

INFLUÊNCIA DA CLORAÇÃO DA ÁGUA UTILIZADA NA HIGIENIZAÇÃO DE TANQUES DE EXPANSÃO NA QUALIDADE DO LEITE CRU REFRIGERADO.

Maiara Fonseca Dias
Patrícia Rodrigues Condé
Neumara Ribeiro Vaneli
Maurilio Lopes Martins

Instituto Federal do Sudeste de Minas Gerais. Rio Pomba, MG.

maurilio.martins@ifsudestemg.edu.br

RESUMO

Este trabalho objetivou avaliar a influência da cloração da água utilizada na higienização de tanques de expansão na contagem de *Escherichia coli* e *Pseudomonas* sp. do leite cru refrigerado. Amostras de leite cru e de água de 18 tanques de expansão foram avaliadas por um ano, sendo que em 9 tanques não havia sistema de cloração da água implantado no decorrer de 12 meses e nos outros 9, por 6 meses não houve cloração da água e nos 6 meses seguintes o sistema foi implantado. Para determinação de *E. coli* no leite cru e na água utilizou-se a técnica do Número Mais Provável (NMP) e para a contagem de *Pseudomonas* sp. utilizou-se Ágar Para Isolamento de *Pseudomonas* (PIA). Constataram-se valores médios de 1,5NMP/mL e 1,6NMP/mL de *E. coli* no leite e na água, respectivamente, nas amostras provenientes dos 9 tanques em que a água utilizada não foi clorada por 12 meses. As amostras de leite e água

procedentes dos 9 tanques que receberam água clorada durante a limpeza por 6 meses apresentaram em média 1,8NMP/mL e < 1,1 NMP/mL de *E.coli*, respectivamente. A contagem média de *Pseudomonas* sp. nas amostras de água procedentes dos 9 tanques em que a água utilizada no processo de limpeza não recebeu cloração por 6 meses e que posteriormente passou a ser clorada foi $1,1 \times 10^3$ UFC/mL e $1,2 \times 10^2$ UFC/mL, respectivamente. Por outro lado, a média das contagens de *Pseudomonas* sp. foi de $9,8 \times 10^4$ UFC/mL e $5,1 \times 10^5$ UFC/mL nas amostras de leite procedentes dos tanques em que a água utilizada no processo de limpeza não recebeu cloração por 6 meses e que posteriormente passou a ser clorada, respectivamente, o que indica que esta bactéria acessa o leite cru a partir de diferentes fontes de contaminação, além da água. Assim, a cloração foi eficiente apenas na redução da contagem de *E. coli* e *Pseudomonas* sp. na água.

Palavras-chave: Leite granelizado. Microbiota contaminante. Limpeza.

ABSTRACT

This study aimed to evaluate the influence of chlorination of water used in the hygiene of expansion tanks in the Escherichia coli and Pseudomonas sp. count of refrigerated raw milk. Samples of raw milk and water from 18 expansion tanks were evaluated for one year, and in 9 tanks there was no water chlorination system implanted during 12 months and in the other 9, for 6 months there was no chlorination of water and in the next 6 months the system was deployed. For determination of E. coli in raw milk and water, the Most Probable Number (MPN) technique was used and for the count of Pseudomonas sp. Pseudomonas Isolation Agar (PIA) was used. Mean values of 1.5 MPN/mL and 1.6 MPN/mL of E. coli in milk and water, respectively, were found in the samples from the 9 tanks where the water used was not chlorinated for 12 months. Samples of milk and water from the 9 tanks that received chlorinated water during the

6-month period showed a mean of 1.8 MPN/mL and <1.1 MPN/mL of *E. coli*, respectively. The mean count of *Pseudomonas* sp. in the water samples from the 9 tanks where the water used in the cleaning process was not stained for 6 months and then chlorinated was 1.1×10^3 CFU/mL and 1.2×10^2 CFU/mL, respectively. On the other hand, the average of *Pseudomonas* sp. counts was 9.8×10^4 CFU/mL and 5.1×10^5 CFU/mL in the milk samples from the tanks in which the water used in the cleaning process was not stained for 6 months and then later chlorinated, respectively, indicating that this bacterium accesses raw milk from different sources of contamination, in addition to water. Thus, chlorination was only effective in reducing the count of *E. coli* and *Pseudomonas* sp. from water.

