



# AVALIAÇÃO DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DO LEITE CRU REFRIGERADO POR MEIO DO TESTE DE REDUTASE

SANTOS, R. N. S. dos<sup>1</sup>; VIEIRA, S. M.<sup>2</sup>

<sup>1,2</sup> Instituto Federal do Triângulo Mineiro, Pós Graduação Latu Sensu

**RESUMO** – *No Brasil são produzidos cerca de 33 bilhões de litros de leite anualmente. Nas indústrias de produção de alimentos, principalmente os laticínios, a contaminação microbiológica pode acarretar grandes perdas e prejuízos econômicos, podendo, ainda, causar sério risco à saúde do consumidor final devido à possibilidade da veiculação de bactérias patogênicas. O perfil microbiológico do leite é o principal indicativo de sua qualidade. O método mais utilizado para avaliar a qualidade do leite é a Contagem Padrão em Placas, porém, outra análise utilizada em grande escala nos laticínios é o teste de redutase, por ser um método mais rápido e mais barato. Dessa forma, o objetivo desse trabalho foi avaliar a qualidade microbiológica do leite cru refrigerado recebido em um laticínio da cidade de Uberlândia – MG, por meio do teste de redutase. Ao final do teste foi possível observar diferentes tempos de redução do azul de metileno para as amostras de leite cru refrigerado, caracterizando o teor de contaminação do leite.*

**Palavras-chaves:** *Leite. qualidade microbiológica. redutase.*

**ABSTRACT** - *In Brazil, about 33 billion liters of milk are produced annually. In food production industries, especially dairy products, microbiological contamination can cause great losses and economic losses, and can also cause a serious risk to the health of the final consumer due to the possibility of spreading pathogenic bacteria. The microbiological profile of milk is the main indicator of its quality. The most used method to evaluate milk quality is the Standard Plate Count, however, another analysis used on a large scale in dairy products is the reductase test, as it is a faster and cheaper method. Thus, the objective of this work was to evaluate the microbiological quality of chilled raw milk received in a dairy in the city of Uberlândia - MG, through the reductase test. At the end of the test, it was possible to observe different times for the reduction of methylene blue for samples of chilled raw milk, characterizing the content of milk contamination.*

**Keywords:** *Milk. microbiological quality. reductase.*

## 1. INTRODUÇÃO

O leite é uma substância líquida secretada pelas glândulas mamárias de um animal sadio e que



não apresenta alteração na sua composição original, ou seja, não tenha sido submetido a nenhum tratamento que modifique seu valor nutricional (CRUZ et al., 2019).

De acordo com Oliveira et al. (2017), no Brasil são produzidos cerca de 33 bilhões de litros de leite anualmente, estando entre os principais produtores do mundo. As primeiras indústrias processadoras de leite surgiram na década de 1920 com uma tecnologia bem rudimentar. Nas indústrias de produção de alimentos, principalmente nos laticínios, a contaminação microbiológica pode acarretar grandes perdas, prejuízos econômicos, causando sério risco à saúde do consumidor final.

Os principais perigos dos produtos lácteos à saúde humana estão diretamente relacionados à contaminações químicas e microbiológicas decorrentes de falhas na pasteurização, consumo de leite cru contaminado por agentes causadores de doenças comuns aos homens e animais ou produtos fabricados sem tratamento térmico (CRUZ et al., 2019).

De acordo com Castanheira (2012) os principais microrganismos contaminantes do leite são as bactérias, sendo que, a análise de contagem dos microrganismos mesófilos, em uma placa, provida de meio de cultura apropriado, é um método de avaliação direta da carga bacteriana. Esse método é conhecido como Contagem Padrão em Placas (CPP), que é o método oficial do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Nesse procedimento analítico, as bactérias presentes no leite crescem, formando colônias, a tal ponto de serem vistas a olho nu. Com isso, é possível contarmos as colônias e expressá-las em unidades formadoras de colônia por mililitro de leite (UFC/mL).

