



**Departamento de Biotecnologia**  
**Disciplina Microbiologia Experimental - LOT 2050**

**AULA: ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DO LEITE**

**1- INTRODUÇÃO**

O leite é um dos alimentos mais consumidos no mundo e também um excelente meio de cultura para o desenvolvimento de bactérias aeróbias. Os principais grupos contaminantes do leite são dos gêneros *Proteuse* e *Bacillus*, responsáveis pela rancidez, *Alcaligenes* e *Klebsiella*, pela alteração na viscosidade, e *Pseudomonas*, pela alteração na cor. Estas bactérias utilizam a lactose, em um processo fermentativo, liberando no leite ácidos e hidrogênio. Em amostras de leite contaminado, o corante Azul de Metileno atua como um acceptor de hidrogênio e elétrons tornando-se incolor em sua forma reduzida. A velocidade da reação é diretamente proporcional a concentração de células de bactérias. O teste da reação de redução com Azul de Metileno é rotineiramente utilizado na indústria de laticínios para verificação da qualidade do leite dos fornecedores.

**2- OBJETIVOS**

Avaliar a qualidade de diferentes amostras de leite através da aplicação do teste da redutase com o corante de Azul de Metileno.

**3- MATERIAL E EQUIPAMENTO**

Material

- Diferentes amostras de leite disponibilizadas pelo Professor.
- Tubos de ensaio
- Ponteiras estéreis
- Solução de Azul de Metileno 0,02%.

Equipamento

- Banho termostático

**4- PROCEDIMENTO**

Serão entregues 5 amostras de leite.

1. Anotar nos tubos de ensaio a identificação de cada amostra que será analisada.
2. Adicionar o volume de 10 mL da amostra de leite no tubo de ensaio.



**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO**  
**Escola de Engenharia de Lorena –EEL**

**Departamento de Biotecnologia**  
**Disciplina Microbiologia Experimental - LOT 2050**

3. Adicionar em cada tubo 1,0 mL da solução de Azul de Metileno 0,02%.
4. Misturar com cuidado e colocar todos os tubos no banho a 37°C. Anotar o horário do início da reação.
5. Fazer a primeira leitura com 20 min de reação. As seguintes leituras a cada 30 minutos.
6. Considera-se como teste positivo quando a cor alterar de azul para branca.

**RESULTADO:**

Tabela 1: Relação entre o tempo da reação de redução do corante, concentração estimada de bactérias e qualidade do leite

<b>TEMPO PARA DESCORAR</b>	<b>UFC / mL</b>	<b>QUALIDADE DO LEITE</b>
< 20 minutos	$> 2,0 \times 10^7$	PÉSSIMA
20 minutos a 2 h.	$4,0 \times 10^6$ a $2,0 \times 10^7$	MÁ
2 a 5,5 horas	$5 \times 10^5$ a $4 \times 10^6$	REGULAR
>5,5 horas	$< 5,0 \times 10^5$	BOA

Anotar os resultados obtidos para cada amostra analisada em aula.