Keywords: Bulk milk.
Contaminating microbiota.
Cleaning.

INTRODUÇÃO

A contaminação do leite cru por micro-organismos é um problema para o setor produtivo e pode ser reflexo da utilização de água não tratada para limpeza dos tanques de expansão utilizados no armazenamento do produto na propriedade (TALMA et al., 2009). A Instrução Normativa nº 62 (BRASIL, 2011a) determina que a água destinada à produção de leite e à indústria de laticínios deve ser tratada e clorada. Na maioria das propriedades rurais que possuem tanques de expansão, porém, a água utilizada nos processos é obtida por meio de captação própria, com a perfuração de poços subterrâneos ou nascentes. Poucas propriedades realizam tratamento da água, fato preponderante em se tratando do processamento de alimentos (FERREIRA et al., 2009). Ainda de acordo com os

autores, a região de Rio Pomba/MG é rica em água de subsolo, sendo fácil a utilização de poços não muito profundos, apresentando também razoável número de nascentes que afloram na superfície.

Leite Júnior et al. (2014) constataram a ocorrência de *Escherichia coli* produtora de toxina Shiga (STEC) em amostra de água utilizada em uma propriedade rural da região de Rio Pomba, MG. Portanto, a água procedente de algumas propriedades rurais representa uma fonte potencial de contaminação do leite e pode veicular bactérias indesejáveis ao mesmo. Por outro lado, *Pseudomonas* sp. é importante agente de deterioração do leite cru e muitas espécies deste gênero produzem proteases e lipases termorresistentes que contribuem, consideravelmente, para a deterioração de produtos lácteos (PINTO, MARTINS e VANETTI, 2006). Essas bactérias são normalmente encontradas na água e em vasilhames que não foram higienizados adequadamente.

Segundo Mendonça, Rapinie Cerqueira (2002), a cloração da água é um método seguro, de baixo custo e de fácil adoção nas propriedades leiteiras e deveria ser implantada como prática de controle microbiológico nos processos de obtenção do leite, uma vez que a associação entre a qualidade do leite e da água pode ser representada por um conjunto de fatores necessários a fim de se obter higienização correta de equipamentos, utensílios e pessoas envolvidas na ordenha. Neste trabalho objetivou-se avaliar a influência do sistema de cloração da água utilizada na higienização dos tanques de granelização de leite cru do município de Rio Pomba, MG, na contagem de *E. coli* e *Pseudomonas* sp.

MATERIAL E MÉTODOS

Durante um ano foram coletadas amostras de 500 mL da água proveniente das mangueiras utilizadas

para limpeza dos tanques de expansão individuais e coletivos de leite cru granelizado do Município de Rio Pomba/MG. As amostras foram acondicionadas em frascos esterilizados e após a coleta foram transportadas em caixas térmicas com temperatura inferior a 4°C para o Laboratório de Microbiologia de Alimentos. Simultaneamente, à coleta de amostras de água e em separado, foram coletadas amostras de leite cru que foram transportadas em caixas térmicas com temperatura de 4°C para o mesmo Laboratório.

As amostras de leite cru refrigerado e de água foram coletadas em seis tanques de expansão de cada categoria, ou seja, com capacidade de até 800 L, de 801 a 1500L e de 1501 a 3000L, num total de 18 tanques. Na etapa de cloração foram selecionados, aleatoriamente, 3 tanques de cada categoria para receber o sistema de cloração da água (OTENIO et al., 2010) que era utilizada na sua limpeza e os outros 3 tanques de cada categoria ficaram sem receber o sistema de cloração. Portanto, 9 tanques (2, 4, 6, 7, 8, 10, 11, 15 e 18) ficaram sem sistema de cloração da água implantado por 12 meses e 9 tanques (1, 3, 5, 9, 12, 13, 14, 16 e 17) não tiveram sistema de cloração da água implantado por 6 meses e nos próximos 6 meses o sistema de cloração foi implantado.

