

Identificação de biofilmes em tanques de expansão para resfriamento na região noroeste do estado do Rio Grande do Sul

J.M.Bender¹, S. Bavaresco², A.S.Ribeiro³, D.F.L. Rocha⁴, A.H. Michelotti⁵, C. Guarienti⁶, M.S. Oliveira⁷

1- Aluno do curso de Técnico em Alimentos – Instituto Federal Farroupilha Campus Santo Augusto, Rua Fábio João Andolhe nº110 - CEP: 98590-000 – Santo Augusto – RS – Brasil, Telefone: (xx-55)3781-3555 – Fax: (xx-55)3781-3555 – e-mail: (joao_bender_95@hotmail.com)

2 – Aluna do curso superior em Tecnologia de Alimentos – Instituto Federal Farroupilha Campus Santo Augusto, Rua Fábio João Andolhe nº110 - CEP: 98590-000 – Santo Augusto – RS – Brasil, Telefone: (xx-55)3781-3555 – Fax: (xx-55)3781-3555 – email (simoni13bavaresco@hotmail.com)

3- Técnica em Laboratório - Instituto Federal Farroupilha Campus Santo Augusto, Rua Fábio João Andolhe nº110 - CEP: 98590-000 – Santo Augusto – RS – Brasil, Telefone: (xx-55)3781-3555 – Fax: (xx-55)3781-3555 – email: (alice@sa.iffarroupilha.edu.br)

4- Técnica em Laboratório - Instituto Federal Farroupilha Campus Santo Augusto, Rua Fábio João Andolhe nº110 - CEP: 98590-000 – Santo Augusto – RS – Brasil, Telefone: (xx-55)3781-3555 – Fax: (xx-55)3781-3555 – email 5 - Docente Instituto Federal Farroupilha Campus Santo Augusto, Rua Fábio João Andolhe nº110 - CEP: 98590-000 – Santo Augusto – RS – Brasil, Telefone: (xx-55)3781-3555 – Fax: (xx-55)3781-3555 – email: (adriana.michelotti@sa.iffarroupilha.edu.br)

6 - Docente Instituto Federal Farroupilha Campus Santo Augusto, Rua Fábio João Andolhe nº110 - CEP: 98590-000 – Santo Augusto – RS – Brasil, Telefone: (xx-55)3781-3555 – Fax: (xx-55)3781-3555 – email: (cintia@sa.iffarroupilha.edu.br)

7 - Docente Instituto Federal Farroupilha Campus Santo Augusto, Rua Fábio João Andolhe nº110 - CEP: 98590-000 – Santo Augusto – RS – Brasil, Telefone: (xx-55)3781-3555 – Fax: (xx-55)3781-3555 – email: (mel_dso@sa.iffarroupilha.edu.br)

RESUMO – A região noroeste do Rio Grande Sul, engloba um grande número de produtores leiteiros, formando uma bacia leiteira importante. Com a granelização do leite, introduzida pela Instrução Normativa nº 51 de 2002, os produtores foram instruídos a estocar o produto em tanques de expansão. Desta forma resolve-se os problemas de resfriamento, mas inicia-se a preocupação com a correta limpeza e higienização dos tanques, pois, quando esse processo é ineficiente, há a possibilidade de adesão destes em superfícies, formando biofilme, que é agregação de células microbianas. Uma vez que esses microrganismos estejam aderidos ou formem biofilmes haverá resistência á remoção pelos processos de sanitização e as células serão liberadas continuamente para o alimento. Desta forma, o presente trabalho tem como objetivo verificar a existência de biofilmes em tanques de expansão utilizados por produtores leiteiros da região noroeste do Rio Grande do Sul, e identificar os microrganismos indicadores e microrganismos psicrotróficos.

ABSTRACT – The northwestern region of Rio Grande do Sul, encompassing a large number of dairy farmers, forming an important dairy region. With the bulk milk from milk, introduced by Instruction No. 51 of 2002, producers were instructed to be stored in cooling tanks. Thus solves the problems of cooling, but the concern begins with proper cleaning and sanitizing of tanks, because when this process is inefficient, there is the possibility of accession of these surfaces, forming biofilms, which is the aggregation of cells microbial. Since these microorganisms are attached and form biofilms will be resistance to removal by the processes of sanitization and the cells are continuously released into the food. Thus, this study aims to verify the existence of biofilms in cooling tanks used by dairy farmers in the northwest region of Rio Grande do Sul, and identify the indicators and psychrotrophic microorganisms.

PALAVRAS-CHAVE: biofilme, produção leiteira, análise microbiológica.

