

ASPECTOS MICROBIOLÓGICOS DO LEITE
PASTEURIZADO CONSUMIDO EM SANTA MARIA — RS

II — TERMODÚRICOS, ESPORULADOS E GERMES
TERMÓFILOS MICROBIOLOGICAL ASPECTS OF THE
PASTEURIZED MILK CONSUMED IN
SANTA MARIA — RS

II — THERMODURICS, ESPORULEDS AND
THERMOPHILICS GERMS

MARCO ANTONIO R. DE BRUM *
EURICO MUSSOI *

RESUMO

Em 30 amostras de leite pasteurizado, analisadas em Santa Maria, RS, os autores constataram taxas elevadas do grupo termodúrico, 100% das amostras revelaram contagens entre 10^4 e 10^5 . Os esporulados aeróbios com taxas entre 10^3 e 10^5 , anaeróbios esporulados e germes termófilos apresentaram contagens reduzidas.

SUMMARY

Thirty samples of pasteurized milk, were analysed in Santa Maria, RS. The authors observed high values of the thermoduric group, 100 per cent of the samples contained counts between 10^4 and 10^5 . The sporuled aerobic count was between 10^3 and 10^5 , anaerobic sporuled and germs thermophilics presented small counts.

INTRODUÇÃO

O estudo bacterimétrico e colimétrico do leite pasteurizado, consumido em Santa Maria, anteriormente realizado, evidenciou variações consideráveis, no que tange à contagem total (2), motivando o estudo em separado de determinados grupos que são de grande importância em lactobacteriologia.

O grupo termodúrico, resistente às temperaturas de pasteurização, pode ser responsável pelas contagens elevadas bem como por alterações de qualidade, quando proliferam à temperaturas baixas, por ocasião da estocagem (11,7).

Segundo HAMMER (8), as elevadas contagens de termodúricos podem ser atribuídas a práticas higiênicas deficientes, tanto na obtenção da matéria prima, como durante o beneficiamento.

Pesquisas realizadas em granjas leiteiras paulistas (5) revelaram contagens que oscilaram entre 10^2 x 10^4 , na Índia, JAIN (10) constatou médias iguais ou inferiores a 50.000/ml, julgando satisfatórios estes resultados.

* Docentes do Departamento de Tecnologia Alimentar — Centro de Ciências Rurais — UFSM.

BREDHOLT (1), na França, encontrou taxas inferiores a 30.000 termodúricos por mililitro.

Os padrões preconizados pela nossa legislação estão baseados na contagem total de mesófilos, não existindo standards para termodúricos, na opinião de FOSTER et alii (7), pode ser considerado satisfatório, o leite que apresentar contagens entre 5.000 e 10.000 termodúricos por mililitro.

Os gêneros predominantes do grupo termodúrico segundo DEMETER (4), são *Clostridium* e *Bacillus*, sendo o primeiro muitas vezes responsável por alterações, durante a fase de maturação. YAVO (13), trabalhando com leite pasteurizado encontrou contagens elevadas do gênero *Bacillus*, com relação às espécies presentes; POLYANSKAIA (12) isolou a espécie *B. cereus* de 80% das amostras analisadas, também em leite pasteurizado.

Com relação a presença de espécies anaeróbias no leite, BURBINANKA (3) isolou as espécies *Cl. sporogenes* e *Cl. perfringens* como mais frequentes, durante as estações de inverno e verão, sendo também evidenciados como espécies predominantes após a pasteurização (9).

O grupo termófilo, citado também como responsável pelas contagens elevadas no leite (6), embora não patogênicos, podem causar alterações, quando o leite permanece por muito tempo aquecido (11).

Baseados nestas afirmações, procuramos verificar a presença do grupo termodúrico, esporulados aeróbios e anaeróbios, avaliando também a flora termófila, pretendendo com os dados obtidos, obter subsídios para futuras pesquisas e enfatizar o controle microbiológico dos produtos de origem animal.