As amostras de leite cru procedentes dos tanques de expansão da água utilizada na sua higienização foram submetidas à enumeração de *E. coli* de acordo com Kornacki e Johnson (2001) e de *Pseudomonas* sp. em Ágar Para Isolamento de *Pseudomonas* (PIA).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Constatou-se que 33% e quatro (44%) amostras de leite cru e de água não possuíam *E. coli* respectivamente, entre as coletadas dos nove (9) tanques

Tabela 1 - Média do Número Mais Provável de *E. coli* (NMP/mL) e da contagem de *Pseudomonas* sp. (UFC/mL) nas amostras de leite e de água procedentes dos tanques em que a água utilizada no processo de limpeza não recebeu cloração em nenhuma das etapas do trabalho

Tanques	Amostras de leite		Amostras de água	
	<i>E. coli</i>	<i>Pseudomonas</i> sp.	<i>E. coli</i>	<i>Pseudomonas</i> sp.
2	< 1,1	9,7 x 10 ⁴	< 1,1	<1,0 x 10 ¹
4	4,1	1,0 x 10 ⁵	8,6	4,2 x 10 ²
6	< 1,1	9,5 x 10 ⁵	1,1	1,3 x 10 ¹
7	1,1	3,6 x 10 ⁵	2,0	2,2 x 10 ²
8	4,3	4,5 x 10 ⁵	1,1	1,1 x 10 ⁵
10	1,1	<1,0 x 10 ¹	1,2	<1,0 x 10 ¹
11	1,4	4,9 x 10 ⁴	< 1,1	< 1,0 x 10 ¹
15	1,9	1,3 x 10 ⁵	< 1,1	3,2 x 10 ²
18	< 1,1	5,1 x 10 ⁵	< 1,1	5,7 x 10 ¹
Média	1,5	2,9 x 10 ⁵	1,6	1,2 x 10 ⁴

Tabela 2 - Média do Número Mais Provável de *E. coli* (NMP/mL) e da contagem de *Pseudomonas* sp. (UFC/mL) nas amostras de leite procedentes dos tanques em que a água utilizada no processo de limpeza não recebeu cloração e que posteriormente passou a ser clorada

Tanques	Antes da Cloração		Após a cloração	
	<i>E. coli</i>	<i>Pseudomonas</i> sp.	<i>E. coli</i>	<i>Pseudomonas</i> sp.
1	1,7	2,1 x 10 ³	< 1,1	3,1 x 10 ⁴
3	2,6	8,1 x 10 ⁴	1,1	1,1 x 10 ⁵
5	1,1	4,7 x 10 ⁵	2,3	1,2 x 10 ⁵
9	1,1	8,0 x 10 ³	3,0	1,5 x 10 ⁴
12	1,1	2,3 x 10 ³	3,3	1,1 x 10 ⁵
13	1,1	2,8 x 10 ⁵	1,1	1,8 x 10 ⁵
14	1,7	4,3 x 10 ³	3,6	2,8 x 10 ⁵
16	1,7	1,5 x 10 ³	< 1,1	2,0 x 10 ⁵
17	1,8	2,9 x 10 ⁴	1,7	3,5 x 10 ⁶
Média	1,5	9,8 x 10 ⁴	1,8	5,1 x 10 ⁵

em que o sistema de cloração não foi utilizado durante um ano (Tabela 1). A presença de *E. coli* na água utilizada na obtenção ou processamento, bem como no alimento, indica má qualidade higienicossanitária, o que pode acarretar na veiculação de micro-organismos patogênicos para os consumidores e representa um problema de saúde pública. A principal fonte de contaminação por *E. coli* são as fezes, entretanto, esta bactéria está presente também no solo, água, plantas, trato intestinal dos animais de sangue quente, entre outros. É necessária, portanto, a higienização adequada das mãos pelos ordenhadores e manipuladores, bem como dos equipamentos a serem utilizados na ordenha, transporte e armazenamento do leite. Além disso, a qualidade

da água é de fundamental importância para limitar a veiculação de micro-organismos para o leite.

