

PESQUISA DE PSICOTRÓFICOS LIPOLÍTICOS E PROTEOLÍTICOS DO LEITE E ANÁLISE DA QUALIDADE DA ÁGUA EM PROPRIEDADES RURAIS NO EXTREMO OESTE DE SANTA CATARINA

Michelly Suzanne Zanella*

Orientadora: Prof^ª Eliandra Mirlei Rossi**

RESUMO

O leite por ser um alimento rico em nutrientes serve como um meio ideal para o crescimento de vários microrganismos e por isso torna-se altamente perecível e como o leite é refrigerado ainda na fazenda, se observa uma economia significativa de recursos financeiros com o transporte a granel, mas, com esses procedimentos, crescente importância tem sido dada ao grupo dos microrganismos psicrotróficos, apresentam capacidade de multiplicação em temperatura de refrigeração (entre zero e 7 °C), e quando presentes podem apresentar alterações dos componentes do leite em função da multiplicação e pela produção de proteases e lipases termo resistentes. O objetivo deste trabalho foi realizar contagem de bactérias psicrotróficas, bem como verificar a capacidade proteolíticas e lipolíticas dessas bactérias em leite cru refrigerado e analisar a água de propriedades rurais do extremo oeste de Santa Catarina-SC. Os procedimentos metodológicos foram efetuados no Laboratório de Pesquisa e Diagnóstico em Microbiologia da Universidade do Oeste de Santa Catarina – UNOESC, Campus São Miguel do Oeste. As coletas foram realizadas em 48 propriedades leiteiras no período de setembro de 2013 a março de 2014. Após a colheita, as amostras de leite e de água foram coletadas em frascos estéreis refrigeradas e encaminhadas, ao Laboratório para a realização das análises de acordo com a proposta pela Resolução nº 62 do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) de 2003 e pela Instrução Normativa 62. Das 48 amostras de água analisadas, 81% estavam impróprias para consumo e 19% encontravam-se dentro dos padrões estabelecidos pela Portaria Nº 2.914, DE 12 de dezembro de 2011. Das amostras de leite cru avaliadas, a contagem bacteriana total de psicrotróficos resultou em 1,88% das amostras acima de 6 log₁₀ UFC/ml. Das 48 amostras analisadas para atividade lipolítica, 66,66% apresentou atividade positiva e outros 33,33% negativo, já para atividade proteolítica, 62,5% apresentou atividade positiva e outros 37,5% negativa, sendo assim, comparativamente a atividade lipolítica deste estudo foi maior. Portanto, as autoridades, órgãos públicos e produtores de alimentos devem tomar medidas preventivas para fornecer à água e alimento de boa qualidade, tanto no meio urbano como rural, uma vez que encarregar os próprios consumidores de controlar a qualidade da água e dos alimentos pode ser um problema, pois possuem pouco conhecimento quanto aos riscos que o consumo de água e alimentos contaminados pode oferecer à saúde.

Palavras-chaves: Microrganismos. Qualidade. Consumo humano.

ABSTRACT

**Bióloga, Pós-Graduanda em Ciências Biológicas oela Universidade do Oeste de Santa Catarina em São Miguel do Oeste, autor para correspondência – michellysz@hotmail.com*

***Mestre em Microbiologia Agrícola e do Ambiente pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul em 2010; Professora orientadora da Universidade do Oeste de Santa Catarina, Campus de São Miguel do Oeste; contato: eliandra.rossi@unoesc.edu.br*

Milk to be a food rich in nutrients serves as an ideal for the growth of various microorganisms through and so becomes highly perishable. As the milk is cooled still on the farm, we observe a significant saving of financial resources with the bulk transport but with these procedures, increasing importance has been given to the group of psychrotrophic present ability to multiply in coolant temperature (between zero and 7 ° C), and when present may exhibit changes in components of the milk in the multiplication function and production of proteases and lipases term. The aim of this study was psychrotrophic bacteria as well as verify the proteolytic and lipolytic capacity of these bacteria in refrigerated raw milk and analyze water farms in the west end of Santa Catarina, SC. The methodological procedures were performed in the Research Laboratory and Diagnostic Microbiology of the University of the West of Santa Catarina - UNOESC, Campus São Miguel do Oeste. Sampling was conducted in 48 dairy farms in the period September 2013 to March 2014 After harvest, samples of milk and water were collected in sterile bottles chilled and sent to the laboratory to perform the analysis according to proposed by Resolution No. 62 of the Ministry of Agriculture, Livestock and Supply (MAPA) 2003 and the Normative Instruction 62. Of the 48 water samples analyzed, 81% were unfit for consumption and 19% were within the standards established by Ordinance N 2914, de December 12, 2011. From the raw milk samples evaluated, the total bacterial count resulted in psychotropic 1,88% of samples greater than \log_{10}^6 CFU / mL. Of the 48 samples analyzed for lipase activity, 66.66% showed positive activity and other negative 33.33%, while for proteolytic activity, 62.5% showed positive activity and other negative 37.5%, thus being compared to lipase activity this study was higher. Therefore, authorities, public agencies and food manufacturers should take preventive measures to provide water and food good quality, both in urban and rural environments, since charge consumers themselves to control the quality of water and food can be a problem, because they have little knowledge about the risks that the consumption of contaminated food and water can offer to health.

Keywords: Microorganisms. Quality. Human consumption.

1 INTRODUÇÃO

Os alimentos de origem animal ou vegetal, frescos ou processados, incluindo a água, podem veicular microrganismos patogênicos causadores de toxinfecções alimentares. Dentre os alimentos de origem animal, o leite, pela sua riqueza de nutrientes, constitui um importante meio de cultura para o desenvolvimento de um grande número de microrganismos (BERSOT et al., 2010).

No Brasil não há estatísticas sobre as DTAs, mas presume-se que o número seja maior. De acordo com a OMS (Organização Mundial da Saúde) anualmente, no mundo, 1,5 bilhão de casos de diarreia em crianças menores de 5 anos resultam em mais de 3 milhões de mortes (OMS, 2011).

A região Sul representa o segundo maior produtor de leite, onde o estado de Santa Catarina ocupa o 5º lugar na produção nacional de leite bovino (IBGE, 2011).

