

ALGUNS GRUPOS DE MICRORGANISMOS EM MANTEIGAS VENDIDAS NO MUNICÍPIO DE SÃO PAULO *

Stelito Assis dos Reis Filho **
Sebastião Timo Iaria ***

REIS FILHO, S.A. dos & IARIA, S.T. Alguns grupos de microrganismos em manteigas vendidas no município de São Paulo. *Rev. Saúde públ., S. Paulo*, 15:418-35, 1981.

RESUMO: Foram colhidas 105 amostras de manteiga de 5 marcas diferentes vendidas em supermercados da cidade de São Paulo (Brasil) com a finalidade de verificar as condições microbiológicas de manteigas e compará-las com os padrões recomendados. Semanalmente foi colhida uma amostra de cada marca, durante 21 semanas. A partir da parte aquosa de cada amostra, foram realizadas as contagens de bactérias mesófilas e psicrófilas (em ágar padrão e ágar gelisato), coliformes, proteolíticas e de bolores e leveduras e os resultados comparados com alguns parâmetros propostos por vários pesquisadores. Os valores obtidos nas contagens dos vários grupos de microrganismos estudados, em muitos casos podem ser considerados altos, os quais podem ser resultado do processamento e/ou conservação, realizados em condições não satisfatórias.

UNITERMOS: Manteiga. Laticínios. Microbiologia.

INTRODUÇÃO

Os microrganismos, por várias razões, são muito importantes na manteiga e o creme, utilizado na fabricação deste produto, pode estar muito afetado pelo crescimento de bactérias, bolores e leveduras (Foster e col.¹¹, 1957). Assim sendo, a fim de se evitar tal problema, este alimento deve ser preparado a partir de creme de leite pasteurizado e empregando-se fermentos lácticos que devem ser constituídos de microrganismos selecionados. Estes são adicionados

durante o processo de fabricação da manteiga, com o intuito de conferir ao produto sabores e odores característicos, os quais contribuem para uma melhor qualidade e aceitação do mesmo.

Durante o processo de fabricação, os microrganismos têm ampla oportunidade de contaminar a manteiga. Por esta razão, as práticas diárias de higiene devem ser observadas com rigor, para prevenir uma possível contaminação ou recontaminação do

* Resumo da dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP, subordinada ao título "Determinação quantitativa de alguns grupos de microrganismos em manteigas vendidas em supermercados do município de São Paulo, 1977/78" para obtenção do título de Mestre em Ciência dos Alimentos.

** Do Curso de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos (Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP) e bolsista do Centro de Pesquisa e Desenvolvimento (CEPED) — Estado da Bahia.

*** Do Departamento de Microbiologia e Imunologia do Instituto de Ciências Biomédicas da USP "Setor Saúde Pública" — Laboratório de Microbiologia de Alimentos — Av. Dr. Arnaldo, 715 — 01255 — São Paulo, SP — Brasil.

creme. Cumpre salientar que alimentos com alto teor de gordura, como o creme e a manteiga, são produtos comumente envolvidos com problemas oriundos na lipólise, geralmente de origem não microbiana. Entretanto, algumas bactérias e leveduras e alguns bolores, quando presentes, são capazes de causar nestes alimentos, rancidez de origem oxidativa ou hidrolítica¹.

As alterações produzidas na manteiga são atribuídas a diversos grupos de microrganismos. As bactérias psicrófilas comumente têm-se mostrado causadoras de vários defeitos na manteiga, através da sua ação sobre a caseína e os lipídios^{2,17}. Assim, espécies de *Pseudomonas* estão, freqüentemente, associadas à deterioração da manteiga^{15,38}.

A ação dos microrganismos sobre lipídios se inicia por uma lipólise com formação de ácidos graxos que podem produzir odores desagradáveis na manteiga. A este respeito, Nashiff e Nelson²⁴ (1953) referem que as lipases produzidas por algumas espécies de *Pseudomonas* são ativadas a um pH entre 5,5 e 6,5 e inativadas a um pH 4,5.

Downes⁹ (1959) na África do Sul estudou, em amostras de manteiga, a ocorrência de rancificação e sua relação com a velocidade na produção de lipase pela *Pseudomonas fluorescens*, pela *Candida lipolytica* e por um bolor não identificado e ainda os ácidos graxos produzidos pela ação dessa enzima sobre a gordura do alimento em estudo. Esse autor, em suas pesquisas, verificou que a *Candida lipolytica* era o microrganismo deteriorante mais ativo entre aqueles por ele estudados. Observou ainda que, a -12°C e a 0°C , a rancificação era constatada após 3 meses e que a $13,3^{\circ}\text{C}$ essa alteração era detectada após o período de 72 h, havendo em todos os casos a produção de ácidos butírico, capríco, caprílico e cáprico. Muito embora as evidências mostrem que as *Pseudomonas* sp. psicrófilas sejam extremamente sensíveis à ação do calor, tem-se verificado que suas lipases e

proteínases são termoestáveis a certas temperaturas, requerendo 100°C por 20 min. para serem completamente inativadas³⁵. Assim, uma grande multiplicação de certas bactérias do gênero *Pseudomonas*, tais como *Ps. fragi*, *Ps. graveolens*, *Ps. nigrefaciens* e *Ps. putrefaciens*, atingindo um número alto no leite e no creme, podem afetar a qualidade do produto final³⁵. A esse respeito, Jay¹⁸ (1973) afirma que o creme é a principal origem de microrganismos na manteiga.

Um grupo de bactérias que pode afetar a qualidade do creme e, conseqüentemente, a da manteiga, são os coliformes. McDowall¹⁹ (1953) refere que um tipo de alteração do creme, o "amargor", uma vez presente confere má qualidade à manteiga. Este tipo de alteração pode ser causado por vários microrganismos, dentre eles as bactérias do grupo coliforme. Estas bactérias atuam atacando a caseína do creme, produzindo peptonas de sabor amargo. O autor ainda salienta que os cremes que possuem este tipo de alteração, devido a ação microbiana, normalmente apresentam altas contagens dessas bactérias.

Por outro lado, a determinação do número de bactérias do grupo coliforme tem sido um dos índices mais utilizados para avaliar as condições sanitárias da manteiga^{13,21,22,25,26,27,36}. Deve ser salientado que as bactérias coliformes, quando presentes em alimentos industrializados, indicam que houve falhas nas condições sanitárias de processamento, provavelmente devido aos equipamentos e utensílios sujos e à matéria-prima contaminada por microrganismos oriundos dos manipuladores, água ou solo^{3,34}.