Somente um tanque em que a água utilizada no processo de limpeza não recebeu cloração por um ano não apresentou *Pseudomonas* sp. no leite (Tabela 1). A contagem média de *Pseudomonas* sp. no leite foi de, aproximadamente, 10⁵UFC/mL (Tabela 1), o que pode comprometer o processamento se este alimento for mantido armazenado sob refrigeração devido ao aumento da contagem dessa bactéria e acúmulo de enzimas extracelulares como proteases, lipases e lecitinas. A contaminação na água por *Pseudomonas* sp. de, aproximadamente, 10⁴ UFC/mL, é um fator preocupante, visto que a água é utilizada na higienização dos tanques de expansão.

Segundo Perkins et al. (2009), a ocorrência de bactérias, como *E. coli* e outras do grupo coliformes, em amostras de água utilizada na lavagem de tanques de expansão em fazendas leiteiras resultam em altas contagens de bactérias no leite. Esta contaminação ocorre em função do contato com bactérias remanescentes presentes na água de lavagem do tanque que entram em contato com o leite. Bactérias do grupo coliformes, como *E. coli*, estão entre os agentes etiológicos da mastite e, assim, podem ser eliminadas do úbere para o leite. Dessa forma, o uso de água não potável, além de ocasionar o aumento da contagem total de bactérias (CTB) no leite, possibilita a contaminação deste alimento e de seus derivados com patógenos de importância

Tabela 3 - Média do Número Mais Provável de *E. coli* (NMP/mL) e da contagem de *Pseudomonas* sp. (UFC/mL) nas amostras de água procedentes dos tanques em que a água utilizada no processo de limpeza não recebeu coloração e que posteriormente passou a ser clorada.

Tanques	Antes da cloração		Após a cloração	
	<i>E. coli</i>	<i>Pseudomonas</i> sp.	<i>E. coli</i>	<i>Pseudomonas</i> sp.
1	5,8	$8,5 \times 10^3$	1,2	$< 1,0 \times 10^1$
3	6,1	$2,0 \times 10^2$	1,5	$< 1,0 \times 10^1$
5	1,1	$8,5 \times 10^1$	1,1	$1,0 \times 10^3$
9	2,9	$5,9 \times 10^2$	1,1	$< 1,0 \times 10^1$
12	1,9	$1,8 \times 10^2$	1,1	$5,0 \times 10^1$
13	1,7	$4,0 \times 10^1$	1,1	$< 1,0 \times 10^1$
14	$< 1,1$	$1,2 \times 10^2$	$< 1,1$	$< 1,0 \times 10^1$
16	1,2	$2,3 \times 10^2$	$< 1,1$	$< 1,0 \times 10^1$
17	1,1	$1,0 \times 10^1$	$< 1,1$	$< 1,0 \times 10^1$
Média	2,4	$1,1 \times 10^3$	$< 1,1$	$1,2 \times 10^2$

em saúde pública (PICININ, 2010). Segundo Amaral et al. (2007), a qualidade da água usada na produção e manipulação de alimentos é constantemente negligenciada, característica também constatada no presente trabalho.

A média da contagem de *Pseudomonas* sp. em Log UFC/mL das amostras de leite cru procedentes dos tanques em que a água utilizada no processo de higienização não foi e foi clorada por seis meses, respectivamente, foi de $9,8 \times 10^4$ e $5,1 \times 10^5$ (Tabela 2), o que indica que a cloração da água não foi eficaz na redução da contagem deste gênero bacteriano no leite cru. Entretanto, o processo de cloração reduziu em média um ciclo logarítmico da contagem média de *Pseudomonas* sp. da água utilizada na higienização dos tanques de expansão (Tabela 3).

