

Contaminação de Manteigas e o Efeito do Sal nos Microrganismos

Butter Contamination and the Effect of Salt on Microorganisms

Vanessa Ribeiro de França^a; Joice Sifuentes dos Santos^a; Ana Cristina Pinesso Ribeiro^a; Marcela de Rezende Costa^b; Cinthia Hoch Batista de Souza^a; Lina Casale Aragon Alegro^a; Elsa Helena Walter de Santana^{a*}

^aUniversidade Norte do Paraná, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia do Leite e Derivados, PR, Brasil

^bUniversidade Federal de Mato Grosso de Sul, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, MS, Brasil

*E-mail: elsahws@hotmail.com

Resumo

Manteiga é o quinto produto lácteo mais produzido, obtido a partir do creme de leite pasteurizado por processamento tecnológico adequado. O presente trabalho teve como objetivo avaliar a qualidade microbiológica e teores de cloreto de sódio de manteigas com e sem sal aos 30 e 90 dias de armazenamento. Nenhuma amostra apresentou contaminação por *Salmonella* spp. e *Staphylococcus aureus*. As contagens de coliformes totais, coliformes termotolerantes e *Escherichia coli* não aumentaram nas manteigas com e sem sal ao longo do armazenamento. O limite máximo permitido para contagem de coliformes totais foi ultrapassado por 33 % das amostras, e 25 % das amostras apresentaram contagem de coliformes termotolerantes acima do permitido. Ao comparar as manteigas com sal e sem sal, observou-se que os teores de cloreto de sódio tiveram correlação negativa com as contagens de coliformes termotolerantes e coliformes totais.

Palavras-chave: Coliformes Totais. Coliformes Termotolerantes. *E. coli*. Legislação.

Abstract

Butter is the fifth dairy product most produced worldwide. It is obtained from pasteurized milk cream by adequate technological processing. The present study aimed to evaluate the microbiological quality and salt levels of salt butter and sweet butter at 30 and 90 days of storage. Contamination by *Salmonella* spp and *Staphylococcus aureus* was not observed in all samples. Total coliforms, term tolerant coliforms and *Escherichia coli* counts did not increase during storage. The maximum permitted level of total coliforms exceeded in 33 % of samples, and 25 % of samples presented term tolerant coliforms counts above the permitted level. When comparing the salt butter and sweet butter, salt levels presented negative correlation with total and thermotolerant coliforms counts.

Keywords: Total Coliforms. Term Tolerant Coliforms. *E. coli*. Legal Standard.

1 Introdução

A manteiga é um produto lácteo encontrado em praticamente todas as regiões do país (INDÚSTRIA RURAL, 2011), com produção média nacional de 85 mil toneladas (EMBRAPA GADO DE LEITE, 2013). Independentemente da renda familiar, a média nacional de consumo de laticínios é de 43,7 Kg e, entre os derivados, a manteiga ocupa a quinta posição, com consumo médio de 0,3 Kg/ano (ZOCCAL, 2012). A Portaria nº 146 apresenta “Regulamentos técnicos de identidade e qualidade de manteiga”, e denomina como manteiga o produto gorduroso obtido exclusivamente pela bateção e malaxagem, com ou sem modificação biológica do creme pasteurizado derivado exclusivamente do leite de vaca, por processos tecnologicamente adequados. A matéria gorda da manteiga deve ser composta exclusivamente de gordura láctea (BRASIL, 1996). A manteiga contém cerca de 15% de água, 81% de gordura (parcialmente cristalizada), e geralmente menos de 0,5% de carboidratos e proteínas (WALSTRA *et al.*, 2006). É um produto gorduroso no qual a fase aquosa está dispersa na fase oleosa, formando uma emulsão do tipo água/óleo (MORAES *et al.*, 2007).

A qualidade da manteiga está diretamente relacionada

com a qualidade do leite ou do creme. Desta forma, as condições microbiológicas dessas matérias-primas utilizadas na fabricação do produto são consideradas fundamentais, já que podem refletir na qualidade do produto final. Uma das principais causas de perda de manteigas é a oxidação dos lipídios e a deterioração por microrganismos (MORAES *et al.*, 2007), sendo estes últimos responsáveis por alterações sensoriais da manteiga, tais como sabor pútrido, presença de ácidos voláteis e rancidez (WALSTRA *et al.*, 2006).