A qualidade de uma manteiga, em termos microbiológicos, pode ser verificada também a partir da determinação quantitativa de bolores e leveduras. Rogick e Dias²⁸ (1959) e Demeter⁸ (1969) afirmam que a realização da contagem de bolores e leveduras é uma conduta útil para se obter informações sobre as condições higiênicas a que

foi submetido o creme, após a sua pasteurização e durante o processamento da manteiga. Sabe-se que havendo condições para a sua multiplicação, os bolores podem produzir alterações importantes na manteiga, que são reveladas por colorações anormais em algumas zonas da superfície do produto¹¹. Estas alterações podem ser ocasionadas por espécies dos gêneros *Cladosporium*, *Alternaria*, *Aspergillus*, *Mucor*, *Rhizopus*, e *Penicillium*, microrganismos estes comumente encontrados em manteigas^{12,16}.

Saraswat e col.³⁰ (1965) realizaram, um estudo em manteiga, com o objetivo de comparar os resultados das contagens de bolores e leveduras, coliformes e enterococos, entre si. Verificaram que a contagem de bolores e leveduras só tem significado quando associada às contagens de enterococos e coliformes, ou unicamente à de enterococos.

Na verificação da qualidade da manteiga, as contagens de bactérias proteolíticas e lipolíticas podem ser muito úteis, pois refletem também as condições higiênicas satisfatórias ou não da fabricação do produto. Várias espécies de bactérias isoladas de manteiga atuam sobre gorduras e proteínas. A esse respeito, Stark e Sheib³³ (1937), em uma pesquisa, verificaram que de 188 cepas de bacilos Gram-negativos isolados à partir de manteiga, 158 (84,0%) digeriam o leite, 167 (89,0%) hidrolisavam a tributirina. Observaram ainda que das 158 cepas proteolíticas, 97,0% eram também lipolíticas.

Kaderavek e col.¹⁸ (1973) verificaram que as bactérias lácticas são capazes de atacar ácidos graxos de cadeia curta, porém não o fazem com relação àqueles de cadeia longa, os quais são predominantes nas gorduras do leite. Concluíram ainda, que as bactérias dos gêneros *Micrococcus* e *Propionibacterium*, assim como bolores e leveduras, elaboram lipases específicas e inespecíficas que agem sobre a gordura produzindo ácidos graxos por diferentes vias metabólicas.

Um outro elemento importante é a água utilizada na lavagem e padronização da

manteiga, pois ela pode conter bactérias indesejáveis capazes de ocasionar alterações durante a sua estocagem^{6,20,31}. A esse respeito, Wagenaar³⁷ (1952) refere que, freqüentemente, são isoladas cepas de *Pseudomonas putrefaciens* de águas utilizadas durante a fabricação de manteiga. Como é sabido, esta bactéria pode ocasionar, em manteiga, alterações como a denominada "superfície pútrida"^{4,37}.

Diante do exposto, planejou-se a realização da presente pesquisa que tem por objetivos: 1) verificar as condições microbiológicas de manteigas extras sem sal, vendidas em supermercados do município de São Paulo, através das determinações quantitativas de bactérias aeróbias ou facultativas mesófilas e psicrófilas, coliformes, proteolíticas, lipolíticas e da contagem de bolores e leveduras. 2) Comparar os resultados obtidos, com os padrões recomendados por diversos pesquisadores.

MATERIAL E MÉTODOS

Coleta e transporte das amostras de manteiga — De diversos supermercados do município de São Paulo foram compradas, semanalmente, 5 amostras de manteiga extra sem sal, de 5 marcas diferentes (uma de cada marca), acondicionadas em pacotes de 200 g, perfazendo um total de 105 amostras. Uma vez obtidas, as amostras eram colocadas em uma caixa de material isotérmico ("isopor") contendo gelo e transportadas ao laboratório, onde eram mantidas sob refrigeração até o início das análises microbiológicas. O tempo decorrido entre a coleta das amostras e o início dos exames nunca ultrapassou de duas horas.

Obtenção da fase aquosa da manteiga e preparo de suas diluições — No laboratório, cada amostra de manteiga era pesada e transferida, asépticamente, para um frasco de vidro esterilizado de 250 ml, de boca larga, o qual era mantido em banho-maria a 45°C até a fusão total da manteiga. Logo

a seguir, a manteiga fundida era centrifugada a 3.000 rpm durante 10 min. Após a centrifugação, a fase superior ou gordurosa era desprezada, e a inferior transferida para uma proveta graduada, esterilizada, de 50 ml, a fim de se realizar a medida do seu volume²⁷. Posteriormente, a partir da fase aquosa, preparava-se uma série de diluições decimais, de 10^{-1} a 10^{-6} , empregando-se como diluente a água fosfatada com pH 7,2, esterilizada. A água de diluição usada era preparada segundo a técnica recomendada por Thatcher e Clark³⁴ (1973).

A partir da fase aquosa da manteiga e de suas diluições foram realizadas as determinações quantitativas, a saber:

Contagem de bactérias aeróbias ou facultativas mesófilas e psicrófilas (padrão) (American Public Health Association³, 1972). Estas determinações eram realizadas empregando-se o ágar padrão (Merck) e a incubação a 35°C por 48 h, para bactérias mesófilas e a 7°C por 10 dias, para as psicrófilas.

Contagem de bactérias aeróbias ou facultativas mesófilas e psicrófilas não lácticas (Segundo Mossel e Quevedo²⁸, 1967). Estas contagens eram feitas da mesma forma que as anteriores, porém, o meio de cultura usado foi o ágar gelisato (gelisato -BBL-0,5 g; ágar-Difco-15,0 g; água destilada-1000 ml; pH final 7,0).

Contagem de bactérias coliformes (American Public Health Association³, 1972). Nestas determinações era utilizado o ágar bile-vermelho-violeta (Merck) como meio de contagem e a incubação a 35°C por 24 h. Nas provas confirmatórias eram empregados o caldo lactose-bile-verde brilhante a 2% (Difco) com tubo de Durham e a incubação a 35°C por 24 — 48 h, ágar eosina azul de metileno a 35°C por 24 h e o caldo

lactosado com tubo de Durham e ágar simples inclinado a 35°C por 24 — 48 h.

