

2.12.99 - Microbiologia

AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DO QUEIJO MANTEIGA COMERCIALIZADO EM MACEIÓ, ALAGOAS.

Júlio R. M. Silva¹, Yaskara V. R. Barros², Ana K. B. Silva³, Layanne O. Ferro⁴, Dality K. B. Rodrigues⁵, Ismaell A. S. Sobrinho⁶, Eliane C. Souza⁷

1. Biomédico Esp. em Microbiologia e Parasitologia - Cesmac
2. Pesquisadora Mestre em Bioquímica do Cesmac/ Orientadora
3. Biomédica pelo Cesmac
4. Biomédica Esp. em Microbiologia e Parasitologia - Cesmac
5. Biomédica Especialista em Saúde Pública – UNASP
6. Graduando em Nutrição - Cesmac
7. Mestre em Nutrição pela Universidade Federal de Alagoas

Resumo:

O queijo do tipo manteiga, também conhecido como requeijão do sertão, tem grande importância e difusão entre os queijos produzidos nas diferentes regiões do Brasil. O presente trabalho avaliou 16 amostras de queijo manteiga comercializados em Maceió, Alagoas, seguindo as exigências da RDC nº 12 de 2001 da Anvisa referente a qualidade microbiológica. Devido a prática de produção de queijos artesanais sem a pasteurização do leite, bem como as diferentes formas de produção e comercialização inadequadas, aumenta-se a probabilidade de contaminação deste produto alimentício. Os resultados obtidos possibilitaram concluir que 8 (50%) amostras avaliadas estavam inviáveis para consumo humano, devido à contaminação elevada por *Staphylococcus coagulase* positiva e que 9 amostras (56,25%) apresentavam a presença de *E. coli*, além de contagens significativas de coliformes a 45°C, indicando assim a importância de cumprir com as normas de boas práticas de fabricação dos alimentos.

Palavras-chave: Microbiologia; Contaminação; Alimento.

Introdução:

O queijo de manteiga, também conhecido como requeijão do sertão, é de origem brasileira, sendo um alimento de fácil fabricação e grande valor nutricional. Sua produção é uma das estratégias mais utilizadas para o aproveitamento do leite nas fazendas localizadas longe dos grandes centros consumidores e dos laticínios (CAVALCANTE; COSTA, 2005).

A principal forma de produção desse tipo de queijo é através da coagulação de leite não pasteurizado, com a utilização de ácidos orgânicos, onde sua massa é submetida a vários processos com o adição da manteiga de garrafa (BRASIL, 2001). O processo de pasteurização do leite pode ou não ser executado para a fabricação de queijos, pois sua finalidade é obrigatoriamente eliminar os patógenos presentes no leite cru, protegendo a saúde do consumidor (PEREDA, 2005).

Entretanto, o queijo manteiga, na maioria das vezes, é submetido apenas a um aquecimento do leite, não havendo dessa forma, segundo os produtores necessidade do ponto de vista higienicossanitário de pasteurização da matéria prima desse tipo de queijo (OLIVEIRA, 1984). Outro motivo de eliminação da pasteurização por parte de alguns produtores seria que o aquecimento dos queijos artesanais produzidos alteraria o sabor, pois na experiência dos mesmos a pasteurização acarreta na eliminação dos chamados fermentos naturais que são importantes no sabor final do produto (MENEZES, 2011).

Dessa forma vale destacar que a produção do queijo manteiga ainda é realizada de maneira artesanal e empírica, sem uma padronização. Durante a sua obtenção pode existir presença de falhas higiênicas em etapas importantes, como as de produção, armazenamento e distribuição (CAVALCANTE; COSTA, 2005). Esse produto depois de embalado e distribuído, é na maioria dos casos comercializado sem fiscalização. Assim, a contaminação microbiana do queijo é relevante para a saúde pública, pelo risco de causar doenças veiculadas pelos alimentos como, por exemplo, gastroenterites (FEITOSA et al. 2003).