MATERIAIS E MÉTODOS

As amostras analisadas foram em número de 30, adquiridas no comércio de Santa Maria, conduzidas até o laboratório convenientemente resfriadas. A homogeneização foi realizada na própria embalagem, transferindo-se logo depois alíquotas para tubos esterilizados e tratados conforme procedimentos abaixo relacionados.

Procedimentos

— Contagem de germes termodúricos

- a — Pasteurização da amostra a 63,5° durante 30'
- b — Resfriamento a 10°C em água corrente
- c — Preparo das diluições e semeadura de 1 ml da diluição 10⁻³ em massa, utilizando-se meio MERCK (+)
- d — Incubação a 35° durante 48 horas.
— Contagem de esporulados aeróbios
- a — Pasteurização da amostra a 80°C durante 10'
- b — Resfriamento a 10°C em água corrente.
- c — Preparo das diluições e semeadura de 1 ml da diluição 10⁻³ em massa utilizando-se meio MERCK (+)
- d — Incubação a 35°C durante 48 horas.
— Contagem de esporulados anaeróbios

- a — Semeadura de 1 ml de diluição 10^{-1} obtida anteriormente em tubo contendo 15 ml de meio MERCK para anaeróbios (§).
- b — Resfriamento do tubo inoculado em água corrente até a completa solidificação.
- c — Recapagem com 2 ml de meio isento de inóculo para melhorar as condições de anaerobiose.
- d — Incubação a 35°C durante 48 horas.
— Contagem de germes termófilos.
- a — Preparo da diluição 10^{-1} e semeadura de 1 ml em massa, utilizando-se o meio MERCK (+)
- b — Incubação a 55°C durante 72 horas.

RESULTADOS

T A B E L A 1

n.º da amostra	Termodúricos	Aeróbios Esporulados	Esporu- lados Anaeróbios	Termófilos
1	44.640	40.320	10	50
2	201.000	60.000	50	670
3	157.000	21.000	60	20
4	76.000	1.000	50	20
5	112.000	9.000	20	20
6	85.000	27.000	—	—
7	129.000	61.000	—	20
8	167.000	30.000	50	—
9	29.000	6.000	50	100
10	240.000	48.000	10	—
11	271.000	61.000	—	—
12	38.000	4.000	20	10
13	77.000	23.000	—	30
14	295.000	67.000	10	20
15	37.000	8.000	20	70
17	233.000	3.000	30	80
16	264.000	123.000	50	60
18	122.000	62.000	—	50
19	170.000	96.000	10	130
20	89.000	22.000	10	10
21	61.000	40.000	10	10
22	461.000	5.000	140	—
23	397.000	24.000	—	—
24	163.000	1.000	50	40
25	108.000	4.000	60	70
26	163.000	—	30	10
27	26.000	4.000	130	10
28	426.000	1.000	30	710
29	415.000	4.000	30	330
30	12.000	3.000	180	150

(+) Agar standard para contagem de germes — referência 1621 MERCK

(§) Meio de tioglicolato — referência 8191 — MERCK.

TABELA 2

PERCENTUAIS DAS CONTAGENS DOS DIFERENTES
GRUPOS BACTERIANOS

(n.º de bactérias/ml de amostra)

	0 — 10	10 — 10 ²	10 ² — 10 ³	10 ³ — 10 ⁴	10 ⁴ — 10 ⁵	10 ⁵
Termodúricos	—	—	—	—	36,67%	63,33%
Esporulados Aeróbios	3,33%	—	10%	50%	33,33%	3,33%
Esporulados Anaeróbios	20%	70%	10%	—	—	—
Termófilos	20%	63,32%	16,66%	—	—	—

DISCUSSÃO

Os resultados das contagens, representadas na TABELA 1, evidenciam variações consideráveis com relação a germes termodúricos, verificamos oscilações entre 10.000 e 500.000 germes por mililitro.

O gênero *Bacillus*, germes esporulados aeróbios, apresentou-se em taxas elevadas, com contagens entre 10³ e 10⁵, apresentando-se como gênero constante do grupo termodúrico. O grupo esporulado anaeróbi não foi positivo em todas as amostras, variando as contagens entre 0 e 10², o grupo termófilo também foi constatado em número reduzido oscilando entre 0 e 10².