Os critérios e padrões microbiológicos para manteiga destinada ao consumo, de acordo com Agência Nacional de vigilância Sanitária (ANVISA), são de, no máximo, 10 Número Mais Provável (NMP) de coliformes termotolerantes/g, 100 UFC de estafilococos coagulase positiva/g e ausência de *Salmonella* spp./25 g (BRASIL, 2001). O Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) determina, ainda, que a manteiga produzida tenha no máximo 100 NMP de coliformes totais/g (BRASIL, 1996).

Este estudo teve como objetivo avaliar a qualidade microbiológica e o teor de cloretos de manteigas comercializadas na cidade de Londrina – PR durante 30 e 90 dias de armazenamento, de acordo com os padrões da legislação vigente.

2 Material e Métodos

2.1 Amostras

As amostras (embalagens de 200 g) foram obtidas em supermercados do município de Londrina-PR. Após a compra, as manteigas foram transportadas em caixas térmicas com gelo reciclável para os Laboratórios da Universidade Norte do Paraná – UNOPAR, onde foram mantidas armazenadas sob refrigeração durante todo o período de realização das análises microbiológicas.

Foram analisadas seis marcas de manteiga com sal e seis marcas de manteiga sem sal. De cada marca, foram analisados dois lotes diferentes, em dois períodos: após 30 e 90 dias de fabricação.

2.2 Análises microbiológicas

As embalagens foram higienizadas com álcool 70 % antes de sua abertura e retirada das amostras (BRASIL, 2003). Para pesquisa de *Salmonella* spp., 25g de amostra foram homogeneizados em caldo lactosado (ISO 6579, 2002).

Para a contagem dos demais micro-organismos, foram realizadas diluições decimais em solução salina 0,85 % a partir de 10 g de cada amostra. Aliquotas de 1 mL das diluições decimais selecionadas foram inoculadas em placas Petrifilm (3M Microbiology, St. Paul, MN, EUA) para pesquisa de coliformes totais e *Escherichia coli* (Pertifilm™ EC) a 35° C/48 h. A determinação das populações de coliformes termotolerantes (Pertifilm™ CC) foi realizada a 45° C/24 h. Para pesquisa de *Staphylococcus aureus*, foram utilizadas placas de Petrifilm™ Staph Express™ (3M), incubadas a 37° C/24 h. Todos os resultados de contagem foram expressos em log UFC (Unidades Formadoras de Colônia) por g da amostra.

2.3 Determinação de cloretos

As análises de cloretos foram realizadas conforme preconizado pelas normas do Instituto Adolfo Lutz (2008).

2.4 Padrões microbiológicos

Para os resultados microbiológicos de coliformes termotolerantes, *Salmonella* e *Staphylococcus aureus* obtidos,

utilizou-se, como padrão de qualidade, os limites estabelecidos pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) através da RDC nº 12 de 2001 (BRASIL, 2001). O padrão microbiológico para *S. aureus* foi discutido com o limite determinado pela legislação (BRASIL, 2001) para estafilococos coagulase positiva. Sabe-se que a produção da coagulase, uma enzima extracelular, é uma prova utilizada para correlacionar a cepa isolada com o risco de produção de enterotoxina estafilocócica (EE) e que grande parte dos *S. aureus* são produtores de EE (WONG; BERGDOLL, 2002).

A pesquisa de *E. coli*, apesar de não ser utilizada como indicador de qualidade pelas legislações nacionais, é considerada importante, já que indica se o alimento teve contaminação microbiana de origem fecal, e portanto pode estar em condições higiênicas insatisfatórias. Outro fato que deve ser considerado é que diversas linhagens de *E. coli* são comprovadamente patogênicas para o homem (FRANCO; LANDGRAF, 2004).

A ANVISA não estabelece padrões de qualidade para coliformes totais, que são bactérias pertencentes à família *Enterobacteriaceae*, encontradas nas fezes, solo e vegetais (FRANCO; LANDGRAF, 2004). Desta forma, os resultados obtidos foram comparados com os padrões microbiológicos determinados pelo MAPA (BRASIL, 1996).

2.5 Análise estatística

Os resultados foram avaliados através de teste t de *Student*, ao nível de 5 % de significância, utilizando o programa Statística 7.0.

3 Resultados e Discussão

A Tabela 1 apresenta as contagens de micro-organismos nas manteigas com sal e manteigas sem sal comercializadas em Londrina-PR aos 30 e 90 dias de armazenamento. Não houve diferença nas contagens de coliformes termotolerantes, coliformes totais e *E. coli* aos 30 dias de vida-de-prateleira das manteigas. Neste período, 25 % das amostras não atenderam ao limite máximo determinado pela legislação para a população de coliformes termotolerantes (BRASIL, 2001), e 33 % apresentaram contagem superior ao limite para coliformes totais (BRASIL, 1996).