Seguindo esta linha de raciocínio, os objetivos da pesquisa seguiram a RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa) que determina que os microrganismos que devem ser pesquisados nos queijos com umidade alta equivalente de 46%-55% são: coliformes a 45°C, *Staphylococcus coagulase* positiva, *Salmonella* sp. e *Listeria monocytogenes*.

Metodologia:

Tratou-se de um estudo analítico descritivo. A coleta da amostra foi realizada em supermercados, feiras livres, laticínios e panificações que comercializavam queijo do tipo manteiga na cidade de Maceió, Alagoas. Foram avaliadas 16 amostras de queijo manteiga. Estas amostras foram obtidas no comércio, em seguida, identificadas acondicionadas em sacos plásticos de primeiro uso e transportadas em caixas isotérmicas contendo gelo até o Laboratório Multidisciplinar de Pesquisa do Centro Universitário Cesmac.

De cada amostra foram retirados 25 g e adicionados em um erlenmeyer contendo 225 mL de água peptonada estéril 0,1%. Esta mistura foi homogeneizada, sendo considerada a diluição 10⁻¹. A partir desta foram realizadas diluições seriadas até 10⁻³. Na pesquisa de coliformes a 45°C e coliformes totais, de cada diluição foram inoculados 1 mL em tubos de ensaio contendo LST e tubo de Durham invertido, incubados a 37°C por 48h. De cada tubo de LST positivo, foi transferida uma alçada para outro tubo contendo Caldo EC, posteriormente

incubados a $44,5 \pm 0,2^{\circ}\text{C}$ por $24\text{h} \pm 2\text{h}$ e uma alçada para outro tubo contendo Caldo VB incubados a $35 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ de 24-48h. Os Caldos inoculados com turvação e produção de gás no interior nos tubos de Durham foram considerados positivos. Para quantificar a densidade de microrganismos nas amostras foi utilizada a Tabela de Número Mais Provável (NMP).

Em relação a Determinação da presença de *Escherichia coli*, de cada tubo positivo no Caldo EC foi retirada uma amostra e semeada por esgotamento em placa de petri contendo o meio de cultura EMB. Estas placas foram incubadas a $35^{\circ}\text{C}/24\text{h}$. Havendo o crescimento no Agar EMB de colônias típicas de *E. coli* (colônias com diâmetro de 2 a 3 mm, com brilho metálico esverdeado e com centro escuro), foram submetidas a provas bioquímicas: fermentação de açúcares (TSI), utilização do citrato, produção de urease e indol, descarboxilação da lisina e motilidade.

Para pesquisa de estafilococos coagulase positivo, 100 μL das diluições seriadas foram plaqueadas na superfície do Ágar Baird-Parker suplementado com emulsão de gema de ovo a 5% e telurito de potássio. Estas foram incubadas a $35^{\circ}\text{C}/48\text{h}$. Colônias típicas de *S. aureus* foram posteriormente submetidas à identificação por meio de coloração de Gram, catalase, teste da coagulase, fermentação de manitol e produção de DNase.

Para determinação da presença de *Salmonella* sp., foram adicionados 25g da amostra a 225 mL de caldo lactosado. Este foi incubado a $35^{\circ}\text{C}/24\text{h}$. Posteriormente, foram transferidos 0,1 mL e 1,0 mL para tubos contendo 10 mL de Caldo Rappaport-Vassiliadis e 10 mL de Caldo Selenito Cistina, respectivamente; sendo o primeiro incubado a 41°C por 24h e o segundo incubado a 37°C por 24h. A partir destes caldos de enriquecimento, as amostras foram semeadas em Ágar Hektoen, Ágar Xilose-Lisina Desoxicolato e ágar *Salmonella-Shigella*, sendo incubadas a $37^{\circ}\text{C}/24\text{h}$. Colônias suspeitas de *Salmonella* sp. foram submetidas a provas bioquímicas de identificação.