O leite por ser um alimento rico em nutrientes serve como um meio ideal para o crescimento de vários microrganismos e por isso torna-se altamente perecível (SWAI, SCHOONMAN, 2011), sendo que no ponto de vista de controle de qualidade, o leite e os derivados lácteos estão entre os alimentos mais testados e avaliados, principalmente devido à importância que representam na alimentação humana e à sua natureza perecível (BRITO et al., 2000), sendo assim, embora o consumo de leite cru seja baixo, este é utilizado para fabricação de diversos alimentos nos laticínios, o que consequentemente afeta a qualidade deles (LEITNER et al., 2008), onde os principais pontos de contaminação por microrganismos são latões, tanques de expansão, água residual de equipamentos, utensílios de ordenha e tetos não higienizados adequadamente (HAYES & BOOR, 2001).

Para tentar amenizar a situação, nos últimos anos, tem-se observado a prática acelerada de programas de resfriamento do produto na fazenda após a ordenha, com posterior coleta e transporte do leite em caminhões-tanque isotérmicos. Estas medidas vêm sendo incentivadas pelos laticínios, uma vez que há considerável aumento na qualidade do leite e derivados quando o leite é refrigerado na fazenda, em comparação com o leite não refrigerado coletado em latões, também se observa uma economia significativa de recursos financeiros com o transporte a granel (FONSECA & SANTOS, 2003), mas, com esses procedimentos, crescente importância tem sido dada ao grupo dos microrganismos psicotróficos, pois estes estão frequentemente envolvidos em alteração na composição físico-química do leite, são deteriorantes que apresentam capacidade de multiplicação em temperatura de refrigeração (entre zero e 7 °C), independentemente da sua temperatura ótima de multiplicação (ALMEIDA et al., 2000), e, quando presentes nos alimentos, podem apresentar alterações dos componentes do leite em função da multiplicação desses microrganismos, limitando o tempo de prateleira dos produtos lácteos, devido alterações no sabor, odor e aparência (MIGUEL et al., 2007), pela produção de proteases e lipases termo resistentes, que podem continuar atuando nos derivados lácteos mesmo após o a pasteurização (STEAD, 1986).

Embora represente menos de 10% da microbiota inicial, em condições adequadas de higiene, a população de psicotróficos pode alcançar níveis elevados com uma condição higiênica precária e/ou com um elevado número de células somáticas. Por esta razão, a contagem de psicotróficos em leite cru pode atingir mais de 90% da população bacteriana total (GARGOURI et al., 2013).

As enzimas termorresistentes, principalmente lipases e proteases, são a grande preocupação, pois reduzem rendimento de fabricação de queijos, limitam a vida de prateleira, alteram sabores, odores e aparência. As proteases possuem atividade hidrolítica em várias frações de caseína, sendo a caseína facilmente degradada, devido sua estrutura não helicoidal. A k-caseína localizada na superfície da micela de caseína quando hidrolisada causa desestabilização da micela, podendo levar a coagulação e alterações nas características organolépticas do leite. Já as lipases, podem hidrolisar os fosfolipídios presentes na camada dos glóbulos de gordura, havendo a formação de ácidos graxos livres, mono e diglicerídios, resultando em altos níveis de ácido butírico e capríco, causando o sabor de ranço no leite e seus derivados. Além disso, estima-se perda de aproximadamente 10% de proteína e gordura do leite pela presença de psicotróficos (BRITO et al., 2000; HANTSIS-ZACHAROV e HALPERN, 2007).

Sendo assim, a contaminação de alimentos por meio de microrganismos patogênicos é uma preocupação mundial e as estratégias que permitam seu controle e por consequência a colocação de produtos seguros no mercado consumido, sendo assim, a produção, preparação, distribuição, armazenamento e comercialização de alimentos, com segurança, são atividades que exigem cuidados especiais com o ambiente de trabalho, com equipamentos e utensílios, com os alimentos propriamente ditos, com os manipuladores de alimentos, com as instalações sanitárias e com o controle de pragas bem como a qualidade da água utilizada na preparação dos alimentos (SILVA, 2009).

As atividades agrícolas são as principais fontes de contaminação para águas superficiais e subterrâneas em áreas rurais, pois, a agricultura tem efeitos diretos e indiretos sobre a qualidade da superfície do solo e das águas, uma vez que essa é afetada por fatores de macro- escala como clima, paisagem e material de origem da área e microescala incluem o uso da terra e gestão no campo ou nível da exploração (ZHANG, HUANG, NIE, 2009).

Nesse sentido, dados do OMM/UNESCO (1997) mostram que aproximadamente metade da população mundial (2,6 bilhões de pessoas) não conta com serviço de saneamento básico e que uma em cada seis pessoas (cerca de 1,1 bilhões de pessoas) ainda não possui adequado sistema de abastecimento de água, sendo que as projeções da Organização das Nações Unidas (ONU) indicam que, se a tendência continuar, em 2050 mais de 45% da população mundial estará vivendo em países que não poderão garantir a cota diária mínima de 50 litros de água por pessoa, assim sendo importante o controle da qualidade das fontes existentes.

Para controlar a qualidade da água, diversos órgãos têm emitido portarias nas quais os países tem que atender os padrões determinados. A legislação brasileira que determina os padrões de qualidade da água destinada ao consumo humano é a portaria nº 2914 de 2011 (Brasil, 2011), emitida pelo Ministério da Saúde, que dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. Essa legislação determina que a água destinada ao abastecimento da população humana deve atender as características de qualidade que estejam de acordo com os valores permissíveis dos parâmetros químicos, físicos, organolépticas e microbiológicos. Especificamente na área da microbiologia essa legislação estabelece que sejam determinados, na água, para aferição de sua potabilidade, a presença de coliformes totais e termotolerantes ou *Escherichia coli*, a contagem de bactérias heterotróficas, cistos de *Giardia lamblia* e oocistos de *Cryptosporidium* spp.

Deste modo, o monitoramento da qualidade da água destinada ao consumo humano torna-se, portanto, imprescindível, principalmente das águas que abastecem vilas e ou comunidades, as quais possuem maior concentração de pessoas. Isso previne o aparecimento de várias doenças no homem, auxilia o diagnóstico das principais formas de contaminação e indica um conjunto de práticas de manejo dos recursos naturais que possibilitem o controle da contaminação e um aumento da qualidade de vida dos consumidores dessa água (CASALI, 2008).