Conforme a Instrução Normativa 76 do MAPA o leite cru refrigerado deve apresentar médias trimestrais de Contagem Padrão em Placas de no máximo 300.000 UFC/mL para tanque individual ou de uso comunitário e de 900.000 UFC/mL antes de ser processado no estabelecimento industrial (BRASIL, 2018). Essa análise representa um resultado numérico correspondendo a uma análise classificada como quantitativa. Outros métodos analíticos para avaliação da carga microbiana do leite não apresentam resultado quantitativo e sim presuntivo, ou seja, qualitativo. Como exemplo, pode-se citar o teste de redutase com azul de metileno que corresponde a uma análise utilizada nos laticínios. Esse método analítico apesar de não indicar a quantidade de microrganismos presentes permite que se faça uma estimativa da qualidade do leite.

O teste de redutase envolve apenas a utilização do azul de metileno e não demanda a utilização de equipamentos sofisticados, sendo por isso, considerado um método simples e barato cuja interpretação dos resultados é de fácil compreensão.

Dessa forma, o objetivo desse trabalho foi avaliar a qualidade microbiológica do leite cru refrigerado recebido em um laticínio da cidade de Uberlândia – MG, por meio do teste de redutase.

## **2. TESTE DE REDUTASE**

A indústria de laticínios depende diretamente da qualidade do leite que é produzido no

---



campo. Quanto maior a presença de sólidos totais e menor o número de bactérias e células somáticas, maior será a vida útil do produto final e mais facilmente será realizada a padronização do produto (ALBERTON et al., 2012).

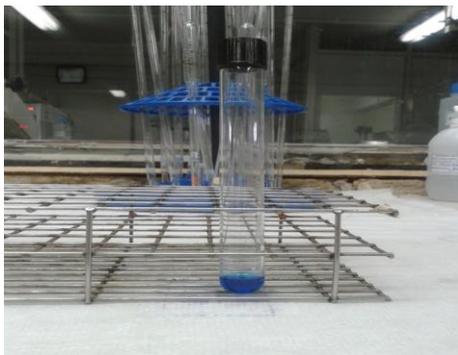
A Instrução Normativa 51 do MAPA ( hoje substituída por nova legislação), previa o teste de redutase como provas de qualidade do leite, tanto quanto a contagem padrão em placas (BRASIL, 2002). Esse teste, também conhecido como TRAM (Tempo de Redução do Azul de Metileno) apesar de não ser mais exigido, ainda é utilizado por cooperativas e empresas de produtos lácteos, por ser tratar de um teste rápido e barato, além de ser facilmente aplicado nos laboratórios industriais.

O teste de redutase é um método utilizado para avaliar a qualidade microbiológica do leite. Consiste em um método simples e rápido utilizando azul de metileno para se determinar a qualidade bacteriológica do leite observando a mudança de coloração da amostra devido a oxirredução do azul de metileno. Em geral, o tempo de redução é inversamente proporcional ao número de bactérias presentes na amostra de leite no início da incubação, sendo que, quanto mais bactérias estiverem presentes na amostra, mais rapidamente se dará a redução da substância indicadora, tornando-se incolor. O resultado é expresso em horas e não pelo número de bactérias (HILLERTON, 2000).

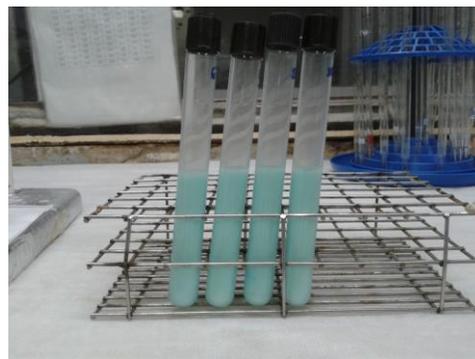
### 3. MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas para análises 80 amostras de leite cru refrigerado, contendo, cada uma, 50 ml de leite de diferentes propriedades produtoras no Município de Uberlândia-MG e região no mês de outubro de 2020. As amostras foram identificadas com a numeração de 1 a 80 e submetidas ao teste de redutase.