A TABELA 2 representa os percentuais das contagens efetua- das, o grupo termodúrico, em 36,67% das amostras, apresentou contagens entre 10⁴ e 10⁵ com 63,33% superior a 10⁵. Os esporulados aeróbios já forneceram percentuais um pouco diferentes, em 50% das amostras as contagens oscilaram entre 10³ e 10⁴, 33,33% entre 10⁴ e 10⁵ e 3,33% com número superior a 10⁵, demonstrando ser o gênero *Bacillus* constante mas não predominante no grupo termodúrico.

O grupo esporulado anaeróbio em apenas 10% das amostras apresentou contagens entre 10² e 10³, sendo que em 90% das amostras foram inferiores a 10². Os germes termófilos foram também pouco incidentes, em apenas 16,66%, das amostras realizadas foram superiores a 10².

CONCLUSÕES

- 1 — As contagens de termodúricos foram elevadas, oscilando entre 10⁴ e 10⁵.
- 2 — O gênero *Bacillus* foi constante em todas as amostras porém não predominante.
- 3 — O grupo anaeróbio esporulado e grupo termófilo se apresentaram em contagens reduzidas.

BIBLIOGRAFIA

- 1 — BREDHOLT, R. — Teneur bacteriene totale e microbes résistant à la pasteurization dans le lait de producteurs. **Rapport de l' Institut de Recherches Laitières de Vollebek** (Norvège, n.º 137, 1968).
- 2 — BRUM, M.A.; MUSSOI, E. — Aspectos microbiológicos do leite pasteurizado consumido em Santa Maria — I — Bacterimetria e Colimetria. **Revista do Centro de Ciências Rurais, UFSM** — Santa Maria, 3 (1-4) p. 45-50, 1973.
- 3 — BURBINANKA, M. — Anaerobic spore-forming bacteria in dried milk. **Dairy Science Abstracts**, 30(4): 1967.
- 4 — DEMETER, J.K. — Lactobacteriologia. España, **Editorial Zargosa**, 1969.
- 5 — FILHO, F.S.; LOPES, C.F. — Pesquisa de bactérias termodúricas do leite. **Boletim da Indústria Animal**. São Paulo, 21(33-38), 1963.
- 6 — FILHO, F.S.; LOPES, C.F. — Pesquisa de bactérias termófilas do leite. **Boletim da Indústria Animal**. São Paulo, 21(39-44), 1963.
- 7 — FOSTER, S.M.; NELSON, M.L.; SPECK, R.N.; DOESTCH and J.C. **OLSON Dairy Microbiology**, Prentice Hall Inc. New Jersey.
- 8 — HAMMER, B.W.; BABEL, F.U. — **Dairy Bacteriology, USA**, John Wiley and sons, New York, 1967.
- 9 — IENISTEA, C.; IONESCU, C. — Sulfite reducing Clostridia in quality assement of pasteurized milk. **Igiena Buc Inst. de Igiena, Bucharest, Roumania**, 16(4): 207-212, 1967.
- 10 — JAIN, P.C.; SARAWAST, D.S. — Studies on bacteriological quality of market milk in Udaipur City. Enumeration of thermoduric and psychrophilic bacteria in raw milk. **I. J. Dairy Sci.** 21(4), 1968.
- 11 — JOHNS, C.K. — Applications and limitation of quality testes for milk and milk products. A review, **J. Dairy Sci.** 42(3): 1525-1650, 1959.
- 12 — POLYANSKAIA, K.N. — Study of *B. cereus* isolated from pasteurized milk. **Vop Pitán, URSS**, 26(3): 20-24, 1967.
- 13 — YAVO, N.; IRIE, R.; MORICHI, T.; KEUBO, H. — Mesophilic bacilli in raw milk, **Inst. Anim. Ind. Chiba**: 17: 21-27, 1968.