Dessa forma, observa-se a necessidade da realização de estudos que demonstrem a qualidade do leite cru produzido nas propriedades rurais no extremo oeste de Santa Catarina, bem como possíveis fatores que possam interferir como, por exemplo, bactérias contaminantes no produto, sendo assim, o objetivo deste trabalho foi realizar contagem de bactérias psicrotóxicas, bem como verificar a capacidade proteolíticas e lipolíticas dessas bactérias em leite cru refrigerado e analisar a água de propriedades rurais do extremo oeste de Santa Catarina-SC.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Os procedimentos metodológicos foram efetuados no Laboratório de Pesquisa e Diagnóstico em Microbiologia da Universidade do Oeste de Santa Catarina – UNOESC, Campus São Miguel do Oeste. As coletas foram realizadas em 48 propriedades leiteiras no período de setembro de 2013 a março de 2014. O presente trabalho foi desenvolvido

em parceria com uma indústria de alimentos situada no estado de Santa Catarina, submetida ao controle higiênico-sanitário permanente.

2.1 COLETA DAS AMOSTRAS

Após a colheita, as amostras de leite e de água foram coletadas em frascos estéreis separadamente e imediatamente colocadas em banho de gelo, com temperatura de aproximadamente 4°C, e transportadas ao Laboratório para a realização das análises.

A metodologia para efetuar as análises microbiológicas foram realizadas de acordo com a proposta pela Resolução nº 62 do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) de 2003 e pela Instrução Normativa 62 (BRASIL, 2003).

2.2 ANALISE MICROBIOLOGICA DA ÁGUA

Posteriormente foram efetuadas as seguintes análises microbiológicas: Contagem de Coliformes Totais, Coliformes Termotolerantes e de heterotróficos, que serão realizadas pela metodologia estabelecida pela Instrução Normativa nº 62, de 26 de agosto de 2003 do Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento.

As análises microbiológicas para verificar o número mais provável de coliformes totais e termotolerantes foi realizada através do exame presuntivo para coliformes totais e termotolerantes e após isso exame confirmativo para coliformes totais e termotolerantes.

2.2.1 Exame presuntivo para coliformes totais e termotolerantes

O exame presuntivo para coliformes totais e termotolerantes foi realizado pelo método de fermentação em tubos múltiplos. Na primeira serie foi utilizado 10 mL da amostra de água e inoculados em tubos contendo Caldo Lauril Sulfato de Sódio em concentração dupla com Durhan invertido. Na segunda série foram inoculados volumes de 1mL da amostra em caldo Lauril Sulfato de Sódio em concentração simples com Durhan invertido. Posteriormente, a partir da amostra, foi preparado diluição (10^{-1}) em solução salina peptonada 0,1%. Em seguida foi inoculado 1mL desta diluição na terceira série de tubos contendo Caldo Lauril Sulfato de Sódio em concentração simples com Durhan invertido.

Os tubos foram incubados a $36\pm 1^{\circ}\text{C}$ por 24-48 horas. A suspeita de coliformes foi indicada pela formação de gás nos tubos invertidos de Durham ou efervescência quando agitado sutilmente.

2.2.2 Exame confirmativo para coliformes totais e termotolerantes

Para confirmar coliformes totais as amostras que positivarem no caldo Lauril Sulfato de Sódio foram repicadas para tubos contendo Caldo Verde Brilhante Bile em concentração a 2% lactose. Os tubos foram incubados a $36\pm 1^{\circ}\text{C}$ por 24-48 horas em estufa bacteriológica.

Para confirmação de coliformes termotolerantes as amostras positivas dos tubos de Caldo Lauril Sulfato de Sódio, foi retirada uma alíquota e inoculada em tubos contendo Caldo E.C. com Durham invertido, estes posteriormente incubados em estufa bacteriológica a $45\pm 0,2^{\circ}\text{C}$ por 24-48 horas.

Foram consideradas amostras positivas aquelas que apresentarem produção de gás e fermentação da lactose.

Para determinar o número mais provável da amostra foi anotada combinação de números correspondentes aos tubos que apresentaram resultados positivos, e foi posteriormente verificado o Número Mais Provável (NMP) de coliformes, de acordo com a tabela de NMP com referência a disponível na Instrução Normativa nº 62 de 26 de agosto de 2003 do Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento, sendo os resultados expressos em NMP/100 mL.

2.2.3 Contagem total de heterotróficos

Para a contagem total de bactérias heterotróficas foi utilizada a técnica de *pour-plate*, segundo normativa nº 62 de 2003 do ministério da agricultura, no qual foi semeados 1 ml das diluições 10^0 , 10^{-1} em placas com ágar padrão para contagem .

Estas foram incubadas a $36\pm 1^{\circ}\text{C}$, por 48 horas. Os resultados serão expressos em UFC/mL.

2.3 CONTAGEM DE BACTÉRIAS PSICROTRÓFICAS NO LEITE CRU

Foi realizada a contagem de bactérias psicotrópicas em leite cru refrigerado nas 48 amostras conforme metodologia de Franciosi et al.(2011) no qual foi realizada com a técnica de *Pourplate* com Agar Padrão para Contagem (PCA) em triplicata, com 1 mL da amostra previamente diluída em água peptonada 0,1%. As placas para contagem de psicotrópicos foram incubadas em refrigeração e as a 7° C por 7 dias (ou até houver crescimento). Os resultados foram expressos em UFC/mL, sendo as determinações realizadas em triplicata.

2.4 ANALISE DE ENZIMAS PROTEOLITICAS E LIPOLÍTICAS NO LEITE CRU

Para a pesquisa de enzimas proteolíticas e lipolíticas presentes no leite cru, foram utilizadas as colônias placas com crescimento bacteriano das amostras de leite da técnica descrita acima.

Foram selecionadas e semeadas colônias de característica visuais diferentes, sendo colocadas em tubos estéreis contendo Caldo Nutriente, sendo posteriormente incubados em temperatura 7° C por sete dias (ou até houver crescimento). Todos os procedimentos realizados em triplicatas. Após visível crescimento bacteriano, as amostras foram submetidas a semeadura em superfície em dois pequenos pontos da placa.