Contagem de bactérias proteolíticas (American Public Health Association³, 1972). Estas contagens eram realizadas empregando-se o ágar padrão (Merck), adicionado de 10% de leite desnatado estéril e a incubação a 23°C por 72 h.

Contagem de bactérias lipolíticas (Segundo Mossel e Quevedo²⁸, 1967). Nestas determinações era utilizado o ágar tributirina e a incubação a 35°C por 72 h.

Contagem de bolores e leveduras (American Public Health Association³, 1972). Nestas contagens empregou-se o ágar glicose-batata com pH 3,5 e incubação a 23°C por 3 a 5 dias.

O número dos diferentes grupos de microrganismos pesquisados por grama era calculado levando-se em conta o peso da manteiga, o volume da fase aquosa e o número contado por mililitro da fase aquosa.

RESULTADOS

A Tabela 1 mostra os valores mínimos e máximos das contagens dos vários microrganismos estudados, obtidos para as amostras de manteiga de cada marca e para o total de amostras examinadas.

Nas Tabelas 2 a 6 encontram-se as amostras de manteiga examinadas de cada marca, de acordo com a distribuição, em classes, dos números obtidos na contagem dos microrganismos pesquisados.

A Tabela 7 apresenta as médias aritméticas e as medianas dos valores relativos às contagens dos microrganismos pesquisados, para as 21 amostras de manteiga de cada marca e para o total de amostras examinadas.

T A B E L A 1

Distribuição das amostras de maníca examinadas, segundo a marca e a amplitude da variação das contagens dos microrganismos pesquisados.

Marca	Amostras examinadas	Valores	Contagem por grama								Bolors e Leveduras	
			B a c t é r i a s									
			Mesófilas (gelisato) *	Psicrófilas (gelisato)	Mesófilas (padrão) **	Psicrófilas (padrão)	Coliformes	Protocólicas	Lipólicas			
A	21	Mínimo	zero	zero	zero	zero	zero	zero	zero	zero	zero	zero
		Máximo	585.000	1.000.000	14.600.000	4.190.000	14.500	80.230	502.000	1.680		
B	21	Mínimo	zero	19	3.740	19	zero	zero	zero	zero	zero	zero
		Máximo	25.500.000	21.100.000	27.200.000	28.200.000	575.000	1.120.000	12.800.000	5.750.000		
C	21	Mínimo	495	168	21.400	46.700	zero	zero	zero	1.400	zero	
		Máximo	6.880.000	26.800.000	21.200.000	42.900.000	141.000	935.000	4.380.000	1.060.000		
D	21	Mínimo	69.400	159.000	1.240.000	2.556.000	zero	zero	83.000	5.160		
		Máximo	62.100.000	38.100.000	147.000.000	108.000.000	585.000	1.010.000	45.000.000	45.000.000		
E	21	Mínimo	465	1.970	10.900	8.110	zero	zero	358	zero		
		Máximo	1.930.000	79.800.000	16.000.000	94.600.000	234.000	4.870.000	3.970.000	3.100.000		
Total	105	Mínimo	zero	zero	zero	zero	zero	zero	zero	zero	zero	zero
		Máximo	62.100.000	79.800.000	147.000.000	108.000.000	585.000	4.870.000	45.000.000	45.000.000		

* Contagem em ágar gelisato.

** Contagem em ágar padrão.

TABELA 2

Distribuição das 21 amostras de manteiga examinadas da marca A, segundo o número dos microrganismos pesquisados.

Microorganismos	Bacterias												Bolors e Leveduras			
	Mesófilas (gelisato)*		Psicrófilas (gelisato)**		Mesófilas (padrão)		Psicrófilas (padrão)		Coliformes		Proteolíticas		Lipolíticas		Bolors e Leveduras	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
0 ----- 10	3	14,3	2	9,5	2	9,5	1	4,8	15	71,4	10	47,6	1	4,8	14	66,6
10 ----- 10 2	--	--	2	9,5	--	--	1	4,8	4	19,0	--	--	1	4,8	3	14,3
10 2 ----- 10 3	3	14,3	7	33,3	2	9,5	4	19,0	1	4,8	2	9,5	4	19,0	3	14,3
10 3 ----- 10 4	9	42,9	4	19,0	9	42,9	6	28,5	--	--	3	14,3	11	52,3	1	4,8
10 4 ----- 10 5	4	19,0	3	14,3	6	28,5	6	28,5	1	4,8	1	4,8	3	14,3	--	--
10 5 ----- 10 6	1	4,8	3	14,3	1	4,8	1	4,8	--	--	5	23,8	1	4,8	--	--
10 6 ----- 10 7	1	4,8	--	--	--	--	2	9,5	--	--	--	--	--	--	--	--
10 7 ----- 10 8	--	--	--	--	1	4,8	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

* Contagem em ágar gelisato.

** Contagem em ágar padrão.

T A B E L A 3

Distribuição das 21 amostras de manteiga examinadas da marca B, segundo o número dos microrganismos pesquisados.

Micro-organismos Amostras	B a c t é r i a s												Bolors e Leveduras					
	Mesófilas (gelisato)*		Psicrófilas (gelisato)**		Mesófilas (padrão)		Psicrófilas (padrão)		Coliformes		Proteolíticas			Lipolíticas				
	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%		Nº	%			
0 ----- 10	1	4,8	—	—	—	—	—	—	—	3	14,3	4	19,0	1	4,8	3	14,3	
10 ----- 10 2	—	—	1	4,8	—	—	1	4,8	3	14,3	3	14,3	1	4,8	—	—	9	42,9
10 2 ----- 10 3	—	—	1	4,8	—	—	—	—	3	14,3	3	14,3	6	28,5	3	14,3	6	28,5
10 3 ----- 10 4	5	23,8	3	14,3	2	9,5	2	9,5	2	9,5	2	9,5	1	4,8	1	4,8	1	4,8
10 4 ----- 10 5	4	19,0	4	19,0	4	19,0	4	19,0	3	14,3	2	9,5	4	19,0	3	14,3	—	—
10 5 ----- 10 6	3	14,3	6	28,5	5	23,8	4	19,0	4	19,0	8	38,1	4	19,0	4	19,0	—	—
10 6 ----- 10 7	7	33,3	2	9,5	8	38,1	8	38,1	8	38,1	—	—	1	4,8	5	23,8	2	9,5
10 7 ----- 10 8	1	4,8	4	19,0	2	9,5	3	14,3	3	14,3	—	—	—	—	1	4,8	—	—

* Contagem em ágar gelisato.