Para a análise foram utilizados tubos de ensaio esterilizados contendo 1 ml de solução de azul de metileno (TRAM) previamente preparado conforme figura 1. Em seguida utilizou-se uma pipeta graduada de 10 ml para coleta exata da quantidade de amostra de leite cru refrigerado, invertendo vagarosamente por 3 vezes para uma boa homogeneização do corante à amostra de leite (figura 2), e então, o tubo contendo a amostra foi colocado em banho-maria à temperatura de 37° C. Anotou-se a hora em que o tubo foi colocado no banho-maria para posterior leitura do teste.



**Figura 1** – Tubo com azul de metileno.



**Figura 2** – Amostras antes do banho-maria.



A leitura foi realizada adotando-se o procedimento de Behmer (1999), realizando-se a cada 30 minutos, até que 4/5 da amostra estivesse com a coloração branca (figura 3). O laticínio onde realizou-se o presente trabalho, adota como referência para aferir a qualidade do leite, um tempo maior ou igual a 90min, de acordo com a IN51 (BRASIL, 2002), para que o tubo de ensaio continue com a coloração azul, o que demonstra ser um leite de boa qualidade.



**Figura 3** – Resultado do teste após 6h30min, com 4\5 da amostra em branco.

#### 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ao final do teste foi possível observar diferentes tempos de duração de redução do azul de metileno para as amostras de leite cru refrigerado, conforme mostra a tabela, caracterizando o teor de contaminação do leite. Este teste é uma forma indireta de medir microrganismos mesófilos presentes na matéria-prima.

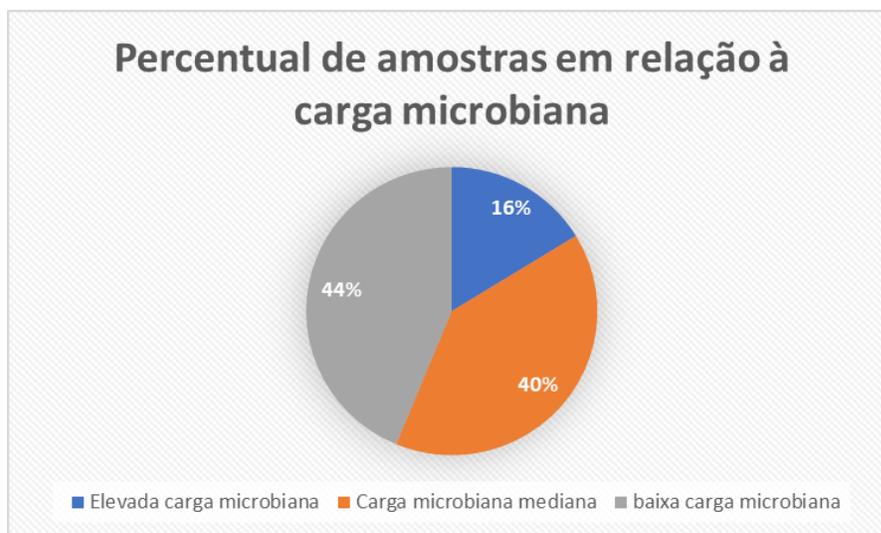
**Tabela** – Classificação da carga microbiana em amostras de leite cru refrigerado de acordo com o tempo de redução de azul de metileno, realizado na cidade de Uberlândia e região, no mês de outubro de 2020.

Classificação	N. amostras	Valor percentual	Tempo redução
<b>Elevada carga microbiana</b>	4	5,%	Menor que 1h
	9	11,25%	1h
<b>Carga microbiana mediana</b>	15	18,75%	2h30
	17	21,25%	3h30
<b>Baixa carga microbiana</b>	20	25,00%	4h30
	11	13,75%	6h30
	4	5%	7h
<b>Total</b>	80	100%	Não se aplica