Tabela 1: Populações (Média ± Desvio Padrão) de coliformes totais, coliformes termotolerantes e *Escherichia coli* e teores de cloreto de sódio em manteigas com e sem sal adquiridas em Londrina – PR, após 30 e 90 dias de armazenamento.

	Manteiga com sal		Manteiga sem sal	
	30 dias	90 dias	30 dias	90 dias
Coliformes totais	1,61 ^{Aa} ± 0,88	1,25 ^{AB} ± 0,61	2,46 ^{Aa} ± 1,85	2,46 ^{Aa} ± 1,20
Coliformes termotolerantes	1,24 ^{Aa} ± 0,59	1,09 ^{AB} ± 0,30	1,67 ^{Aa} ± 1,03	1,81 ^{Aa} ± 1,08
<i>Escherichia coli</i>	1,00 ^{Aa} ± 0,00	1,00 ^{Aa} ± 0,00	1,47 ^{Aa} ± 0,88	1,47 ^{Aa} ± 0,92
Cloreto de sódio	0,99 ^{Aa} ± 1,02	1,21 ^{AB} ± 1,05	0,23 ^{Bb} ± 0,00	0,28 ^{Aa} ± 0,09

Letras maiúsculas sobrescritas indicam diferença pelo teste t de *Student* (p<0,05) entre os 30 e 90 dias de armazenamento para manteiga com sal e manteiga sem sal separadamente.

Letras minúsculas sobrescritas indicam diferença pelo teste t de *Student* (p<0,05) aos 30 dias de armazenamento entre manteiga com sal e manteiga sem sal. Letras gregas sobrescritas indicam diferença pelo teste t de *Student* (p<0,05) aos 90 dias de armazenamento entre manteiga com sal e manteiga sem sal.

Limites legais:

Coliformes totais – 100 NMP/g ou 2 log NMP/g (BRASIL, 1996);

Coliformes termotolerantes – 10 NMP/g ou 1 log NMP/g (BRASIL, 2001);

Escherichia coli – não existem limites legais.

A enumeração de coliformes totais em alimentos processados é uma indicação de contaminação pós-sanitização ou pós-pasteurização, evidenciando práticas de higiene e sanitização fora dos padrões requeridos para o processamento do alimento (SILVA *et al.*, 2007).

Berticelli e Mota (2011) analisaram cinco marcas de manteigas no comércio de Francisco Beltrão (Paraná) e encontraram uma marca em desacordo com a Legislação para coliformes totais e termotolerantes. Carvalho e Alnoch (2009), no Estado do Mato Grosso, obtiveram todas as amostras de manteiga analisadas em conformidade com os limites da legislação para coliformes totais e contagens menores que 3 NMP/ g para coliformes termotolerantes. Já Sbampato *et al.* (2007), em Minas Gerais, encontraram quatro amostras de manteiga com contagem de coliformes termotolerantes acima do padrão legal.

A pesquisa de coliformes termotolerantes nos alimentos nos fornece, com maior segurança, informações sobre as condições higiênicas do produto (SILVA *et al.*, 2007), porém, a contagem de *E. coli* é o melhor indicador de contaminação fecal e de possível presença de enteropatógenos (FRANCO, LANDGRAF, 2004; SILVA *et al.*, 2007).

As contagens de coliformes totais, coliformes termotolerantes e *E. coli* aos 30 e 90 dias de armazenamento não apresentaram diferença significativa ($p > 0,05$), tanto nas manteigas com sal quanto nas manteigas sem sal (Tabela 1).

Aos 90 dias de armazenamento, observou-se diferença significativa ($p > 0,05$) nas contagens de coliformes totais e coliformes termotolerantes ao comparar as manteigas com sal e manteigas sem sal. A mesma relação não foi observada aos 30 dias de armazenamento ($p < 0,05$, Tabela 1).