** Contagem em ágar padrão.

T A B E L A 4

Distribuição das 21 amostras de manteiga examinadas da marca C. segundo o número dos microrganismos pesquisados.

Microorganismos Amostras	B a c t é r i a s												Bolores e Leveduras			
	Mesófilas (gelisato)*		Psicrófilas (gelisato)		Mesófilas (padrão)**		Psicrófilas (padrão)		Coliformes		Proteolíticas		Lipolíticas		Nº	%
	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%		
0 ----- 10	—	—	—	—	—	—	—	—	7	33,3	10	47,6	—	—	2	9,5
10 ----- 10 2	—	—	—	—	—	—	—	4	19,0	—	—	—	—	3	14,3	—
10 2 ----- 10 3	2	9,5	1	4,8	—	—	—	4	19,0	2	9,5	—	—	4	19,0	—
10 3 ----- 10 4	1	4,8	3	14,3	—	—	—	2	9,5	3	14,3	4	19,0	6	28,5	—
10 4 ----- 10 5	9	42,9	5	23,8	4	19,0	1	4,8	3	14,3	1	4,8	7	33,3	5	23,8
10 5 ----- 10 6	5	23,8	3	14,3	5	23,8	6	28,5	1	4,8	5	23,8	8	38,1	—	—
10 6 ----- 10 7	4	19,0	5	23,8	5	23,8	6	28,5	—	—	—	—	2	9,5	1	4,8
10 7 ----- 10 8	—	—	4	19,0	7	33,3	8	38,1	—	—	—	—	—	—	—	—

* Contagem em ágar gelisato.

** Contagem em ágar padrão.

TABELA 5

Distribuição das 21 amostras de manteiga examinadas da marca D, segundo o número dos microrganismos pesquisados.

Microorganismos Amostras	Bactérias												Bolores e Leveduras			
	Mesófilas (gelisato)*		Pseudo-filias (gelisato)		Mesófilas (padrão)**		Psicrófilas (padrão)		Coliformes		Protozoíticas		Lipolíticas		Nº	%
	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%		
0 ----- 10	—	—	—	—	—	—	—	—	3	14,3	10	47,6	—	—	—	—
10 ----- 10 2	—	—	—	—	—	—	—	—	2	9,5	1	4,8	—	—	—	—
10 2 ----- 10 3	—	—	—	—	—	—	—	—	3	14,3	2	9,5	—	—	—	—
10 3 ----- 10 4	—	—	—	—	—	—	—	—	5	23,8	1	4,8	—	—	2	9,5
10 4 ----- 10 5	2	9,5	—	—	—	—	—	—	5	23,8	2	9,5	2	9,5	6	28,5
10 5 ----- 10 6	—	—	4	19,0	—	—	—	—	3	14,3	4	19,0	3	14,3	8	38,1
10 6 ----- 10 7	17	81,0	14	66,7	11	52,3	6	28,5	—	—	1	4,8	11	66,7	4	19,0
10 7 ----- 10 8	2	9,5	3	14,3	9	42,9	14	66,7	—	—	—	—	2	9,5	1	4,8
10 8 ----- 10 9	—	—	—	—	1	4,8	1	4,8	—	—	—	—	—	—	—	—

* Contagem em ágar gelisato.

** Contagem em ágar padrão.

TABELA 6

Distribuição das 21 amostras de manteiga examinadas da marca E, segundo o número dos microrganismos pesquisados.

Microorganismos Amostras	Bactérias												Bolors e Leveduras			
	Mesófilas (gelisato)*		Psicrófilas (gelisato)		Mesófilas (padrão)**		Psicrófilas (padrão)		Coliformes		Proteolíticas		Lipolíticas		Nº	%
	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%		
0	—	—	—	—	—	—	—	—	1	4,8	7	33,3	—	—	9	42,9
10	—	—	—	—	—	—	—	—	5	23,8	—	—	—	—	5	23,8
10 ²	1	4,8	—	—	—	—	—	—	2	9,5	2	8,5	1	4,8	3	14,3
10 ³	3	14,3	4	19,0	—	—	1	4,8	4	19,0	—	—	5	23,8	2	9,5
10 ⁴	6	28,5	5	23,8	—	14,3	1	4,8	6	28,5	2	9,5	5	23,8	1	4,8
10 ⁵	10	47,6	2	9,5	3	14,3	4	19,0	3	14,3	7	33,3	7	33,3	—	—
10 ⁶	1	4,8	2	9,5	13	61,9	6	28,5	—	—	3	14,3	3	14,3	1	4,8
10 ⁷	—	—	8	38,1	2	9,5	9	42,9	—	—	—	—	—	—	—	—

* Contagem em ágar gelisato.

** Contagem em ágar padrão.

T A B E L A 7

Médias aritméticas e medianas das contagens dos microrganismos pesquisados, segundo as marcas das amostras de manteiga examinadas.

Microorganismo/grama	Marca		A	B	C	D	E	Total
	Amostras	N ^{os} médios						
Bactérias Mesófilas (gelisato) *	21	21	39.942	3.388.056	791.840	6.240.271	279.797	1.938.060
Bactérias Psicófilas (gelisato)			2.410	182.000	52.400	2.500.000	112.000	90.600
Bactérias Mesófilas (padrão) **			128.360	3.807.532	3.621.352	6.806.143	15.775.008	6.027.679
Bactérias Psicófilas (padrão)			783	187.000	471.000	2.290.000	1.970.000	655.000
Bactérias Mesófilas (padrão) **			728.271	4.103.071	5.665.952	20.652.182	3.112.248	6.854.345
Bactérias Psicófilas (padrão)			4.920	287.000	1.480.000	9.720.000	2.130.000	1.970.000
Bactérias Mesófilas (padrão)			289.447	5.145.123	11.752.604	22.592.380	24.554.352	12.866.781
Bactérias Coliformes			6.110	1.540.000	8.070.000	15.600.000	5.640.000	3.380.000
Bactérias Proteolíticas			736	278.072	12.255	88.926	33.748	82.747
Bactérias Lipolíticas			0	6.550	51	4.940	7.500	266
Bolores e Leveduras			8.640	162.808	107.786	80.732	726.810	217.355
			41	593	428	12	39.200	428
			556.876	1.284.633	454.405	4.478.038	587.653	1.472.321
			1.680	91.000	91.000	1.188.000	69.900	91.000
			162	352.304	65.037	2.545.178	151.018	539.239
			5	63	2.350	280.000	28	192

Ma. = Média aritmética

Me. = * Mediana

* Contagem em ágar gelisato.

