Análise microbiológica e físico-química de bebida láctea pasteurizada, sem adição, comercializada no Distrito Federal

Priscila Moura Ferreira^{1*}, Emanuel Pereira Couto², Jaqueline Ribeiro³, Márcia de Aguiar Ferreira⁴

¹*Aluna de Graduação do curso de Medicina Veterinária – Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária (FAV) – Universidade de Brasília, DF.*

²*Mestrando em Medicina Veterinária, Programa de Pós-Graduação em Ciências Animais- FAV – Universidade de Brasília, DF.*

³*Técnica do Laboratório de Análises de Leite e Derivados – FAV - Universidade de Brasília, DF*

⁴*Professora Adjunto. Disciplinas de Inspeção e Tecnologia de Leite e Derivados – Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária – Universidade de Brasília, DF.*

*Autor para correspondência, E-mail: primoura@gmail.com.

RESUMO. A bebida láctea pasteurizada é uma forma rentável de aproveitamento do soro proveniente da fabricação de queijos. Neste estudo, 20 amostras de bebida láctea pasteurizada, sem adição, foram analisadas com o objetivo de avaliar a qualidade do produto comercializado no Distrito Federal. Como não existem padrões estabelecidos pela ANVISA para esse derivado, os resultados obtidos foram avaliados a partir dos critérios existentes para o leite pasteurizado e com os estabelecidos na legislação do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade, da Instrução Normativa 16/2005). As análises microbiológicas demonstraram que: 30% das amostras estavam com contagens de aeróbios mesófilos superiores à permitida; 35% com contagens de coliformes totais acima do estabelecido e 5% em desacordo quanto às contagens de coliformes termo-tolerantes; ainda, 35% das amostras apresentaram desenvolvimento de bolores e leveduras. Nas análises físico-químicas, 25% das amostras estavam em desacordo quanto aos teores de gordura e todas se apresentaram de acordo com os padrões para teor de lactose. Na pesquisa das enzimas todas as amostras foram positivas para peroxidase e negativas para fosfatase alcalina, indicando que a expressiva quantidade de amostras com contaminações excessivas (60%) pode ser atribuída a recontaminações pós-processamento. Outras análises realizadas foram: sólidos não gordurosos (média de 8,46%); densidade (média de 1,031g/mL); pH (média de 6,92); acidez Dornic (média de 16,5°D) e lactose (média de 4,98%). A partir dessa pesquisa, observa-se que há necessidade da inclusão de critérios para classificação desse derivado nas normas da ANVISA e maior rigor no processamento e beneficiamento industrial, visando a oferta de um alimento inócuo para os consumidores.

Palavras chave: aeróbios mesófilos, coliformes, derivados do leite.

Microbiological and physical chemical analysis of pasteurized milk drinks without addition, commercialized in Distrito Federal, Brazil

ABSTRACT. Pasteurized dairy drink is an inexpensive way to use the milk whey. In this study, 20 samples of pasteurized milk drink unflavored sold in Distrito Federal were tested to assess whether they were in accordance with the product standards, set by RTIQ (IN 16/2005). As there are no standards established by ANVISA for this derivative, the results were evaluated from the existing pasteurized milk and those set out in legislation the Ministry of Agriculture and Livestock Supplies (Technical Regulation of Identity and Quality of Instruction criteria 16/2005). Microbiological analysis showed that: 30% of samples were with mesophilic aerobic counts higher than permitted; 35% were with total coliform above the established and 5% in disagreement with the counts of fecal coliform; 35% of the samples

showed growth of molds and yeasts. According to physico-chemical analysis, 25% of samples were in disagreement on the fat and all samples performed according to the standards for lactose content. The analysis of enzymes showed that all samples were positive to peroxidase and negative to alkaline phosphatase, indicating that a significant number of samples with excessive contamination (60%) can be attributed to post-processing recontamination. Other analyzes were: not greasy solids (average 8.46%); density (average 1.031g/ml); pH (mean 6.92); Dornic acidity (average 16.5°D) and lactose (average 4.98%). From this research, it is observed that there is need to include criteria for the classification of pasteurized dairy drink to the rules of ANVISA and greater accuracy in processing and industrial processing, aiming at offering an innocuous food for consumers.

Keywords: Mesophilic aerobic, coliforms, dairy.