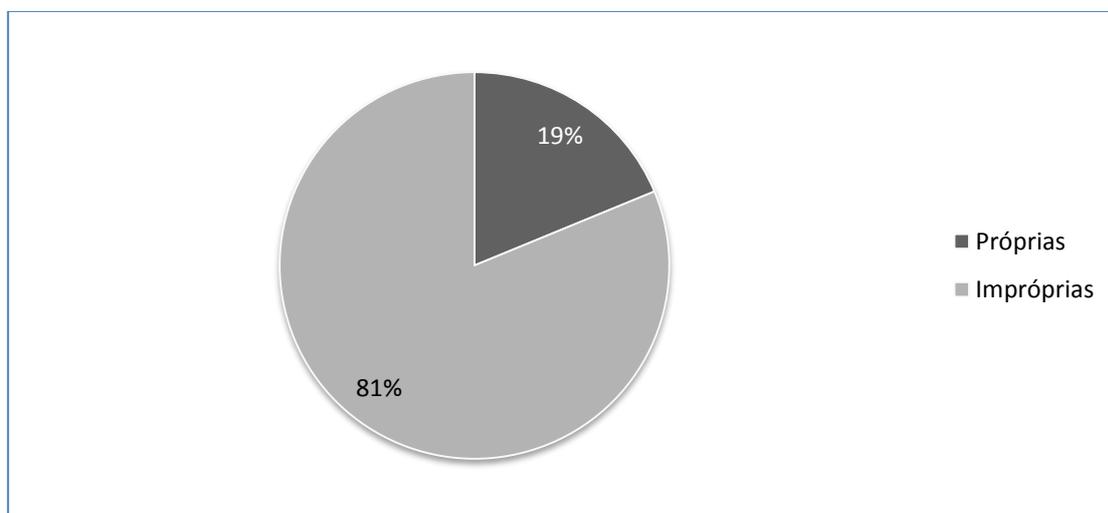
Para verificar a presença de enzima lipolítica, foram preparados meios contendo como Ágar Base Tributirina (Himedia ®) e para enzimas proteolíticas o Ágar Caseína (Himedia ®), posteriormente incubados a 7° C por 10 dias e 30±1°C, por 48 horas, conforme metodologia descrita por Montanhini e Bersot (2013), ambos os métodos realizados em duplicada para cada temperatura e os resultados foram expressos em positivo ou negativo devido à presença ou não de halo clarificado ao redor do crescimento bacteriano, para os respectivos meios.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 RESULTADOS DA ANALISE DA ÁGUA DAS PROPRIEDADES

Das 48 amostras de água analisadas, 81% estavam impróprias para consumo e 19% encontravam-se dentro dos padrões estabelecidos pela Portaria N° 2.914, DE 12 de dezembro de 2011 (Gráfico 1), sendo que esta traz que a água utilizada nas propriedades para a ordenha do leite, determina como padrão permissível 500 UFC/mL para mesófilos aeróbio, ausência de coliformes totais e coliformes termotolerantes em 100 mL.

Gráfico 1 – Análise das amostras de água própria e imprópria para consumo, PORTARIA N° 2.914, DE 12 DE DEZEMBRO DE 2011 (MAPA), coletadas em propriedades rurais do Extremo Oeste de Santa Catarina - 2014.



Fonte: o autor.

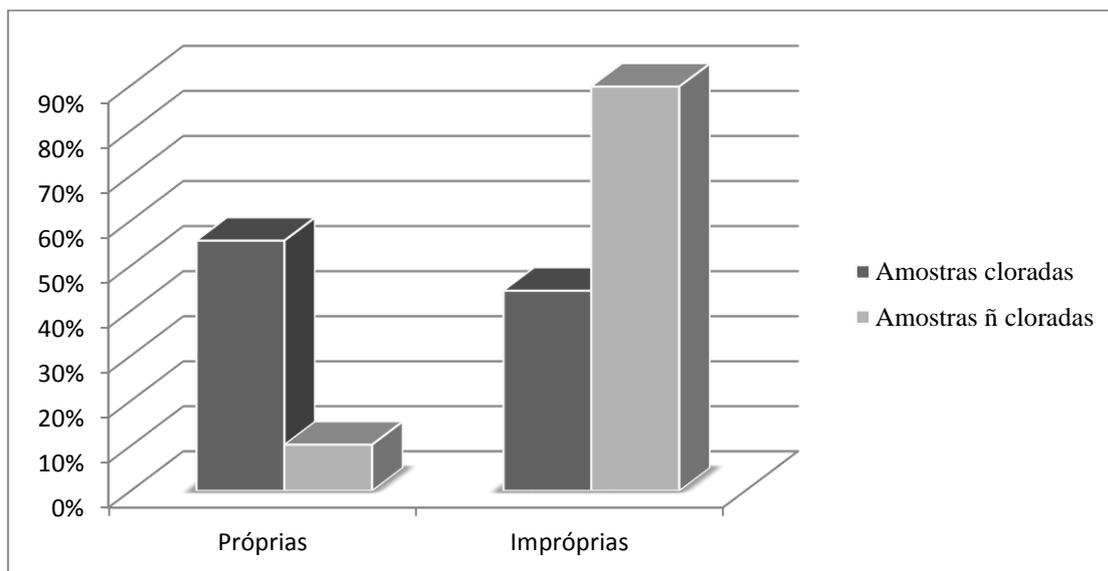
Os dados encontrados são preocupantes, pois a maioria das amostras avaliadas foi considerada como impróprias para o consumo humano, sendo que tal problema (contaminação das águas) já foi relatado em dois importantes trabalhos realizados na região, o de Malheiros et al. (2009), onde os resultados demonstraram que 161 (75,94%) amostras de água dos 212 poços avaliados foram impróprias para o consumo humano e Rohden et al. (2009) observaram que durante o ano de 2005, 54,7% das amostras contaminadas e em 2006, os resultados continuaram a preocupar, mostrando um aumento no número de amostras contaminadas (56,7%).

Outros trabalhos também trazem a contaminação das águas nas propriedades rurais, como em São Paulo por Amaral et al. (2003), que relataram 90% das amostras de água das fontes, 90% dos reservatórios e 96,7% de água de consumo humano, colhidas no período de chuvas, e 83,3%, 96,7% e 90%, daquelas colhidas

respectivamente nos mesmos locais, durante a estiagem, estavam fora dos padrões microbiológicos de potabilidade para água de consumo humano.