** Contagem em ágar padrão.

DISCUSSÃO

Quando o processamento da manteiga é realizado em condições higiênicas não satisfatórias pode ocorrer a sua contaminação que, muitas vezes, influi na qualidade do produto final. Segundo Demeter⁸ (1969), quanto menor o número de microrganismos presentes na manteiga, melhores são o aspecto e a conservação do produto. Afirma ainda, esse autor, que altas contagens podem indicar más condições de processamento e de conservação deste alimento. A este respeito pode-se depreender, através dos estudos sobre o assunto, a preocupação de muitos pesquisadores, entre eles, Souto e Martins³² (1946), McDowall¹⁹ (1953), Druce e Thomas¹⁰ (1959), Rogick e Dias²⁶ (1959), Demeter⁸ (1969), Sandoval e col.²⁹ (1971) e Harrigan e Mc Cance¹⁴ (1976), quanto ao estabelecimento de padrões para avaliar a qualidade microbiológica da manteiga entregue ao consumo.

No Brasil, em julho em 1978, a Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos⁵, do Ministério da Saúde, através da Resolução nº 13/78, estabeleceu os padrões microbiológicos nacionais para alimentos. Com relação à manteiga, o referido padrão exige ausência de salmonelas em 25 g e de coliformes fecais em 1 g do produto. Assim sendo, os microrganismos pesquisados nas amostras de manteiga examinadas neste estudo, não estão incluídos no referido padrão. Por esta razão, os valores obtidos na presente investigação serão comparados com padrões microbiológicos propostos ou recomendados por alguns autores.

Quanto à contagem padrão de bactérias mesófilas viáveis, Davis⁷ (1968) estabeleceu que o número destes microrganismos, quando se utiliza creme fermentado, não deve exceder de 10^4 /grama de manteiga. Entretanto, Demeter⁸ (1969) propõe um padrão mais tolerante, ou seja, que tal número deve ser menor do que 10^6 /grama, para se considerar a manteiga como sendo de boa qualidade.

Comparando os resultados obtidos nesta pesquisa com o padrão mais tolerante, o proposto por Demeter⁸ (1969), pode-se verificar pelas Tabelas 2 a 6 que das 21 amostras de manteiga examinadas, de cada marca, seriam consideradas de boa qualidade 20 (95%) das da marca A, 11 (52,4%) da B, 9 (42,8%) da C, 6 (28,6%) da E e nenhuma da D.

Entretanto, deve ser ressaltado que, segundo a American Public Health Association³ (1972), a técnica empregada no presente estudo para a contagem padrão de bactérias mesófilas, não deve ser usada na análise de amostras de manteigas adicionadas de culturas lácticas. Por outro lado, não era do nosso conhecimento se as amostras de manteiga das marcas examinadas eram ou não adicionadas de tais microrganismos. Por esta razão é que foi realizada a contagem padrão em placas de bactérias mesófilas empregando-se, também, o ágar gelisato, meio este menos rico em nutrientes que o ágar padrão. Este meio é o recomendado por Mossel e Quevedo²³ (1967), para a contagem de bactérias não pertencentes à família *Lactobacillaceae*. Pelas Tabelas 2 a 6 e considerando-se o padrão proposto por Demeter⁸ (1969), das 21 amostras de cada marca poderiam ser consideradas como de boa qualidade, 20 (95%) da A, 13 (61,9%) da B, 17 (80,9%) da C, 20 (95,2%) da E e 2 (9,5%) da D.

Pode-se verificar do exposto que, mesmo utilizando o ágar gelisato, as amostras correspondentes à marca D foram as que se mostraram com maior grau de contaminação. Nota-se ainda que as amostras da marca E, que ocupavam o 4º lugar quanto à contagem padrão de bactérias mesófilas, passaram para o segundo lugar com relação à mesma determinação, quando esta era feita em ágar gelisato. Entretanto, as amostras da marca B, que estavam em segundo lugar, passaram para o quarto.

Wolochow e col.³⁹ (1942), analisaram 38 amostras de manteigas comerciais que se mostravam com pigmentação escura e outras 26 com aspecto normal, obtendo na con-

tagem padrão em placas, resultados que variaram, respectivamente, de 10^2 a 10^6 e de 4×10^2 a maior do que 3×10^6 por grama do produto.

Druce e Thomas¹⁰ (1959) estudando amostras de manteigas processadas em indústrias com boas condições higiênico-sanitárias, verificaram que os valores obtidos na contagem padrão em placas variaram de $3,2 \times 10^3$ a $6,6 \times 10^3$ /grama do produto, enquanto que para as preparadas em condições não satisfatórias os resultados oscilaram entre $9,7 \times 10^4$ e 5×10^5 /grama do produto.

Analisando-se a Tabela 1 nota-se que as variações entre os valores mínimo e máximo da contagem padrão em placas foram, para cada marca, superiores às observadas por Wolochow e col.³⁹ (1942) e Druce e Thomas¹⁰ (1959) em manteigas de qualidade satisfatória ou não, por eles analisadas. Observa-se, ainda, que tais variações foram extremamente grandes e que obtiveram-se valores mínimos baixos, de até zero por grama, mostrando que é possível se fornecer ao consumo manteigas com números reduzidos de microrganismos mesófilos.

Com relação às bactérias psicrófilas, Druce e Thomas¹⁰ (1959) e Davis⁷ (1968) consideram que as manteigas de boa qualidade não devem conter um número superior a 10^3 dessas bactérias/g do produto. Aplicando-se esse padrão, verifica-se no presente estudo, que das amostras da marca A, 6(28,6%) poderiam ser consideradas de boa qualidade usando-se o ágar padrão como meio de contagem; porém, empregando-se o ágar gelisato, 11(52,4%) estavam em condições satisfatórias para o consumo (Tabela 2). Para as demais marcas, praticamente a totalidade das amostras seriam consideradas de qualidade insatisfatória (Tabelas 3 a 6), empregando-se qualquer um dos dois meios de contagem.