Nenhuma manteiga apresentou contaminação por *Salmonella* spp. e *S. aureus*, estando, portanto, dentro dos padrões especificados pela Legislação Brasileira vigente, que estabelece a ausência de *Salmonella* spp. em 25 g e máximo

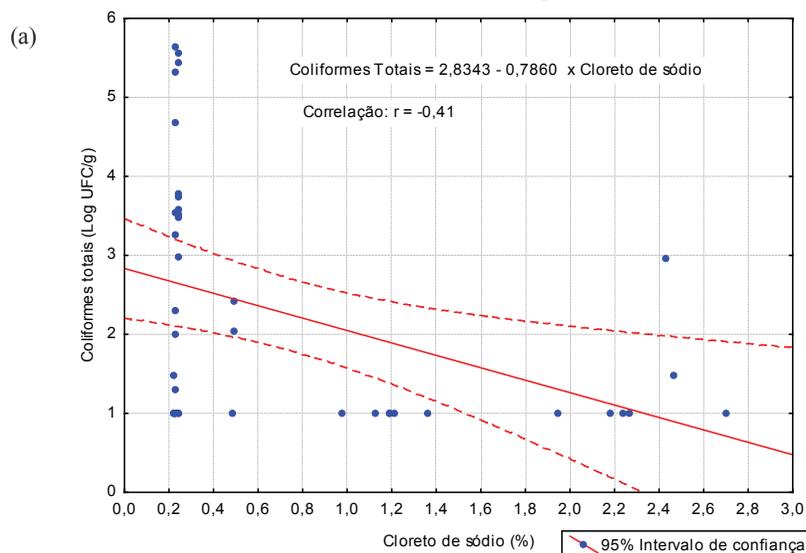
de 100 UFC/g de *Staphylococcus* coagulase positiva (BRASIL, 2001). Sbampato *et al.* (2007), em Minas Gerais, encontraram duas amostras de manteiga com contagem de estafilococos coagulase positiva acima do padrão, porém em nenhuma das amostras analisadas ocorreu contaminação por *Salmonella* spp.

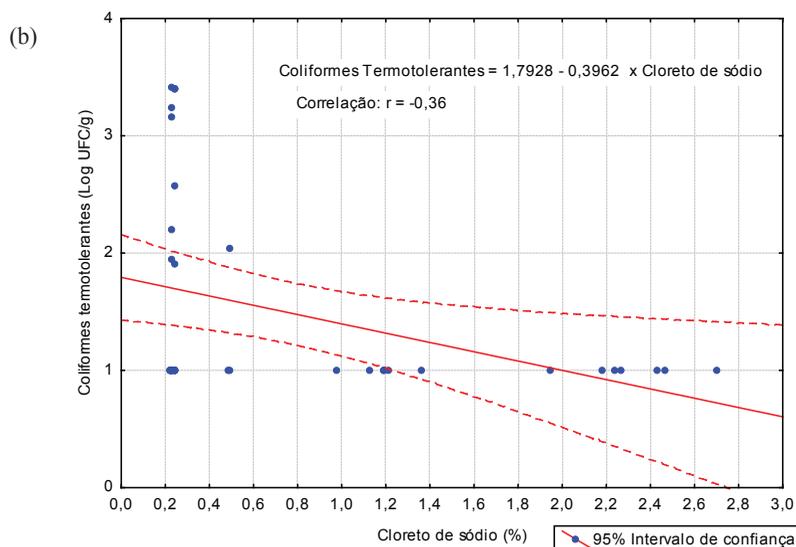
O teor de cloretos (Tabela 1) das amostras de manteiga com sal foi superior aos das amostras de manteiga sem sal ($p < 0,05$) aos 30 dias de armazenamento. Durante o armazenamento, não houve diferença no teor de cloretos para a manteiga com sal ($p > 0,05$), no entanto, observou-se um aumento neste parâmetro durante o armazenamento da manteiga sem sal ($p < 0,05$). Uma possibilidade é que tenha havido perda de umidade da manteiga e concentração de cloreto de sódio neste tipo de manteiga. O teor de cloreto das manteigas com sal foi, em média, 1,10 %. Augusta e Santana (1998) observaram valores semelhantes, de 1,11 % de cloreto de sódio em amostras de manteiga com sal.

A Portaria nº 146 fixa o limite de cloreto de sódio em manteiga salgada, que é de no máximo 2 % (BRASIL, 1996). Entre as amostras analisadas, 22,5 % das de manteiga com sal apresentaram valores superiores ao limite máximo de cloreto de sódio permitido. O processamento da manteiga com sal exige cuidados, pois o cloreto de sódio pode ser uma causa de alterações químicas e a distribuição da água se torna mais difícil, resultando em um maior tempo de malaxagem (WALSTRA *et al.*, 2006).