Introdução

A bebida láctea pasteurizada é definida pela legislação brasileira como sendo um produto lácteo resultante da mistura do leite (*in natura*, pasteurizado, esterilizado, UHT, reconstituído, concentrado, em pó, integral, semidesnatado ou parcialmente desnatado e desnatado) e soro de leite (líquido, concentrado e em pó) adicionado ou não de produto(s) ou substância(s) alimentícia(s), gordura vegetal, leite(s) fermentado(s), fermentos lácteos selecionados e outros produtos lácteos. A base láctea representa pelo menos 51% massa/massa (m/m) do total de ingredientes do produto (BRASIL, 2005).

A produção dessa bebida é uma forma racional de aproveitamento do soro de queijo para retorno à cadeia humana de forma palatável, sem prejuízo ao meio ambiente, pois o soro do queijo, se descartado sem tratamento, pode ser um potente agente poluidor. Outra vantagem é a redução no preço final para o consumidor, um reflexo do baixo custo de produção para o fabricante (Abreu, 2005 & Luiz, 2008; Barbosa et al., 2010).

A bebida láctea pasteurizada, sem adição, possui um posicionamento no mercado muito semelhante ao leite, ou seja, a embalagem e termos utilizados são muito parecidos. Desse modo, não há uma distinção clara entre esses produtos o que pode induzir o consumidor a considerá-los produtos semelhantes. Entretanto, há diferenças na composição, especialmente em relação às frações protéicas, já que no leite predomina a caseína – que é uma proteína estrutural – e na bebida láctea pasteurizada há maior quantidade de proteínas do soro. Ainda na bebida láctea, observa-se uma redução da gordura saturada e colesterol quando

comparada ao leite integral. Essa redução é devida à maior quantidade de soro (Carvalho, 2003; Thamer & Penna, 2006; Siminonato, 2008).

O mercado de bebida láctea tem apresentado crescimento considerável e, conseqüentemente, observa-se um interesse por pesquisas que avaliem a sua qualidade. Entretanto, na literatura científica, observa-se que a maioria das pesquisas está centralizada em bebidas lácteas fermentadas, sendo escassos os trabalhos sobre a qualidade da bebida láctea pasteurizada sem adição (Tebaldi et al., 2007; CaldeiraA et al., 2010).

Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar a qualidade microbiológica e físico-química das bebidas lácteas pasteurizadas, sem adição, comercializadas no Distrito Federal e sua conformidade com os padrões vigentes.

Material e Métodos

Origem e tratamento das amostras

As amostras foram adquiridas de pontos de venda do Distrito Federal (n=20), acondicionadas em caixas isotérmicas e transportadas para o Laboratório de Análises de Leite e Derivados, da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, da Universidade de Brasília, para análises em período inferior a três horas. Todas as amostras foram homogeneizadas por inversão da embalagem (20 vezes) e realizada assepsia com álcool iodado; em seguida, foram coletadas alíquotas para análises microbiológicas (10 mL) em tubos estéreis e o volume restante foi submetido às análises físico-químicas e enzimáticas.

Análises microbiológicas

Alíquotas de 1,0 mL foram transferidas para tubos contendo 9,0 mL de solução salina estéril a 0,85%, obtendo-se diluição 10^{-1} . A partir dessa diluição foram realizadas diluições subsequentes até 10^{-4} , homogeneizadas com o auxílio do vórtex e semeadas para pesquisa de aeróbios mesófilos (AM), coliformes totais (CT), coliformes termotolerantes (CTt) e bolores e leveduras (YM).

Para contagem de AM, utilizou-se a metodologia preconizada pela Instrução Normativa 62/2003 com semeadura em Ágar Padrão para Contagem (Acumedia®) e incubação a 35°C por 48 horas. Os resultados foram expressos em Unidades Formadoras de Colônia (UFC/mL) (BRASIL, 2003).

Para enumeração de CT ou coliformes a 35°, as amostras foram semeadas em Caldo Verde Brilhante Bile 2% Lactose (CVBBL) (Acumedia®), com incubação a 35°C por 24-48 horas. Consideraram-se positivos os meios que apresentaram turvação e formação de gás nos tubos de Durham. Os resultados foram expressos em NMP/mL e calculados conforme o Anexo III da IN 62/2003 (BRASIL, 2003).

Para a enumeração de CTt ou coliformes a 45°, a partir dos tubos positivos no CVBBL, realizou-se semeadura em caldo EC (Acumedia®) e em caldo Triptona (Acumedia®), com incubação a 45°C ($\pm 0,5^\circ\text{C}$), por 24-48 horas em banho-maria. Considerou-se como resultados positivos a presença de gás no tubo de Durham no caldo EC e a formação de anel vermelho (indol positivo) no caldo Triptona após a adição de 0,3mL de reativo de Kovacs. Os resultados foram expressos em NMP/mL, e calculados conforme o Anexo III da IN 62/2003 (BRASIL, 2003).