KEYWORDS: biofilm, milk production, microbiological.

1. INTRODUÇÃO

A região noroeste do estado do Rio Grande do Sul se destaca pela sua bacia leiteira composta em sua grande maioria por pequenos produtores com característica de agricultura familiar, atividade que garante renda e necessita de um acompanhamento técnico para garantia de qualidade e permanência no mercado, uma vez que as indústrias de laticínios estão cada vez mais rigorosas no controle da sua matéria-prima. Nesse sentido surgiu em 2002 a Instrução Normativa nº 51 do Ministério da Agricultura, que regulamenta padrões mínimos de qualidade da matéria-prima, onde prevê-se a extinção de resfriadores de imersão e a implantação do sistema de granelização, ou seja, resfriadores de expansão.

Biofilme é a agregação de células microbianas, crescendo e se multiplicando em uma superfície, sendo essa agregação promovida por substâncias poliméricas extracelulares produzidas pelos próprios microrganismos (FLINT; BREMER; BROOKS, 1997). Apesar dos métodos de higienização aplicados aos tanques de expansão e aos equipamentos industriais serem em tese bastante eficientes, há casos em que a higienização realizada deficientemente não remove microrganismos nessas superfícies. Uma vez que esses microrganismos estejam aderidos ou formem biofilmes haverá resistência à remoção pelos processos de sanitização ao mesmo tempo em que células são liberadas continuamente para o alimento (FIGUEREDO, 2009).

Diante do exposto devemos considerar que determinados patógenos podem representar perigo a saúde ainda que em concentrações baixas e além do problema de saúde pública causado pelos microrganismos indicadores, microrganismos como os psicrotróficos apresentam problemas de ordem tecnológica, uma vez que alteram o rendimento do leite nas indústrias beneficiadoras e não são eliminados nos processos convencionais de pasteurização (SMIT, 2000). Nesse sentido, o presente trabalho propõe fazer um mapeamento das condições higiênico-sanitárias dos tanques de expansão dos produtores de leite da região noroeste, com objetivo de promover melhorias na qualidade da matéria-prima proporcionando a conscientização da importância de práticas higiênicas para prevenção da contaminação e do crescimento microbiano na cadeia produtiva do leite para reduzir problemas tecnológicos e econômicos na indústria de laticínios (PINTO, 2006).

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Coleta de amostras

As amostras foram coletadas de tanques de expansão de produtores de leite do município de Santo Augusto – RS, e foram identificadas como produtores A, B, C, D e E. Após as coletas o material foi transportado, sob refrigeração, imediatamente para o laboratório de microbiologia do Instituto Federal Farroupilha – Campus Santo Augusto.

2.2 Determinações microbiológicas

O material foi coletado dos tanques de expansão pela técnica de swab com a área delimitada em 50 cm². Após a coleta o material será imerso imediatamente em tubos contendo 10 ml de água peptonada 0,1% estéril, e acondicionado em refrigeração até o momento da análise que não ultrapassará 12 horas.

Contagem de Aeróbios Mesófilos

A contagem de microrganismos aeróbios mesófilos foi realizada pelo método de plaqueamento em profundidade utilizando como meio de cultura o Agar padrão para contagem (PCA), esterilizado em autoclave a 121°C/ 15 minutos. Serão realizadas 3 diluições, onde 1 mL de cada diluição será inoculado em duplicata em placas de petri. Após a inoculação a incubação será feita em posição invertida a 35°C/48 horas. Transcorrido o tempo de incubação será realizada a contagem, multiplicando a média aritmética das mesmas pelo respectivo fator

de diluição, e expresso o resultado em log de unidades formadoras de colônias por um grama de amostra (UFC/g).

Contagem de Coliformes Totais e Termotolerantes

A contagem de coliformes totais e termotolerantes foi realizada pela técnica do Número mais Provável (NMP). Para a contagem presuntiva de coliformes foi inoculado 1 mL de cada diluição em meio de cultura Caldo Lauril Sulfato Triptose (LST) com tubos de Durhan invertidos e em seguida incubados a 35°C por 48 horas. Como não houve turvação ou formação de gás nos tubos de Durhan, não realizamos os testes confirmativos com Caldo Verde Brilhante Bile 2% e Caldo EC (Caldo *Escherichia coli*).

Contagem de Bolores e Leveduras

A contagem de bolores e leveduras foi realizada por plaqueamento em superfície usando como meio de cultura o Agar batata dextrose (PDA) dissolvido e esterilizado em autoclave a 121°C/ 15 minutos, acidificado com ácido tartárico a 10% para levar o pH a 3,5 ±0,1. Serão realizadas 3 diluições, onde 1 mL de cada diluição será inoculado em duplicata em placas de petri. As placas foram incubadas em posição invertida de 20 a 25°C/ 3 a 5 dias. Após a contagem o resultado é expresso em log de unidades formadoras de colônia por grama de amostra (UFC/g).