Apenas duas (22%) amostras de leite não apresentaram *E. coli* após a limpeza em que a água foi clorada por seis meses (Tabela 2), já a contagem média de *Pseudomonas* sp. manteve-se praticamente constante após a cloração (Tabela 2).

Após a implantação do sistema de cloração, o Número Mais Provável

médio de *E. coli* na água foi $< 1,1$ (Tabela 3), já a média da contagem de *Pseudomonas* sp. reduziu em $9,8 \times 10^2$ UFC/mL (Tabela 3). Embora a água não apresente condições ideais para a multiplicação de micro-organismos, ela constitui uma excelente via de transmissão de agentes patogênicos para seres humanos e animais, principalmente aqueles que fazem a rota fecal-oral, uma vez que as atividades urbanas e rurais têm contaminado os lençóis de água utilizados para o abastecimento em geral (LIBÂNIO, CHERNICHARO e NASCIMENTO, 2005). Entretanto, de acordo com a portaria nº 2914 (BRASIL, 2011b), a água tratada tem que ter ausência, em 100 mL, de coliformes totais, termotolerantes e *E. coli*.

Resultados semelhantes foram relatados por Ângelo et al. (2014), ao constatarem que amostras de leite cru em tanques de refrigeração individuais e coletivos apresentaram contagens de bactérias psicrotróficas que variaram de $4,0 \times 10^1$ UFC/mL a $2,1 \times 10^4$ UFC/mL, e $7,2 \times 10^3$ UFC/mL a $8,8 \times 10^5$ UFC/mL, respectivamente. Por sua vez, Lamas et al. (2015), ao analisarem 18 amostras de água utilizadas na limpeza de

tanques de granelização na região de Rio Pomba/ MG, constatarem que 16 destas continham coliformes termotolerantes, variando de 0,4 a 16,53 NPM/100mL.

Ramires, Berger e Almeida (2009) avaliaram a qualidade microbiológica da água de 162 propriedades, sendo que todas estavam em de acordo com o padrão para coliformes totais, 92 para coliformes fecais e 56 para contagem padrão em placas de bactérias heterotróficas. Porém, de acordo com Sá et al. (2011), das 110 amostras de leite cru avaliadas, 104 apresentaram valores elevados para coliformes totais, 86 para coliformes fecais e 40 para contagem bacteriana total. Estes resultados demonstram que a água dessas propriedades não estava adequada para ser usada na limpeza do equipamento de ordenha, do tanque de expansão ou de outros utensílios.

CONCLUSÃO

Apesar da cloração da água ter reduzido a sua contagem de *Pseudomonas* sp., as fontes de contaminação do leite cru são muitas, o que permite o acesso das bactérias deste

gênero ao leite, o qual é rico em nutrientes e facilita a multiplicação microbiana. Além disso, a maioria das *Pseudomonas* presentes no leite cru são psicrotróficas, o que permite sua multiplicação nas temperaturas de refrigeração aplicadas no armazenamento do leite cru nas propriedades. Como foi constatada *E. coli* em várias amostras de leite e de água procedente dos 18 tanques utilizados nos experimentos, faz-se necessária a implementação das boas práticas agropecuárias nas propriedades produtoras de leite do município de Rio Pomba/ MG, a fim de obter leite de melhor qualidade e adequado ao processamento.

Agradecimentos

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) e ao Grupo PET Ciências Agrárias do Instituto Federal do Sudeste de Minas Gerais – Campus Rio Pombapelo apoio financeiro.