Outro resultado alarmante é que de 48 amostras, 09 eram cloradas, e destas, 44,44% resultaram em impróprias para consumo (Gráfico 2), sendo que estas águas já passaram por um prévio tratamento, sendo assim, a presença somente de coliformes totais nas amostras indica contaminação por resíduos orgânicos ambientais como restos de folha, caules, microrganismos ambientais, pois segundo as bactérias pertencentes ao grupo dos coliformes totais também podem ser encontradas em ambientes naturais, tais como águas do solo, vegetação, ou superfície, onde a sua ocorrência não está necessariamente relacionada com a contaminação fecal (KILB et al. 2003).

Gráfico 2 – Amostras cloradas e não cloradas coletadas em propriedades rurais do Extremo Oeste de Santa Catarina - 2014.



Fonte: o autor.

Das 48 propriedades rurais leiteiras, apenas 09 utilizavam água tratada (clorada), e dessas amostras de água clorada coletadas 55,55% estavam dentro dos padrões. O que indica que a cloração não está sendo eficiente, provavelmente devido a outros fatores não avaliados nesta pesquisa, tais como a proteção (fechamento), limpeza e desinfecção da caixa d'água, encanamentos e entre outros.

Mas, cabe lembrar, que, quando a presença em abundância de microrganismos contaminantes e compostos orgânicos, o cloro não apresenta eficiência e ainda pode reagir com essas substâncias levando à formação de diversos subprodutos, como os trialometanos, tóxicos e carcinogênicos para o homem (TOMINAGA & MÍDIO, 1999).

Estudo de Rodríguez et al. (2012) indicam um elevado grau de contaminação por *C. parvum*, *F. hepática*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Shigella*, *Salmonella*, *E. coli* e coliformes totais, tanto no abastecimento de água distribuído a DTAs por estes através de fazendas de gado na área geográfica do estudo (20 fazendas da região da Colômbia), além disso, existe um elevado risco de infecção para os seres humanos, se um tratamento adequado de água antes do consumo não for realizada.

3.2 RESULTADOS DA CONTAGEM DE MICRORGANISMOS PSICOTRÓFICOS NAS AMOSTRAS DE LEITE DAS PROPRIEDADES RURAIS DO EXTREMO OESTE DE SANTA CATARINA

Das amostras de leite cru avaliadas, a contagem bacteriana total de psicotrópicos resultou em 1,88% das amostras acima de $6 \log_{10}$ UFC/mL. A média de contagem foi de $4,2 \log_{10}$ UFC/mL, variando de $2,5 \log_{10}$ UFC/mL a $9,4 \log_{10}$ UFC/mL.

Esses podem ser preocupantes, pois de acordo com Pinto et al. (2006), estas bactérias em alta quantidade permitem modificações do leite e derivados, alterando a quantidade de proteínas e lipídios, encurtando a vida útil desse alimento.

Cabe salientar que a legislação brasileira não determina um limite para a população de psicotrópicos, no entanto, conforme Pinto et al. (2006) não é recomendável a fabricação de produtos lácteos com leite cru com contagem de psicotrópicos superior a $6,7 \log_{10}$ UFC/mL, pois estes microrganismos mantêm sua capacidade de multiplicação em condições de refrigeração e tendem a se tornar predominantes na microbiota do leite cru. Assim sendo, sugere-se a redução do tempo em que o leite é mantido refrigerado, chegando até a unidade de processamento com cerca de 10°C , conforme previsto na legislação (BRASIL, 2011).

Outro problema ocasionado pela presença de psicotrópicos, é a adesão em tanques de resfriamento, possuem biotransferência das células bacterianas para o leite, fato observado por Herrera et al. (2007), essas células, podendo conter genes de resistência a antibióticos, serão liberadas e contaminarão o leite.

Deve-se ressaltar que o baixo número de amostras que se apresentaram acima dos padrões pode ser atribuído ao acompanhamento de uma equipe técnica com orientações aos produtores de métodos adequados na higiene da ordenha.

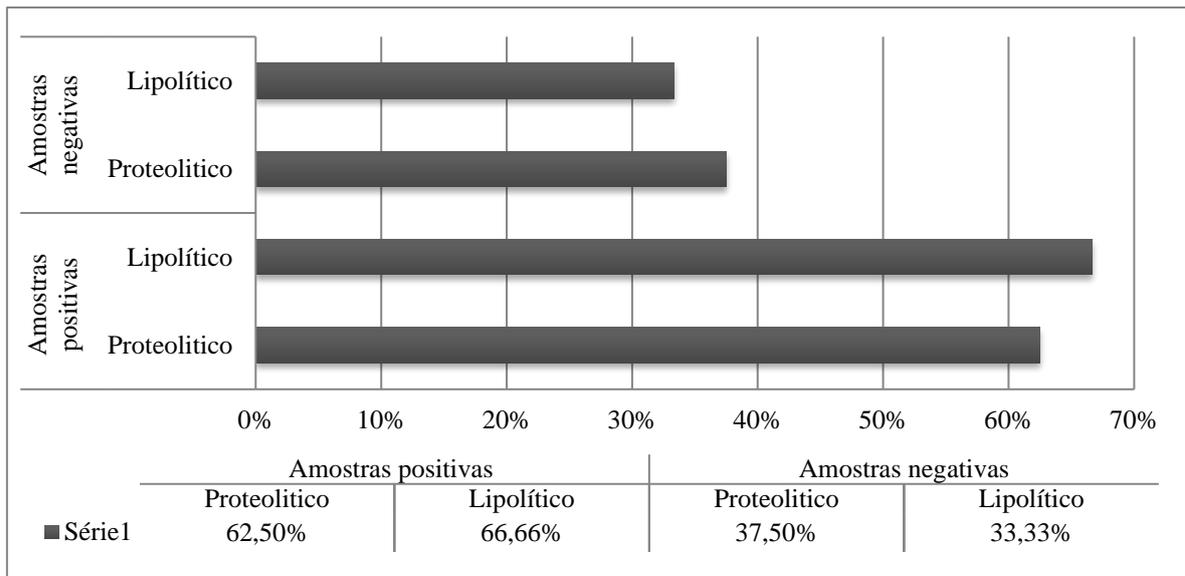
3.3 RESULTADOS DA PRESENÇA DE ENXIMAS PSICROTRÓFICAS PROTEOLÍTICAS E LIPOLÍTICAS NAS AMOSTRAS DE LEITE DAS PROPRIEDADES RURAIS DO EXTREMO OESTE DE SANTA CATARINA

Das 48 amostras analisadas para atividade lipolítica, 66,66% apresentou atividade positiva e outros 33,33% negativo, já para atividade proteolítica, 62,5% apresentou atividade positiva e outros 37,5% negativa, sendo assim, comparativamente a atividade lipolítica deste estudo foi maior.