Contagem de Psicotróficos

A contagem de aeróbios psicotróficos foi realizada através de inoculação por plaqueamento em superfície usando como meio de cultura o Agar padrão para contagem (PCA). Serão realizadas 3 diluições, onde 1 mL de cada diluição será inoculado em duplicata em placas de petri contendo o meio de cultura especificado acima sendo que a incubação será feita a 7°C/ 10 dias ou 17°C/ 16 horas seguido de mais 3 dias a 7°C. O resultado é expresso em log de unidades formadoras de colônias por um grama de amostra (UFC/g).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados das análises realizadas se encontram no quadro abaixo.

Tabela 1. Resultados das análises microbiológicas.

	A	B	C	D	E
PCA logUFC/cm ²	2	1,84	1,60	2,20	1,77
PDA logUFC/cm ²	2,3	2,57	2,04	1,95	2,04
PSICOTRÓFICOS logUFC/cm ²	1,69	2,11	Não detectado	Não detectado	Não detectado
COLIFORMES	Não detectado	Não detectado	Não detectado	Não detectado	Não detectado
FECAIS (NMP)	detectado	detectado	detectado	detectado	

Tanto a contagem dos microrganismos aeróbios mesófilos, psicotróficos e coliformes termotolerantes foi baixa ou não detectada, provavelmente, seja consequência da correta higienização dos tanques e do estado de conservação pelo pouco tempo de uso. O processo de higienização deve ser adequado para não provocar a formação de ranhuras nas superfícies dos tanques que entram em contato com o leite, evitando o acúmulo de microrganismos e consequente formação de biofilme. Quanto aos microrganismos psicotróficos, os resultados demonstram que sua presença não é significativa, o que é importante visto que embora a presença de bactérias psicotróficas não apresentem problemas muito sérios para indústria, por serem eliminadas no processamento térmico, as enzimas produzidas e secretadas por esses microrganismos apresentam efeitos deteriorantes. A contagem de coliformes totais e termotolerantes não foi detectada. Os resultados mostraram, também a presença de bolores e

leveduras (PDA), o que pode ser oriundo do ar ambiente do local onde foram coletadas as amostras, sujeitos à correntes de ar externo.

5. CONCLUSÕES

Os resultados demonstram que os tanques de expansão analisados apresentaram estado higiênico-sanitário adequado, decorrente de uma higienização efetiva e pelo fato de serem graneis novos. No entanto é importante a ação contínua dos órgãos de inspeção de produtos de origem animal, afim de orientar e conscientizar os produtores sobre a produção de matéria-prima com qualidade.

6. AGRADECIMENTOS

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão de bolsa de iniciação científica.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem animal – RIISPOA**. Brasília: 1980. 116p.

BRASIL. Ministério da Agricultura. **Regulamento da inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal**. (aprovado pelo decreto 30.6912 de 29/03/1952 e alterado pelo decreto 1255 de 25/06/1962). Brasília, 1980.

BRASIL. Ministério da Agricultura. **Normas técnicas e higiênico – sanitária para produção de leite tipo A**. (Portaria 17 de 29/10/1984). Brasília, 1984.

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. Coleta de leite cru refrigerado e seu transporte a granel**. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, n. 172, p. 8 a 13, 20 set. 2002^a. Seção I.

FIGUEREDO, H.M.; Et AL. **Influencia na velocidade de circulação do leite na adesão de *pseudomonas aeruginosa* sobre aço inoxidável**. Campinas, 29 (3): 469-473, jul-set. 2009.

FLINT, S.H.; BREMER, P.J.; BROOKS, J.D. **Biofilms in dairy manufacturing plant: description, current concerns ant methods of control**. Biofouling, v.11, n. 1, p. 81-87, 1997.

SMIT, G. **Dairy Processing Improving quality**. Boca Raton New York Washington, DC, 2003.

SILVA, N. [et al.] **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos** 3. Ed. – São Paulo: Livraria Varela, 2007. 552p.

PINTO, C.L.O.; MARTINS, M.L.; VANETTI, M.C.D. **Qualidade microbiológica de leite cru refrigerado e isolamento de bactérias psicrotróficas proteolíticas**. Campinas, 26 (3):645-651, jul-set, 2006.

TETRA PAK, **Dairy Processing Handbook**.