REFERÊNCIAS

- AMARAL, LA et al. Água utilizada em estabelecimentos que comercializam produtos cárneos, na cidade de Jaboticabal/SP, como via de contaminação dos alimentos. **Rev Bras Ciência Veterinária**, Niterói, v.14, n.1, p.3-6, 2007.
- ÂNGELO, FF et al. Bactérias psicrotróficas em leite cru refrigerado. **Rev Científica de Medicina Veterinária**, Garça, SP, ano XII, n.22, 2014.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal. Instrução Normativa n.º62, de 29 de dezembro de 2011. Qualidade de Leite Pasteurizado e o Regulamento técnico da coleta de leite cru refrigerado e seu transporte a granel. **DO** da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 30 dez., 2011a.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Portaria n.º2.914, 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. **DOU**, Brasília, DF, dez., 2011b.
- FERREIRA, AA et al. Avaliação da qualidade da água utilizada no processamento de leite e derivados do CE-FET Rio Pomba, MG. In: IV FÓRUM REGIONAL DE LATICÍNIOS E III FÓRUM REGIONAL DE ALIMENTOS. **Anais...** Instituto Federal de Educação, Ciência Tecnologia do Sudeste MG. Rio Pomba. 2009. CD-ROM.
- KORNACKI, JL; JOHNSON, JL. Enterobacteriaceae, coliforms, and *Escherichia coli* as quality and safety indicators. In: **Compendium Of Methods For The Microbiological Examination Of Foods**. 4.ed. Washington: American Public Health Association – APHA, p. 69-82, 2001.
- LAMAS, JMN et al. Qualidade da água utilizada na limpeza dos tanques de granelização de leite cru: implantação e avaliação da cloração da água para garantia da qualidade do produto. **RevInst Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v.70, n.5, p.239-252, set/out, 2015.
- LEITE JÚNIOR, BRC et al. Occurrence of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) in bovine feces, feed, water, raw milk, pasteurized milk, Minas Frescal cheese and ground beef samples collected in Minas Gerais, Brazil. **nationalFoodResearchJournal**, v.21, n.6, p.2481-2486, 2014.
- LIBÂNIO, PAC; CHERNICHARO, CAL; NASCIMENTO, NO. A dimensão da qualidade de água: avaliação da relação entre indicadores sociais, de disponibilidade hídrica, de saneamento e de saúde pública. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, Rio de Janeiro, v.10, n.3, p 219-228, 2005.
- MENDONÇA, AH; RAPINI, LS; CERQUEIRA, MMOP. Avaliação da qualidade da água e dos procedimentos de higienização de tanques de expansão e sua relação com a qualidade do leite cru resfriado. **RevInst de Laticínios Cândido Tostes**, v.57, n.327, p.278-281, 2002
- OTENIO, MH; CARVALHO, GLO; SOUZA, AM; NEPOMUCENO, RSC. **Cloração de água para propriedades rurais**. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite. 2010. 4p.
- PERKINS, NR et al. An analysis of the relationship between bulk tank milk quality and wash water quality on dairy farms in Ontario, Canada. **JournalofDairyScience**, v.92, n.8, p.3714-3722, 2009.
- PICININ, LCA. Quantidade e qualidade da água na produção de bovinos de leite. In: SIMPÓSIO PRODUÇÃO ANIMAL E RECURSOS HÍDRICOS, 1., 2010, Concórdia. **Anais...** Concórdia: Embrapa Suínos e Aves, 2010. p.57-71.
- PINTO, CLO; MARTINS, ML; VANETTI, MCD. Qualidade microbiológica de leite cru refrigerado e isolamento de bactérias psicrotróficas proteolíticas. **CiêncTecnolAliment**, v.26, n.3, p.645-651, 2006.
- RAMIRES, CH; BERGER, EL; ALMEIDA, R. Influência da qualidade microbiológica da água sobre a qualidade do leite. **ArchivesofVeterinary Science**, v.14, n.1, p.36-42, 2009.
- SÁ, OR et al. Avaliação da qualidade higiênico-sanitária do leite cru refrigerado produzido em propriedades leiteiras do município de Passos e região. **Ciência et Praxis**, v.4, n.8, p.23-30, 2011.
- TALMA, SV et al. Avaliação das condições de armazenamento e da qualidade microbiológica do leite cru dos tanques de granelização da região de Rio Pomba, MG. In: CONGRESSO NACIONAL DE LATICÍNIOS, 26, 2009. **Anais...** Juiz de Fora, 2009.