O estudo de Moura et al. (1999) corrobora indicando que no seu estudo o armazenamento do leite inoculado com *Pseudomonas fluorescens* em diferentes períodos (24, 72 e 120 horas) causaram aumento da concentração de ácidos graxos livres em queijo com análises estatísticas, estes queijos são menos aceitos em testes sensoriais, provavelmente, devido à lipólise (quebra de lipídios) por enzimas presentes e conseqüente aparecimento de sabores desagradáveis.

Outro experimento constou de 3 repetições e avaliado estatisticamente pelo teste de *Scheffé*. O número de *Pseudomonas* aumentou com o armazenamento até o valor máximo de $3,5 \times 10^6$ em 120 horas, coincidindo com aumento progressivo do nitrogênio solúvel a pH 4,6 ($p > 0,05$), ácidos graxos livres ($p < 0,05$) e redução do pH ($p > 0,05$), caracterizando que o armazenamento a frio pode alterar a distribuição das frações proteicas e ácidos graxos do leite, quando existe contaminação por *Pseudomonas fluorescens*. (MOURA et al. , 1999).

Gráfico 3 – Atividade lipolítica e proteolíticas das amostras de coletadas em propriedades rurais do Extremo Oeste de Santa Catarina - 2014.



Fonte: o autor.

As amostras descritas como positivas ou negativa referem-se à presença ou não de halo clarificado ao redor do crescimento bacteriano (Figura 1).

Uma importante característica dos psicrotróficos encontrados no leite e produtos derivados é a sua capacidade de síntese, durante a fase logarítmica, de enzimas extracelulares que degradam os componentes do leite. Ainda que, a maioria das bactérias presentes no leite cru, são eliminadas durante o processo de pasteurização ou por outros tratamentos térmicos envolvidos na produção de produtos lácticos. Contudo, o tratamento térmico tem pouco efeito sobre a atividade das enzimas termorresistentes produzidas por estes microrganismos (NÖRBERG et al., 2010).

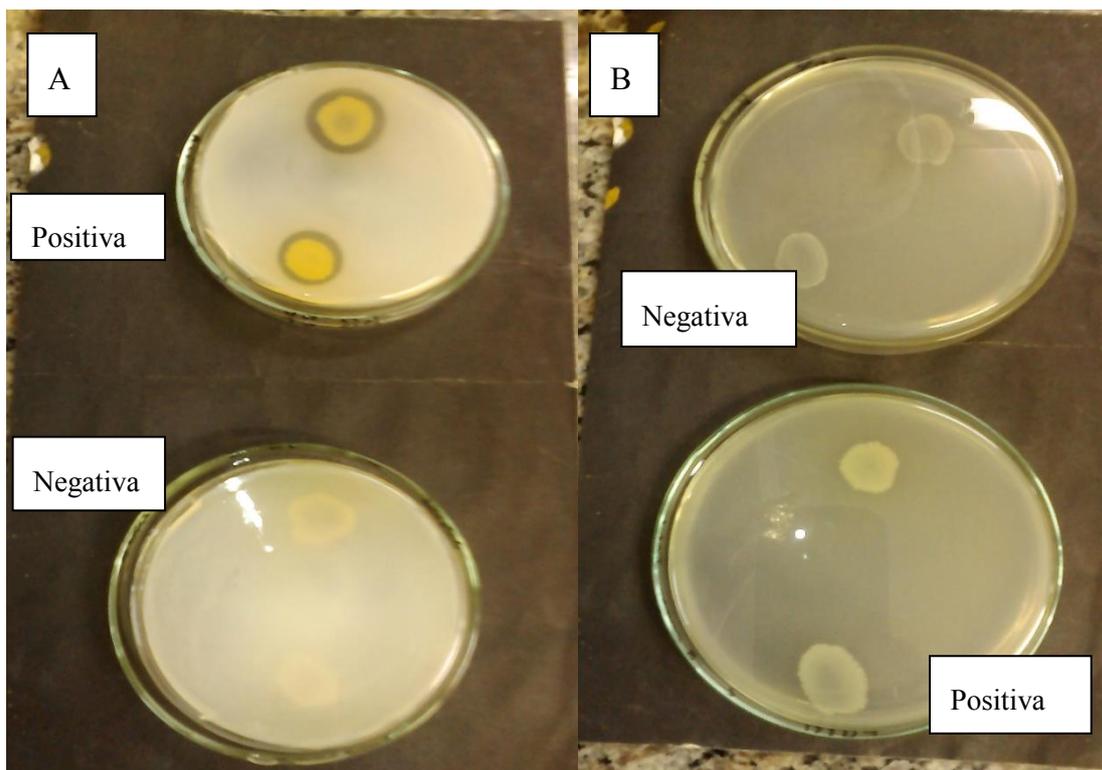


Figura 1. Placas contendo meio de cultura para analisar presença ou ausência de atividade proteolítica e lipolítica. A) Atividade proteolítica; B) Atividade lipolítica.

Agradecimento

Agradecemos ao Fundo de Apoio à Manutenção e ao Desenvolvimento da Educação Superior – FUNDES pelo apoio e financiamento para realização desta pesquisa.

CONCLUSÃO

Mesmo em baixas proporções no estudo, as contagens de bactérias mesófilas e psicotróficas no leite cru encontradas apresentaram-se fora dos padrões exigidos pela IN nº 62 (Brasil, 2011), indicando a necessidade de revisão das práticas de higiene antes e durante a ordenha. Ressalta-se a necessidade de programas contínuos de educação sanitária junto a produtores, vendedores e consumidores nas propriedades rurais, visando melhoria da qualidade dos produtos lácteos comercializados.

A presença de enzimas proteolíticas e lipolíticas nas amostras de leite deste estudo é preocupante, visto que estes degradam as qualidades do leite, e, podem trazer prejuízo a indústrias de alimento e ao consumidor.

Nossos resultados demonstraram que a região do extremo oeste de Santa Catarina enfrenta o problema de alta porcentagem de amostras de água contaminado por microrganismos. Essa contaminação pode ser atribuída a diversos fatores, destacando a pouca disponibilidade de água, a baixa qualidade das fontes, a inadequada deposição de resíduos humanos, animais domésticos, a falta de saneamento e de proteção das fontes e as práticas de higiene pessoal inadequadas como os principais fatores responsáveis pela má qualidade da água em propriedades rurais.