Para a análise de bolores e leveduras foi utilizado o sistema Petrifilm™YM, semeando-se 1,0mL da diluição 10^{-1} com incubação à temperatura ambiente por quatro a cinco dias. Os resultados foram expressos em Unidades Formadoras de Colônias (UFC/mL).

Análises físico-químicas e enzimáticas

As análises físico-químicas foram realizadas com o auxílio de equipamento Ekomilk® para determinação dos teores de gordura, extrato seco desengordurado, proteína, lactose, densidade e valores de pH. Também foi realizada prova de

acidez pelo método Dornic. Para a avaliação da eficiência do tratamento térmico, foram pesquisadas as enzimas: fosfatase alcalina (kit Laborclin) e peroxidase conforme preconizado na IN 68/2006 (BRASIL, 2006).

Resultados e Discussão

Como as amostras utilizadas foram adquiridas no comércio do DF, a avaliação dos resultados obtidos deveria ter como base a Resolução da Diretoria Colegiada No. 12/2001 (RDC 12/2001) da ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária (BRASIL, 2001). Porém, nessa legislação não há padrões estabelecidos para a bebida láctea pasteurizada.

Por outro lado, o MAPA publicou a Instrução Normativa 16/2005 (BRASIL, 2005) aprovando o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade (RTIQ) das bebidas lácteas, cujo âmbito é referente ao produto na indústria. Esse regulamento estabelece para a bebida láctea pasteurizada, sem adição, padrões para os teores de proteína (mínimo de 1,7%) e de gordura (mínimo de 2%), além de, critérios microbiológicos para AM ($n=5$; $c=2$, $m=7,5 \times 10^4$; $M=1,5 \times 10^5$), CT ($n=5$; $c=2$; $m=5$; $M=10$) e CTt ($n=5$; $c=2$; $m=2$; $M=5$).

Entretanto, na RDC12/2001, há uma ressalva a produtos que não tenham parâmetros nessa legislação, recomendando que se considere o princípio da similaridade da natureza e do processamento, ou seja, deve-se enquadrar nos padrões estabelecidos para um produto similar. No caso da bebida láctea pasteurizada, o produto similar que poderia ser considerado para avaliação dos resultados obtidos seria o leite pasteurizado cujos critérios estabelecidos restringem-se à contagem de CTt ($n=5$; $c=1$; $m=2$; $M=4$) e detecção de *Salmonella* spp ($n=5$; $c=0$; $m=\text{ausência}$).

Assim, optou-se por apresentar a avaliação dos resultados à luz de ambas as legislações tendo em vista a ausência de um marco regulatório para o produto comercializado.

Na avaliação dos resultados das análises microbiológicas, tendo como base os padrões do leite pasteurizado contidos na RDC12/2001, uma amostra (5%) apresentou contagens de CTt acima do limite máximo (valor de M), portanto, sendo considerada imprópria para o consumo apenas 5% do total de amostras analisadas.

Na análise dos resultados obtidos tendo como base o RTIQ do MAPA, cinco amostras (25%) apresentaram-se em desacordo com os padrões estabelecidos para teores de gordura e nenhuma amostra estava em desacordo com os parâmetros para teor de proteínas. Nas análises microbiológicas, cinco amostras (25%) apresentaram contagens de AM acima do limite, sete amostras (35%) com contagens de CT elevadas e uma amostra (5%) com contagem de CTt acima dos limites estabelecidos. Portanto, ao se avaliar os resultados em relação ao RTIQ, observou-se que 60% das amostras estavam em desacordo em pelo menos um parâmetro, sendo consideradas impróprias para o consumo.

Para AM, as amostras com valores acima do limite apresentaram contagens entre $1,9 \times 10^5$ e 539×10^5 UFC/mL. A pesquisa desses micro-organismos é importante, pois diversas bactérias patogênicas pertencem ao grupo dos AM; assim, altas contagens podem indicar risco sanitário.