Entretanto, nos padrões propostos por Davis⁷ (1968) o número de bactérias tolerado é de 10% (10^3 /g) em relação ao número de bactérias mesófilas (10^4). Como já foi referido no presente estudo,

os resultados da contagem padrão em placas, realizada a partir das amostras de manteiga, foram comparados com o padrão proposto por Demeter⁸ (1969), no qual o autor considera de boa qualidade a manteiga que contiver menos que 10^6 bactérias mesófilas por grama e não estabelece padrão para as psicrófilas. Porém, utilizando-se a proporção de bactérias psicrófilas/mesófilas preconizada por Davis⁷ (1968) e levando-se em conta o padrão de Demeter⁸ (1969), seriam toleradas as contagens com resultados inferiores a 10^5 bactérias psicrófilas por grama do produto. Comparando-se este valor com os distribuídos nas Tabelas 2 a 6, com relação à contagem de bactérias psicrófilas em ágar padrão, pode-se verificar que 18(85,7%) amostras da marca A teriam qualidade satisfatória, assim como 6(28,5%) da B, 2(9,5%) da E, 1(4,8%) da C e nenhuma da D.

Porém, empregando-se o ágar gelisato, 18(85,7%) amostras da marca A, 9(42,8%) da B, 9(42,8%) da C, 9(42,8%) da E e nenhuma da D teriam qualidade satisfatória. Note-se ainda que, também, quanto às bactérias psicrófilas, a marca D mostrou-se novamente com qualidade inferior com relação às demais.

Relativamente a coliformes, foi constatada a presença destas bactérias em 10(47,6%) amostras da marca A, 18(85,7%) da B, 17(80,9%) da C, 19(90,5%) da D e 20(95,2%) da E. Depreende-se assim, que das 105 amostras de manteiga estudadas, 84(80,0%) revelaram-se positivas para coliformes.

Thomson³⁸ (1950), examinando 719 amostras de manteiga, verificou a presença de coliformes em 19,0%.

Em nosso meio, Souto e Martins³² (1946) constataram a presença de coliformes em 45,6% de 366 amostras analisadas, cujas contagens variaram de zero a 3×10^7 /grama do produto. Verificaram, ainda, que 83,6% das amostras positivas continham mais do que 10^6 coliformes/grama e 31,7%, mais do que 3×10^7 /grama. Madsen²¹ (1959) analisou 41 amostras de manteiga extra sem sal

e verificou que 65,8% eram positivas para coliformes, cujas contagens variaram de zero a 215/grama do alimento. Panetta²⁵ (1969) constatou 61,5% de positividade para coliformes em 39 amostras examinadas. Observou ainda que os NMP de coliformes variaram de zero a $2,4 \times 10^8$ /grama do produto.

Na presente investigação, para as 105 amostras estudadas (Tabela 1), as contagens de coliformes variaram de zero a $5,85 \times 10^5$ /grama do alimento, mostrando novamente a possibilidade de se fornecer ao consumo manteigas com baixo teor destes microrganismos indicadores de condições insatisfatórias de processamento ou de conservação do produto. Sandoval e col.²⁹ (1971), através da análise de 202 amostras de manteiga extra e da comparação dos resultados de pesquisa de coliformes com o antigo padrão provisório, adotado pela Secretaria da Agricultura do Estado de São Paulo, verificou que 94,3% das amostras estavam de acordo com o referido padrão. Cumpre salientar que este padrão tolerava a presença de coliformes até na diluição 10^{-4} da manteiga examinada (Rogick e Dias²⁷, 1961).

McDowall¹⁹ (1953) estabeleceu que manteiga de boa qualidade não deve conter coliformes em um grama do produto; havendo a presença destas bactérias, este autor considera a manteiga como sendo de qualidade regular e, sendo alto o número de coliformes, o produto era considerado de má qualidade. Demeter⁸ (1969) afirma, que em manteiga de boa qualidade deve haver ausência de coliformes. Por outro lado, Druce e Thomas¹⁰ (1959) e Davis⁷ (1968), consideram que a manteiga é de boa qualidade quando o número de coliformes presentes não excede de 10/grama do produto.

No presente estudo, verificou-se que 21 (20,0%) das 105 amostras examinadas seriam tidas como de boa qualidade de acordo com os padrões de McDowall¹⁹ (1953) e Demeter⁸ (1969). Por outro lado, segundo os padrões propostos por Druce e Thomas¹⁰ (1959) e Davis⁷ (1968), do total de amos-

tras analisadas, 29(27,6%) seriam tidas como de boa qualidade. Considerando ainda este último padrão e os valores obtidos das 21 amostras de cada marca analisadas, 15(71,4%) da A, 3(14,3%) da B, 7(33,3%) da C, 3(14,3%) da D e 1(4,8%) da E mostraram-se de qualidade satisfatória.

Com relação às bactérias proteolíticas, de acordo com Demeter⁸ (1969), quando este grupo de microrganismos atinge números altos em manteiga, está normalmente associado à má qualidade do produto. A esse respeito, o padrão proposto por Davis⁷ (1968), estabelece que manteiga de boa qualidade pode conter bactérias proteolíticas, porém em número inferior a 10^3 /g do produto.

Na Tabela 1 verifica-se que, das 105 amostras examinadas nesta pesquisa, os números encontrados de bactérias proteolíticas variaram de zero a $4,87 \times 10^6$ /g de manteiga. Comparando-se os resultados obtidos para cada marca, com o padrão proposto por Davis⁷ (1968), pode-se verificar, nas Tabelas 2 a 6, que 13(61,9%) da D, 12(57,1%) da A, 12(57,1%) da C, 11(52,4%) da B e 9(42,8%) da E mostravam-se dentro do padrão.

Quanto às bactérias lipolíticas, geralmente não se realiza a contagem destes microrganismos, exceto quando ocorrem problemas de deterioração, principalmente de produtos gordurosos, como é o caso da rancificação da manteiga. Mesmo assim, McDowall¹⁹ (1953) propõe que em manteigas de boa qualidade o número de bactérias lipolíticas presente, deve ser inferior a 50/g do produto. Segundo este autor, manteigas de qualidade insatisfatória, regular e má, podem conter, respectivamente, de 50 a 100, de 150 a 500 e mais que 500 bactérias lipolíticas por grama do alimento.

Pelas Tabelas 2 a 6, verifica-se que apenas 3(2,8%), das 105 amostras examinadas, revelaram-se com bactérias lipolíticas em número inferior a 10^2 /g de manteiga. As outras 102(97,1%), com base nesse padrão, seriam consideradas como de qualidade regular ou má.