A Figura 1 apresenta a correlação entre as contagens de coliformes totais e termotolerantes e o teor de cloretos nas manteigas. Observou-se uma correlação negativa para as duas classes de microrganismos (coliformes totais $p < 0,10$; coliformes termotolerantes $p < 0,05$). O sal atua como agente redutor da atividade de água do produto, tornando a água indisponível para as reações de multiplicação de microrganismos. Além de ser responsável por parte do sabor do produto, o cloreto de sódio também atua como conservante.

Figura 1: Correlação entre a contagem de coliformes totais (a) e coliformes termotolerantes (b) e o teor de cloretos em manteigas com e sem sal adquiridas em Londrina – PR.





4 Conclusão

As manteigas com e sem sal comercializadas em Londrina – PR não apresentaram *Salmonella* spp. e *Staphylococcus aureus*, no entanto, algumas amostras apresentaram contagens de coliformes totais e coliformes termotolerantes acima do permitido pela Legislação Brasileira, sendo consideradas impróprias para o consumo. A presença de cloreto de sódio nas manteigas com sal controlou o desenvolvimento de coliformes totais e termotolerantes ao longo do armazenamento.

Agradecimentos

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão de bolsa do Programa Nacional de Pós Doutorado (PNPD).

Referências

- AUGUSTA, I.M.; SANTANA, D.M.N. Avaliação da qualidade de manteigas tipo extra comercializadas no Estado do Rio de Janeiro. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, v.18, n.4, p.379-381, 1998.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Portaria nº 146 de 07 de Março de 1996. Regulamentos técnicos de identidade e qualidade de manteiga. *Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil*, Brasília, 11 de mar 1996, 1996.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Instrução Normativa nº 62, de 26 de Agosto de 2003. Oficializa os Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água. *Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil*, Brasília, 26 de agosto de 2003.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 12, de 02 de Janeiro de 2001. Aprova o Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos. *Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil*, Brasília, 10 de janeiro de 2001.
- BERTICELLI, D.; MOTA, E. *Caracterização físico-química e microbiológica de manteigas comercializadas em Francisco Beltrão- PR*. 2011. 39f. Monografia. (Trabalho de Conclusão de

Curso) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Francisco Beltrão, 2011.

CARVALHO, M.M.; ALNOCH, R.C. Avaliação da qualidade higiênico-sanitária de diferentes amostras de manteiga e requeijão cremoso produzidos em uma indústria de laticínios da região de Tangará da Serra – MT. In: JORNADA CIENTIFICA DE UNEMAT, 2., 2009, Barra do Bugres MT. *Anais...* Barra do Burgues: Universidade do Estado do Mato Grosso, 2009.

EMBRAPA GADO DE LEITE. *Produção mundial de manteiga 2000-2008*. Disponível em: <<http://www.cnppl.embrapa.br/nova/informacoes/estatisticas/industria/tabela0422.php>>. Acesso em: 20 set. 2013.

FRANCO, B.D.G.; LANDGRAF, M. *Microbiologia dos alimentos*. Rio de Janeiro: Atheneu, 2004.

INDÚSTRIA RURAL, 2011. *Manteiga é um dos derivados mais consumidos no Brasil*. Disponível em: <<http://www.industriarural.com.br/laticinios/curso-producao-manteiga-coalhada-requeijao-barra/>> Acesso em: 24 abr. 2014.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. *Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz*. São Paulo: IAL, 2008.

ISO 6579. *Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the detection of Salmonella* spp. Amendent: The International Organization for Standardization, 2007.

MORAES, A.R.F. *et al.* Desenvolvimento e avaliação de filme antimicrobiano na conservação de manteiga. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, v.27, p.33-36, 2007.

SILVA, N. *et al.* *Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos*. São Paulo: Varela, 2007.

SBAMPATO, C.G. *et al.* Avaliação da qualidade físico-química e microbiológica da manteiga comum comercializada nas cidades de Três Corações e Varginha, MG. *Hig. Aliment.*, v.21, n.151, p.93-96, 2007.

WALSTRA, P. *et al.* *Dairy science and technology*. Boca Raton: CRC, 2006.

WONG, A.C.L.; BERGDOLL, M.S. Staphylococcal food poisoning. In: CLIVER, D. *Riemann foodborne diseases*. Amsterdam: Academic, 2002.

ZOCCAL, R. Consumo de leite e derivados no Brasil. In: CERQUEIRA, K.B.; ZOCCAL, R. *Panorama do leite, 2012*. São Paulo: Embrapa Gado de leite, 2012, p.5-10.