Para CT, as contagens acima do limite estiveram entre o intervalo de 15 até 460 NMP/mL, sendo que três amostras apresentaram valores acima de 93 NMP/mL. Altas contagens de CT indicam contaminação ambiental e possibilidade da presença de enteropatógenos. A amostra de CTt fora do padrão apresentou contagem de 15NMP/mL, indicando possibilidade de contaminação de origem fecal (Cardoso et al., 2001; Zocche et al., 2002; Tamanini et al., 2007).

Cesarino et al. (2010) afirmam que, em bebidas lácteas fermentadas, muitas vezes esses micro-organismos estão ausentes. Isso ocorre devido ao baixo pH do produto, que gera estresse nesses organismos e, portanto, não seriam detectados nas análises. Esse fato foi demonstrado por Tebaldi et al. (2007), que relataram ausência de coliformes totais em 20 amostras de bebidas lácteas fermentadas.

Apesar de não ser exigida a avaliação da contaminação por bolores e leveduras, esses micro-organismos foram pesquisados. Em sete amostras (35%) observou-se a presença desses, sendo que uma amostra apresentou contagem de 6.960 UFC/mL. Os bolores são produtores de micotoxinas que podem causar problemas à saúde, principalmente associados a fatores carcinogênicos. Deve-se ressaltar ainda que as micotoxinas são

termorresistentes, não sendo inativadas pela pasteurização (Novak et al., 2002; Feitosa et al., 2003; Tebaldi et al., 2007).

Além da avaliação dos parâmetros obrigatórios, foram realizadas outras análises que devem ser consideradas relevantes para um controle de qualidade eficiente: sólidos não gordurosos (média de 8,46%); densidade (média de 1,031g/mL); pH (média de 6,92); acidez Dornic (média de 16,5°D); e lactose (média de 4,98%). Na análise enzimática para avaliação da eficiência do tratamento térmico, todas as amostras (100%) apresentaram fosfatase alcalina negativa e peroxidase positiva. A partir dos resultados obtidos na análise enzimática, pode-se concluir que o processo de pasteurização ocorreu de forma adequada e que, a qualidade microbiológica insatisfatória de 60% das amostras pode ser devida à matéria prima altamente contaminada ou à recontaminação do produto devido à higienização inadequada de utensílios e equipamentos (Tamanini et al., 2007; Silva et al., 2008).

Tendo em vista a similaridade das médias obtidas nas análises das características físico-químicas desses produtos em relação aos padrões estabelecidos para o leite pasteurizado, considera-se que esses parâmetros poderiam ser incluídos pelos órgãos oficiais, no controle de qualidade da bebida láctea pasteurizada.

Conclusão

Como a ANVISA não estabelece critérios para avaliação da qualidade da bebida láctea pasteurizada, nesse estudo foram utilizados os critérios estabelecidos para o leite pasteurizado, com base no princípio da similaridade, e também foram utilizados os parâmetros estabelecidos pelo RTIQ da bebida láctea. A partir das amostras analisadas pode-se concluir que a bebida láctea pasteurizada, sem adição, comercializada no Distrito Federal não apresenta qualidade satisfatória, indicando falhas no controle de qualidade dos laticínios produtores e dos órgãos fiscalizadores. Tendo em vista essa ausência de marco regulatório que padronize parâmetros obrigatórios para a qualidade desse produto, faz-se necessária a adoção de critérios físico-químicos e microbiológicos pelos órgãos oficiais. Dessa forma, poderá ser validado um controle de qualidade para o produto no ponto de venda.