De acordo com a tabela 1, das 80 amostras de leite analisadas quatro (5%) estavam com um período inferior a 30 minutos, caracterizando um leite com baixa qualidade e alta carga de microrganismos. Nove amostras (11,25%) obtiveram um tempo de redução de 1 hora de duração, abaixo do tempo mínimo permitido, demonstrando a existência de alta carga bacteriana na amostra de leite analisada. Quinze amostras (18,75%) tiveram um período para redução de 2h30min caracterizando um leite com uma carga bacteriana aceitável. Dezesete amostras (21,25%) obtiveram um período de redução de 3h30min, indicando carga microbiana menor em relação ao grupo anterior. Vinte amostras alcançaram 4h30min de redutase caracterizando amostras de um leite com baixa carga bacteriana. Onze amostras (13,75%) obtiveram tempo de redução de 6h30min e quatro (5%) amostra alcançaram 7h de duração, caracterizando um leite de excelente qualidade microbiológica.

Conforme mostra o gráfico, pode-se correlacionar o tempo de duração de redutase com a carga microbiana presente na amostra de leite cru refrigerado, onde 16% das amostras apresentaram duração de redutase inferior a 90 minutos, sendo inferior ao tempo mínimo definido por legislação. Enquanto que 40% apresentaram carga microbiana mediana, com duração de até 4 horas de redutase, e 44% das amostras duraram até 7 horas, caracterizando um leite com baixa carga microbiana.



**Gráfico – Duração de redutase em relação à carga microbiana.**

As elevadas cargas microbianas podem estar associadas a fatores, que segundo Cruz et al. (2019) podem ocorrer na produção primária, estando ligados à alimentação dos animais, características da água, doenças sistêmicas, e práticas higiênicas insatisfatórias, provocando sujidades no ambiente, utensílios e equipamentos.

## 5. CONCLUSÃO



A pesquisa comprovou que 83,75% das amostras apresentaram tempo de redução maior ou igual a 90 minutos. Pôde-se contar que 43,75% das amostras analisadas corresponderam a leite de boa qualidade microbiana, ou seja, redução acima de 4 horas. Um leite de baixa qualidade tem grandes impactos na indústria, influenciando na qualidade do produto final. Apesar do teste de redutase não ser qualitativo como a técnica para Contagem Padrão em Placas que requer período de incubação de 24 horas, ele é capaz de proporcionar uma estimativa mais rápida em relação à avaliação da contaminação do leite permitindo mais rápida tomada de decisão quanto a destinação do leite para a fabricação de produtos lácteos. O teste comprovou viável para a indústria de laticínios para o controle da qualidade do leite por ser capaz de analisar (avaliar) quantidade expressiva de amostras ao mesmo tempo, obtendo-se resultados rápidos com a utilização de poucos reagentes e equipamentos.

## 6. REFERÊNCIAS

- ALBERTON, J. et al. Estudo da qualidade do leite de amostras obtidas de tanques de resfriamento em três regiões do estado do Paraná. **Arquivo de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR**, v. 15, n. 1, p. 5-12, jan./jun., 2012.
- BEHMER, M. L. A. **Tecnologia do leite: produção – industrialização e análise**. São Paulo: Nobel; 1999.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução normativa n.51 de 20 de setembro de 2002. Aprova os Regulamentos Técnico de Produção, Identidade e Qualidade do Leite tipo A, do leite tipo B, do leite tipo C, do leite Pasteurizado e do leite Cru Refrigerado e o Regulamento Técnico da Coleta de Leite Cru Refrigerado e seu Transporte a Granel. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 20 set. Seção 1, p. 13, 2002.
- CASTANHEIRA, A. C. G. **Controle de Qualidade de Leite e Derivados: Manual Básico Comentado**. 2ª Ed. São Paulo – SP. Cap-Lab, 2012.
- CRUZ, A. G. da (org.) et al. **Microbiologia, higiene e controle de qualidade no processamento de leites e derivados**. 1. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2019.
- HILLERTON, E. **Contagem Bacteriana no Leite: Importância para a Indústria e Medidas de Controle**. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE A QUALIDADE DO LEITE, 2, Curitiba-PR, 2000.
- OLIVEIRA, C. A. F. de et al. Leites de consumo. In: CRUZ, A. G. da (org.) et al. **Processamento de leites de consumo**. 1. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2017. p. 1-7.