Com relação a bolores e leveduras, a contagem destes microrganismos é normalmente incluída nos exames microbiológicos de rotina para manteiga. A sua presença em números altos, comumente indica que durante o processamento e/ou conservação, o produto foi exposto a condições higiênicas insatisfatórias. Segundo Foster e col.¹¹ (1957), cerca de 99,9% dos bolores e leveduras presentes no creme são destruídos pela pasteurização. Assim, estes microrganismos quando presentes na manteiga devem estar em números baixos. A este respeito, McDowall¹⁹ (1953) propõe que para manteiga de boa qualidade o número de bolores deve ser inferior a 50 por grama, com ausência de leveduras. Para manteigas de qualidade satisfatória os números tolerados são de 50 a 100 bolores e de 10 a 40 leveduras por grama do produto. Davis⁷ (1968) estabeleceu que a contagem total de bolores e leveduras deve ser inferior a 100 por grama de manteiga.

Comparando-se os resultados distribuídos nas Tabelas 2 a 6 do presente estudo, com o último padrão acima citado, pode-se verificar que 17 (80,9%) amostras da marca A, 14(66,6%) da E, 12(57,1%) da B, 5(23,8%) da C e nenhuma da D, se mostraram de acordo com o referido padrão.

Cumprе salientar que segundo o antigo padrão adotado pela Secretaria de Agricultura do Estado de São Paulo (Rogick e Dias²⁷, 1961), a manteiga podia conter até 3×10^4 bolores e até 10^5 leveduras por grama. Considerando neste padrão a soma dos números tolerados de bolores e leveduras por grama de manteiga, ou seja, $1,3 \times 10^5$, e comparando-se este valor com os obtidos nesta pesquisa depreende-se que 21(100%) amostras da marca A, 20(95,2%) das C e E, 19(90,5%) da B e 9(42,8%) da D poderiam ser consideradas como dentro desse padrão.

Do exposto pode-se depreender que os valores obtidos nas contagens dos vários microrganismos pesquisados, em muitos casos podem ser considerados altos.

A esse respeito, na Tabela 7 pode-se observar que as médias aritméticas também se mostraram altas. Entretanto, como a variação dos valores extremos obtidos através das contagens revelou-se grande, foram determinadas também as medianas dos números encontrados.

Considerando-se as medianas dos valores obtidos nas contagens dos vários microrganismos pesquisados, pode-se verificar que de uma forma geral os números encontrados foram menores com relação às amostras da marca A. Por outro lado, as amostras da marca D foram as que se mostraram freqüentemente com os referidos valores, mais altos.

CONCLUSÕES

1. Na contagem de bactérias mesófilas, realizada em ágar padrão, os valores obtidos para as 105 amostras examinadas variaram de zero a $1,47 \times 10^8$ /g, sendo que 59(56,2%) se revelaram com número igual ou superior a 10^6 /g. Em ágar gelisato, o número dessas bactérias variou de zero a $6,21 \times 10^7$ /g, e 32(30,5%) amostras, do total examinado, apresentaram número igual ou superior a 10^6 /g.
2. Na contagem de bactérias psicrófilas, realizada em ágar padrão, os valores obtidos para o total das amostras analisadas variaram de zero a $1,8 \times 10^8$ /g, sendo que 78(74,3%) continham número igual ou superior a 10^5 /g. Em ágar gelisato, os valores encontrados variaram de zero a $7,98 \times 10^7$ /g, sendo que 59(56,2%) amostras se revelaram com número igual ou superior a 10^5 /g.
3. Das 105 amostras analisadas, 84 (80%) revelaram-se positivas para bactérias coliformes. As contagens variaram de zero a $5,85 \times 10^5$ /g, sendo que 76(72,4%) se revelaram com um número superior a 10/g.

4. Na contagem de bactérias proteolíticas, os valores encontrados para o total de amostras examinadas variaram de zero a $4,87 \times 10^6/g$, sendo que 48(45,7%) amostras apresentaram número superior a $10^3/g$.
5. Na contagem de bactérias lipolíticas, os valores obtidos variaram, para as 105 amostras, de zero a $4,5 \times 10^7/g$, sendo que 102(97,1%) amostras se revelaram com número igual ou superior a $10^2/g$.
6. Na contagem de bolores e leveduras, os valores obtidos variaram de zero a $4,5 \times 10^7/g$, sendo que 57(54,3%) amostras se revelaram com número igual ou superior a $10^2/g$.
7. Os valores obtidos nas contagens dos vários grupos de microrganismos pesquisados podem ser considerados altos em muitos casos, os quais podem ser resultado de processamento e/ou conservação, realizados em condições não satisfatórias.
8. Levando-se em conta os resultados das contagens dos vários grupos de microrganismos e de acordo com os parâmetros utilizados, as amostras da marca A foram as que se revelaram de melhor qualidade microbiológica. Por outro lado, as correspondentes à marca D comportaram-se como as de pior qualidade.

REIS FILHO, S.A. dos & IARIA, S.T. [Microorganism groups found in butter sold in the City of S. Paulo, Brazil]. *Rev. Saúde públ.* São Paulo, 15:418-35, 1981.

ABSTRACT: One hundred and five samples of five different brands of butter in the supermarkets of the City of S. Paulo, Brazil were brought in for testing every week for 21 weeks. From the aqueous phase, counts were made for mesophilic and psychrophilic (using the standard plate count, agar and gelysate agar), coliform, proteolytic, and lipolytic bacteria, as well as for yeasts and molds. Results were compared with parameters proposed by several researchers. In many cases, the count values can be considered high, but these high counts may be due to inadequate processing and/or inadequate storage.

UNITERMS: Butter. Dairy products. Microbiology.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ALFORD, J.A. Lipolitic microrganisms. In: Speck, M.L. ed. *Compendium of methods for the microbiological examination of foods*. Washington, D.C., American Public Health Association, 1976. p. 184-9.
2. AMATO, F. et al. Studio quali-quantitativo della flora microbica dello yoghurt e del burro, con particolare riferimento ai germi psicrotrofi. *Nuovi Ann. Ig.*, 21:341-61, 1970.
3. AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. *Standard methods for the examination of dairy products*. 13th ed. Washington, D.C., 1972.
4. CLAYDON, T.J. & HAMMER, B.W. *Bacteriology of butter*. Ames, Iowa, Agricultural Experiment Station, Iowa State College of Agriculture and Mechanics Arts, 1939. (Research Bulletin, 267)
5. COMISSÃO NACIONAL DE NORMAS E PADRÕES PARA ALIMENTOS. Resolução nº 13/78. *Diário Oficial da União*, Brasília, 25 jul. 1978. p. 11.616-7.