Portanto, as autoridades, órgãos públicos e produtores de alimentos devem tomar medidas preventivas para fornecer à água e alimento de boa qualidade, tanto no meio urbano como rural, uma vez que encarregar os próprios consumidores de controlar a qualidade da água e dos alimentos pode ser um problema, pois possuem pouco conhecimento quanto aos riscos que o consumo de água e alimentos contaminados pode oferecer à saúde.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, I.C.; SANTOS, E.S.; CARVALHO, E.P. Pesquisa de atividade lipolítica e/ou proteolítica em cepas psicotróficas de *Pseudomonas* spp e *Bacillus* spp. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v.14, n.71, p.58-60, 2000.

AMARAL, L. A. et al. **Água de consumo humano como fator de risco à saúde em propriedades rurais**. Revista de Saúde Pública. São Paulo, v. 37, n. 4, p. 510-514, 2003.

ARCURI, E.F. et al. Contagem, isolamento e caracterização de bactérias psicotróficas contaminantes de leite cru refrigerado. *Ciência Rural*, v.38, n.8, p.2250-2255, 2008.

BERSOT, L. S.; GALVÃO, J. A.; RAYMUNDO, N. K. L.; BARCELLOS, V. C.; PINTO, J. P. A. N.; MAZIERO, M. T. Avaliação microbiológica e físico-química de leites UHT produzidos no Estado do Paraná – Brasil. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 31, n. 3, p. 645-652, 2010.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal. Instrução normativa n. 62 de 29 de dezembro de 2011. Coleta de leite cru refrigerado e seu transporte a granel. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**. Brasília, 30 dez. 2011, Seção 1, p.6-11.

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. **Diário Oficial da União**, Brasília, 20 de setembro de 2002. Seção 1, Brasília, 21 set. 2002.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria 2914 de 12 de dezembro de 2011. Dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. **Diário Oficial da União**. Brasília, 14/12/2011.

BRASIL. Presidência da República. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Portaria SVS/MS n. 326 de 30 de julho de 1997. Diário Oficial da União 1997; 01 ago. Seção I. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/legis/portarias/326_97. Acesso em: 03 setembro 2014

BRITO, J. R. F.; PORTUGAL, J. A. B. Diagnóstico da qualidade do leite, impacto para a indústria e a questão dos resíduos de antibióticos, EPAMIG/CT/ILCT, Juiz de Fora: EMBRAPA Gado de Leite, p.9-11 e 105-107, 2003.

BRITO, M.A.V.P., ARCURI, E.F., BRITO, J.R.F. Testando a qualidade do leite. In: DURÃES, M.C.; MARTINS, C.E.; DERESZ, F.; BRITO, J.R.F.; FREITAS, A.F.; PORTUGAL, J.A.B.; COSTA, C.N. MINAS LEITE. 2., 2000, Juiz de Fora. Avanços tecnológicos para o aumento da produtividade leiteira. **Anais**. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, p.83-94, 2000.

CASALI, C.A. **Qualidade da água para consumo humano ofertada em escolas e comunidades rurais da região central do Rio Grande do Sul**. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, Área de Concentração em Processos Químicos e Ciclagem de Elementos). Universidade Federal de Santa Maria. Santa Maria - RS, 2008.

CENTERS FOR DISEASES CONTROL AND PREVENTION – CDC. CDC estimate of foodborne illness in the United States. Disponível em: <<http://www.cdc.gov/foodborneburden/2011-foodborne-estimates.html>>. Acesso em: 03 setembro 2014

DESAMASURES, N. & GUEGUEN, M. Monitoring the microbiology of high quality milk by monthly sampling over 2 years. **Journal of Dairy Research**. v. 64, p. 271-280, 1997.

EMBRAPA. **Pesquisa trimestral do leite – Leite inspecionado no Brasil**. Embrapa Gado de leite, Junho/2011. Disponível em: <http://www.milkpoint.com.br/cadeia-do-leite/giro-lacteo/ibge-producao-de-leite-cresce-89-no-1-trimestre-de-2014-89732n.aspx> /. Último acesso: Agosto de 2014.

FONSECA, L.F.L. & SANTOS, M.V. **Qualidade do leite e controle de mastite**: Lemos Editora, 2000. 175p.

FRANCIOSI, E. et al. Changes in psychrotrophic microbial populations during milk creaming to produce Grana Trentino cheese. **Food Microbiology**. v. 28, p. 43- 51, 2011.

GARGOURI, A.; HAMED, H.; ELFEKI, A. Analysis of Raw Milk Quality at Reception and During Cold Storage: Combined Effects of Somatic Cell Counts and Psychrotrophic Bacteria on Lipolysis. *Journal of food Science*, v.78, n. 9, p.1405-1411, 2013.

GREIG, J.D.; RAVEL, A. **Analysis of foodborne outbreak data reported internationally for source attribution.** International Journal of Food Microbiology, v. 130, pág. 77-87, 2009.

HANTSIS-ZACHAROV, E.; HALPERN, M. Culturable psychrotrophic bacterial communities in raw milk and their proteolytic and lipolytic traits. **Appl. Environ. Microbiol.**, v.73, p. 7162-7168, 2007.

HAYES, M. C.; BOOR, K. Raw milk and uid milk products. In: MARTH, E. H.; STEELE, J. L., **Applied Dairy Microbiology.** New York: Marcel Dekker Inc., 2001, p.59-75. SHAH, N.P. Psychrotrophs in milk: a review. **Milchwissenschaft**, v.49, p.432-437, 1994.

HERRERA JJR, CABO ML, GONZÁLEZ A, PAZOS I, PASTORIZA L. Adhesion and detachment kinetics of several strains of *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* under three different experimental conditions. Food Microbiol. 2007;24(6):585-91.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). **Produção de leite no período de 01.01 a 31.12 de 2010 por Unidades da Federação e por municípios** Rio de Janeiro, 2011. Disponível em: ftp://ftp.ibge.gov.br/Producao_Pecuaria/Producao_da_Pecuaria_Municipal/2011/tabelas_pdf/tab06.pdf . Último acesso: Agosto 2014.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). **Produção de leite no período de 01.01 a 31.12 de 2010 por Unidades da Federação e por municípios.** Rio de Janeiro, 2010.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Pesquisa Pecuária Municipal, 2012. Disponível em <http://wm.agripoint.com.br/portais/noticias/foto.aspx?idFoto=9914.htm/>. Último acesso: Agosto de 2014.

