state of Paraná, Brazil, during his shelf-life. The samples were collected randomly in commercial establishments when they were placed on the shelf and the count of mesophilic, psychrotrophic, proteolytic and lipolytic psychrotrophic microorganisms and determination of alkaline phosphatase and peroxidase were done. The milk samples were cold stored (5°C) and a new microbiological count was done in the end of shelf life. The results show that during the period of validity, there was an increase in the count of mesophiles in 4 samples. In 7 samples there was multiplication of psychrotrophic.

**Indexterms:** pasteurization; psychrotrophs; proteolysis; lipolysis.

#### AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem o apoio financeiro da CAPES e do CNPq.

#### 5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal. Instrução Normativa nº 51, de 18 de setembro de 2002. Coleta de leite cru refrigerado e seu transporte a granel. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, n. 172, p. 8-13, 20 set. 2002 a. Seção I.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal. Instrução Normativa nº 68, de 12 de dezembro de 2006. Métodos analíticos oficiais físico-químicos para controle do leite e produtos lácteos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, p. 8, 14 dez. 2006. Seção I.
- CARDOSO, R. R. **Influência da microbiota psicrotrofica no rendimento de queijo minas frescal elaborado com leite estocado sob refrigeração**. 43 f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia agrícola), Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2006.
- 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**, v. 18, n. 123, p. 62-66, 2004.
- CHEN, L.; DANIEL, R. M.; COOLBEAR, T. Detection and impact of protease and lipase in milk powders. **International Dairy Journal**, v. 13, p. 255-275, 2003.
- ICMSF. **Ecologia Microbiana de los Alimentos 1: factores que afectan a la supervivencia de los microorganismos en los alimentos**, Zaragoza, Acibia, 1980, 332p.
- 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**, v. 14, n. 74, p. 45-49, 2000.
- FONSECA, L. F. L.; SANTOS, M. V. Qualidade microbiológica do leite. In: Qualidade do Leite e Controle de Mastite. São Paulo: Lemos Editorial, 2000, p. 151-161.
- FRANCO, B. D. G. M.; LANGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Atheneu, 1996. 182 p.
- FRANK, J. F.; CHRISTEN, G. L.; BULLERMAN, L. B. Tests for groups of microorganisms. In: RICHARDSON, G. H. Standards methods for the examination of dairy products. 16 ed., p. 189-201, 1992.
- GRIFFITHS, M. W.; PHILIPS, J. D.; MUIR, D. D. Thermostability of proteases and lipases from a number of species of psychrotrophic bacteria of dairy origin. **Journal of Applied Bacteriology**, v. 50, p. 289-303, 1981.
- MA, Y.; RYAN, C.; BARBANO, D. M.; GALTON, D. M.; RUDAN, M. A.; BOOR, K. J. Effects of somatic cell count on quality and shelf-life of pasteurized fluid milk. **Journal of Dairy Science**, v. 83, p. 264-274, 2000.
- MA, Y.; BARBANO, D. M.; SANTOS, M. Effect of CO<sub>2</sub> addition on raw milk on proteolysis and lipolysis at 4°C. **Journal of Dairy Science**, v. 86, p. 1616-1631, 2003.
- MUIR, D. D. The shelf-life of dairy products: 1. Factors influencing raw milk and fresh products. **Journal of the Society of Dairy Technology**, v. 49, p. 24-50, 1996.

- PATEL, T. R.; BARTLETT, F. M.; HAMID, J. Extracellular heat-resistant proteases of psychrotrophic *Pseudomonas*. **Journal of Food Protection**, v. 46, p. 90-94, 1983.
- POTTER, N. N.; HOTCHKISS, J. H. Milk and milk products. In: Food science. New York: Chapman and Hall. 1995. p. 279-315.
- PRATA, L. F. **Fundamentos de ciência do leite**. Jaboticabal: FUNEP/UNESP, 2001.
- ROGICK, F. A. Produção higiênica do leite. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 37, n. 221, p. 35-38, 1987.
- SANTOS, M. V.; FONSECA, L. F. L. Composição e propriedades físico-químicas do leite. **Curso on-line sobre monitoramento da qualidade do leite**, módulo 1. Instituto Fernando Costa – Milkpoint, 2002.
- SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A.; TANIWAKI, M. H.; SANTOS, R. F. S.; GOMES, R. A. R. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. São Paulo: Varela, 3 ed, 2007. 552 p.
- SØRHAUG, T.; STEPANIAK, L. Psychrotrophs and their enzymes in milk and dairy products: quality aspects. **Trends in Food Science and Technology**, v. 8, p. 35-40, 1997.
- ZOCHE, F.; BERSOT, L. S.; BARCELLOS, V. C.; PARANHOS, J. K.; ROSA, S. T. M.; ZYGOURA, P.; MOYSSIADI, T.; BADEKA, A.; KONDYLI, E.; SAVVAIDIS, I.; KONTOMINAS, M.G. Shelf life of whole pasteurized milk in Greece: effect of packaging material. **Food Chemistry**, v. 87, 2004.