Referências Bibliográficas

- Abreu, L. R. Processamento do leite e tecnologia de produtos lácteos. Lavras: UFLA, 2005. p. 91-157.
- Barbosa, A.S., Araújo, A.S., Florêncio, I.M., Bezerra, R.R.A. & Florentino, E.R. Estudo cinético da fermentação do soro de queijo de coalho para produção de aguardente. *Revista Verde*, Mossoró, v. 5, n. 3, p. 237 – 254 jul.-set. 2010.
- BRASIL. Instrução Normativa nº 62 de 26 de agosto de 2003. Métodos analíticos oficiais para análises microbiológicas para controle de produtos de origem animal e água. Diário Oficial da União, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Brasília, DF, 18 set. 2003. Seção 1, p. 14.
- BRASIL. Instrução Normativa nº 68 de 12 de dezembro de 2006. Métodos Analíticos Oficiais Físico-Químicos, para Controle de Leite e Produtos Lácteos. Diário Oficial da União, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Brasília, DF, 14/12/2006, Seção 1, p. 8.
- BRASIL. Instrução Normativa nº16, de 23 de agosto de 2005. Regulamento técnico de identidade e qualidade de bebidas lácteas. Diário Oficial da União, Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento, Brasília, DF, 24 ago. 2005. Seção 1, p. 7.
- BRASIL. Resolução - RDC n. 12, de 12 de janeiro de 2001. Diário Oficial da União, Ministério da Saúde - Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), Brasília, DF, 10 jan. 2001. Seção 1, p. 45.
- Caldeira, L.A., Ferrão, S.P.B., Fernandes, S.A.A., Magnavit, A.P.A. & Santos, T.D.R. Desenvolvimento de bebida láctea sabor morango utilizando diferentes níveis de iogurte e soro lácteo obtidos com leite de búfala. *Ciência Rural*, 40, 2193-2198, 2010.
- Cardoso, A.L.S.P., Tessari, E.N.C., Castro, A.G.M., Kanashiro, A.M.I. & Gama N.M.S.Q. Pesquisa de coliformes totais e coliformes fecais analisados em ovos. *Arquivos do Instituto Biológico*, 68, 19-22, 2001.
- Carvalho, M.P. Soro de leite: uma oportunidade desperdiçada. Milk Point. out. 2003. Disponível em: http://www.milkpoint.com.br/mercado/editorial/soro-de-leite-uma-oportunidade_desperdicada-8406n.aspx >. Acesso em: 25 set. 2011.
- Cesarino, M.L.N., Soares, K.M P. & Silva, J.A. Avaliação de Parâmetros de Qualidade Microbiológica de Bebidas Lácteas Comercializadas na Cidade de Mossoró-RN, *Pubvet*, 4, n.6, 2010.
- Costa, F.N; Lima, R.M.S. & Rabelo, R.N. Comportamento frente à ação de antimicrobiano de cepas de *Staphylococcus coagulase positiva*, *Escherichia coli* e *Bacillus cereus* isolados de derivados lácteos. *Revista Higiene Alimentar*, 16, 80-83, 2002.
- Feitosa, T., Borges, M.F., Nassu, R.T., Azevedo, É.H.F. & Muniz, C.R. Pesquisa de *Salmonella* spp., *Listeria* spp. e micro-organismos indicadores higiênico-sanitários em queijos produzidos no estado do Rio Grande do Norte. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 23, 162-165, 2003.
- Luiz, L.M.P. Avaliação do envase a quente de uma bebida láctea na conservação a temperatura ambiente. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2008, 70p.
- Novak, F.R., Almeida, J.A.G., Santos, M.J.S. & Wanke, B. Contaminação do leite humano ordenhado por fungos miceliais. *Jornal de Pediatria*, 78, 197-201, 2002.
- Silva, P.H.C., Rocha, R.S., Couto, E.P. & Barros, M.A.F. Avaliação físico-química de diversos tipos de leites pasteurizados comercializados no Distrito Federal e adequação aos regulamentos técnicos. 35º Conbravet - Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária. Gramado, 2008.
- Simionato, J.I. Composição química e quantificação de ácidos graxos com ênfase ao ácido linoléico conjugado (CLA) em leite e derivados. Tese (Doutorado em Química) - Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2008. 123 p.
- Tamanini, R., Silva, L.C.C., Monteiro, A.A., Magnani, D.F., Barros, M.A.F. & Beloti, V.

Avaliação da qualidade microbiológica e dos parâmetros enzimáticos da pasteurização de leite tipo “C” produzido na região norte do Paraná. *Semina - Ciências Agrárias*, 28, 449-454, 2007.

Tebaldi, M.R., Resende, J.G.O.S., Ramalho, G.C.Á., Oliveira, T.L.C., Abreu, L.R. & Piccoli, R.H. Avaliação microbiológica de bebidas lácteas fermentadas adquiridas no comércio varejista do sul de Minas Gerais, *Ciência e Agrotecnologia*, 31, 1085-1088, 2007.

Thamer, K.G. & Penna, A.L.B. Caracterização de bebidas lácteas funcionais fermentadas por probióticos e acrescidas de prebiótico. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 26, 589-595, 2006.

Zocche, F., Bersot, L.S., Barcellos, V.C., Paranhos, J.K., Rosa, S.T.M. & Raymundo, N.K.

Qualidade microbiológica e físico-química do leite pasteurizado produzido na Região do Oeste do Paraná. *Archives of Veterinary Science*. 7, 59-67, 2002.

Recebido em Setembro 9, 2014

Aceito em Novembro 11, 2014

License information: This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.