JAY, J. M.; LOESSNER, M. J.; GOLDEN, D. A. Foodborne listeriosis In: Modern food microbiology. 7. ed. Nova York: Springer Science Business Media, Inc., 2005. Cap. 25, p. 591 - 618.

KILB, B. et al. Contamination of drinking water by coliforms from biofilms grown rubber-coated valves. **International Journal of Hygiene and Environmental Health**, v. 206, p. 563-573, 2003.

LEITNER, G. The influence of storage on the farm and in dairy silos on milk quality for cheese production. **International Dairy Journal.** v. 18, p. 109–113, 2008.

MALHEIROS, P. da S. et al., Contaminação bacteriológica de águas subterrâneas da região oeste de Santa Catarina, Brasil. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 68, n.2, 2009.

MARTINS M.L, ARAÚJO E.F., MANTOVANI H.C. & MORAES C.A. Detection of the *apr* gene in proteolytic psychrotrophic bacteria isolated from refrigerated raw milk. *International Journal of Food Microbiology*. 102: 203-211. 2005.

MIGUEL, E.M.; TEODORO, V.A.M.; AHASHIRO, E.K.N. Microrganismos psicrótróficos em leite. **Revista do Instituto de laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v.62, n.355, p.38-41, 2007.

MOURA et al. LIPÓLISE E AVALIAÇÃO SENSORIAL EM QUEIJO TIPO PARMESÃO FABRICADO COM LEITE RESFRIADO E INOCULADO COM PSEUDOMONAS FLUORESCENS, *Rev. Inst. Latic. "Cândido Tostes"*, MailJun, nO 308, 54: 3-8, Pág. 3, 1999.

MOURA et al. EFEITO DO RESFRIAMENTO DE LEITE INOCULADO COM PSEUDOMONAS FLUORESCENS SOBRE A PROTEÓLISE E LIPÓLISE . *Rev. Inst. Latic. "Cândido Tostes"*, MailJun, nO 308, 54: 3-8, Pág. 3, 1999.

NÖRNBERG, M. B. L.; FRIEDRICH, R. S. C.; WEISS, R. D. N.; TONDO, E. C.; BRANDELLI, A. Proteolytic activity among psychrotrophic bacteria isolated from refrigerated raw milk. *International Journal of Dairy Technology*. v. 63, N. 1, 2010.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE. **Segurança Básica dos Alimentos para Profissionais de Saúde**. São Paulo: Roca, 2014.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. Segurança Alimentar e Doenças Transmitidas por Alimentos. Folha informativa n 237, 2007. Disponível em <http://www.who.int/mediacentre/factsheets> Acesso em 03/09/2014.

ORGANIZAÇÃO METEOROLÓGICA MUNDIAL (OMM/UNESCO) – OMM, n. 857, 1997.

REID, D. et al. The quality of drinking water from private water supplies in Aberdeenshire, UK. **Water Research**, v. 37, p. 245-254, 2003.

RHODEN, F. et al. Monitoramento microbiológico de águas subterrâneas em cidades do extremo oeste de Santa Catarina. **Ciência & Saúde Coletiva**, v.14, p. 2199-2203, 2009.

RODRÍGUEZ et al. Microbiological quality indicators in waters of dairy farms: Detection of pathogens by PCR in real time. *Science of the Total Environment* 427–428 (2012) 314–318

SANTOS, P. L. S. Perfil sócio-econômico de produtores e aspectos produtivos e sanitários de rebanhos leiteiros da Paraíba. 2008. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária de Ruminantes e Equídeos), Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), Patos-PB, 2008.

SILVA, M. P.; CAVALLI, D. R., OLIVEIRA T.C.R.M. Avaliação do padrão coliformes a 45°C comparação da eficiência das técnicas dos tubos múltiplos e

Petrifilm EC na detecção 28 de coliformes totais e *Escherichia coli* em alimentos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n. 2, p. 352-359, 2006.

SILVA, M.T.N. et al . Atividade antibacteriana de óleos essenciais de plantas frente a linhagens de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* isoladas de casos clínicos humanos. **Rev. bras. plantas med.**, Botucatu, v. 11, n. 3, 2009.

SWAI E.S, SCHOONMAN L. Microbial quality and associated health risks of raw milk marketed in the Tanga region of Tanzania. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine** . p. 217-222, 2011.

STEAD, D. Microbial lipases: their characteristics, role in food spoilage and industrial uses. **Journal of Dairy Research**, Champaign, v.53, p.481-505, 1986.

SORHAUG, T.; STEPANIAK, L. Psychrotrophs and their enzymes in milk and dairy products: quality aspects. **Trends in Food Science and Technology**, Oxford, v. 8, p. 35-41, Feb. 1997.

SECRETÁRIA DE ESTADO DA SAÚDE/GO. Sistema Único de Saúde. Superintendência de Vigilância em Saúde. Gerência de Vigilância Epidemiológica das Doenças Transmissíveis. Coordenação de Controle das Doenças Hídricas e Alimentares. Informe Técnico de Intoxicação Alimentar / Surto de Doenças de Transmissão Alimentar (DTA), 2012.

TEBBUTT, G. M. Does microbiological testing of foods and the food environment have a role in the control of foodborne disease in England and Wales? **Journal of Applied Microbiology**, v. 102, n. 4, p. 883-891, 2007.

TOMINAGA, M. Y.; MIDIO, A. F. Exposição humana a trihalometanos presentes em água tratada. **Revista de Saúde Pública**, v. 33, n. 4, p. 413-421, ago. 1999.

ZHANG, Xiaodong; HUANG, Guo H.;NIE, Xianghui; Optimal decision schemes for agricultural water quality management planning with imprecise objective. **Agricultural Water Management**. p. 1723–1731, 2009.

WALDNER, D. N.; STOKES, S. R.; JORDAN, E. R.; LOOPER, M.L. Managing milk composition: normal sources of variation. Online. Disponível em: <<http://www.osuextra.com>>. Acesso em 12 set. 2005.

WALSTRA, P.; WOUTERS, J. T. M.; GEUTERS, T. J. Dairy Science and Technology, 2. ed., Boca Raton, Florida: EUA, 2006, 781p.