6. CORLEY, R.T. et al. *Water supplies of butter manufacturing plants*. Ames, Iowa, Agricultura Experiment Station, Iowa State College of Agriculture and Mechanics Arts, 1943. (Research Bulletin, 319).
7. DAVIS, J.G. Dairy products. In: Herschdoerfer, S.M. ed. *Quality control in the food industry*. London, Academic Press, 1968. Apud Harrigan, W.F. & McCance, M.E. *Laboratory methods in food and dairy microbiology*. London, Academic Press, 1976.
8. DEMETER, K.J. *Elementos de microbiologia lactologica*. 6ª ed. Zaragoza, Ed. Acribia, 1969.
9. DOWNES, T.E.H. The lipolytic of butter by micro-organisms. *S. Afr. J. agric. Sci.*, 2:527-41, 1959.
10. DRUCE, R.G. & THOMAS, S.B. The microbiological examination of butter. *J. appl. Bact.*, 22:52-6, 1959.
11. FOSTER, E.M. et al. *Dairy microbiology*. Englewood Cliffs, N.J., Prentice-Hall, 1957.
12. FRAZIER, W.C. & WESTHOFF, D.C. *Food microbiology*. New York, Mc Graw-Hill, 1978.
13. HAMMER, B.W. & YALE, M.W. Development of *Escherichia-aerobacter* group of bacteria in butter. *J. Dairy Sci.*, 15:199-208, 1932.
14. HARRIGAN, W.F. & McCANCE, M.E. *Laboratory methods in food and dairy microbiology*. London, Academic Press, 1976.
15. HISCOX, E.R. Pigment producing organism isolated of discoloured butter. *J. Dairy Res.*, 7:238-42, 1936.
16. JAY, J.M. Alteraciones de otros alimentos. In: Jay, J.M. *Microbiologia moderna de los alimentos*. Zaragoza, Ed. Acribia, 1973. p. 88-102.
17. JEZESK, J.J. & MACY, H. Chryophilic organisms in water and butter. *J. Dairy Sci.*, 29:439-52, 1946.
18. KADERAVEK, G. et al. Azione delle lipasi microbiche sul grasso del latte. *Riv. ital. Sostanze Grasse*, 50:135-6, 1973.
19. McDOWALL, F.H. *The buttermaker's manual*. Wellington, New Zealand University Press, 1953. v.1.
20. MACY, H.A. Discussion of some current defects in butter. *Can. Dairy and Ice-cream J.*, 11:34-6, 1932.
21. MADSEN, F. A pesquisa do grupo coliforme como contribuição ao controle sanitário da fabricação de manteiga. *Arg. Esc. Sup. Vet.*, Belo Horizonte, 12:9-36, 1959.
22. MARTIN, C.R.A. Milk and milk products. In: Martin, C.R.A. *Practical food inspection*. 7th ed. London, H.K. Lewis, 1969. p. 466-540.
23. MOSSEL, D.A.A. & QUEVEDO, F. *Control microbiológico de los alimentos*. Lima, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, 1967. (Serie de monografias del CLEIBA, 1).
24. NASHIFF, S.A. & NELSON, F.E. The lipase of *Pseudomonas fragi*. III. Enzyme action in cream and butter. *J. Dairy Sci.*, 36:481-8, 1953.
25. PANETTA, J.C. Contribuição para o estudo da incidência de germes dos grupos coliforme e enterococo no leite e em produtos derivados. *Rev. Fac. Med. vet.*, S. Paulo, 8:215-41, 1969.
26. ROGICK, F.A. & DIAS, A.S. Pesquisas sobre manteigas fabricadas em São Paulo e sua conservação em frigorífico. III, IV, V. *Bol. Industr. Anim.*, S. Paulo, 17 (nº único): 167-206, 1959.
27. ROGICK, F.A. & DIAS, A.S. Tecnologia e controle sanitário das manteigas fabricadas e consumidas no Estado de São Paulo. *Bol. Industr. Anim.*, S. Paulo, 19:120-6, 1961.
28. SAINCLIVIER, M. et al. Techniques d'exame bacteriologique du beurre. *Ann. Nutr.*, Paris, 23: A27-"37, 1969.
29. SANDOVAL, L.A. et al. Estudo tecnológico e microbiológico de manteigas consumidas no Estado de São Paulo. *Rev. Inst. Lat. Cândido Tostes*, Juiz de Fora, 26(156/7):1-10, 1971.
30. SARASWAT, D.S. et al. The relationship between enterococcus, coliform and yeast and mold counts in butter. *J. Milk Food Technol.*, 28:245-9, 1965.
31. SORENSEN, C.M. The keeping of butter. *J. Dairy Sci.*, 23:423-36, 1940.

32. SOUTO, A.B. & MARTINS, H. Investigações microbiológicas sobre manteigas. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, S. Paulo, 6:5-11, 1946.
33. STARK, C.N. & SHEIB, B.J. A study of fat splitting and casein digesting bacteria isolated from butter. *J. Dairy Sci.*, 20:191-219, 1937.
34. THATCHER, F.S. & CLARK, D.S. *Análisis microbiológico de los alimentos*. Zaragoza, Ed. Acribia, 1973.
35. THOMAS, S.B. & DRUCE, R.G. Psychrotrophic micro-organisms in butter: review. Part I and II. *Dairy Ind.*, 36:75-80; 145-50, 1971.
36. THOMSON, G.I. Coliform bacteria in New Zealand butter. *J. Dairy Res.*, 17:72-8, 1950.
37. WAGENAAR, R.O. The bacteriology of surface-taint butter: review. *J. Dairy Sci.*, 35:403-23, 1953.
38. WHITE, A.H. A bacterial discoloration of print butter. *Sci. Agric.*, 20:638-45, 1940.
39. WOLOCHOW, H. et al. Studies on surface taint butter. *Sci. Agric.*, 22:522-60, 1942.
- Recebido para publicação em 11/12/1980*
- Aprovado para publicação em 10/05/1981*