Resultados e Discussão:

Durante a análise microbiológica das amostras avaliadas, foi observado que das 16 amostras analisadas, 9 amostras (56,25%) apresentaram contagens para coliformes a 45°C . Entre essas amostras, quatro foram obtidas de feiras livres (25%), ambiente no qual a manipulação direta do produto é muito mais comum. Entretanto, as mesmas estiveram dentro do limite permitido pela legislação vigente para coliformes a 45°C em queijo manteiga que é de 5×10^3 , porém foi verificada a presença de *E. coli* nessas 9 amostras indicando que não estavam aptas ao consumo humano, pois o mesmo resultado sugere falhas nas condições higiênicas durante as etapas de fabricação ou distribuição ao consumidor, já que esse patógeno é indicador de contaminação microbiana do tipo fecal, sendo possível sua presença estar associada às falhas no processo de pasteurização ou ausência do mesmo (SALOTTI et al., 2006; O'BRIEN et al., 2009; NUNES et al., 2013).

Em relação a avaliação da contaminação por estafilococos coagulase positiva nas amostras, observou-se que entre as dezesseis amostras de queijo manteiga avaliadas, oito (50%) ultrapassaram o limite permitido pela legislação que é de 10^3 , tornando-as impróprias para o consumo. Esse fato reforça a necessidade da implantação das boas práticas de higiene como método complementar da pasteurização do leite antes da produção, uma vez que as vias de contaminação dos queijos podem ser o leite, o manipulador e o ambiente de processamento (MELO et al., 2013).

Em relação a *Salmonella* sp. agente responsável por infecções graves de origem alimentar com capacidade para manter-se viável em queijo contaminado por longo período de tempo (SHINOHARA et al., 2008), notou-se que todas as amostras apresentaram ausência, estando esse resultado dentro do padrão estabelecido pela legislação (BRASIL, 2001).

Conclusões:

Tendo em vista os resultados apresentados, conclui-se que metade das amostras estavam impróprias para consumo e comercialização, já que 50% destas apresentaram não conformidades para contaminação por estafilococos coagulase positiva e *E.coli*.

Sugere-se que houve falha nos processos de sanitização, temperaturas inadequadas de comercialização ou deficiência de qualidade higiênica durante o processamento, transporte e armazenamento.

Portando, é primordial a intensa fiscalização e adoção de medidas que garantam a melhoria na qualidade higienicossanitária do queijo manteiga produzido e comercializado em Maceió, Alagoas. Além disso, é importante enfatizar a necessidade de mais pesquisas com esse alimento para a detecção de *Listeria monocytogenes* como solicitado pela legislação brasileira.

Referências bibliográficas

ANVISA. Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. Resolução, nº12, de 02 de janeiro de 2001. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/a47bab8047458b909541d53fbc4c6735/RDC_12_2001.pdf?MOD=AJPERES>.

ALEXANDRE A.P.A., de AQUINO A.B., de LYRA D.G. & FROELICH A. Queijo manteiga contaminação microbiológica e risco à saúde do consumidor. Revista Brasileira de Medicina Veterinária. v. 38, n. 2, p. 121-124, abr/jun. 2016. Disponível em: <http://www.rbmv.com.br/pdf_artigos/13-07-2016_09-53RBMV%200213.pdf>.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Instrução Normativa nº 30, de 26 de junho de 2001. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 16 jun. 2001. Disponível em: <https://www.univates.br/unianalises/media/imagens/Anexo_VIII_61948_8.pdf>.

CAVALCANTE, A. B. D.; COSTA, J. M. C. Padronização da Tecnologia de Fabricação do Queijo de Manteiga. *Revista Ciência Agronômica*. v. 36, n. 2, p. 215-220, mai/ago. 2005. Disponível em: <<http://ccarevista.ufc.br/seer/index.php/ccarevista/article/view/276>>.

FEITOSA, T.; BORGES, M. F.; NASSU, R.T; AZEVEDO, E. H. F. de; MUNIZ, C. R. Pesquisa de Salmonella sp., Listeria sp. e microrganismos indicadores higiênico-sanitários em queijos produzidos no Estado do Rio Grande do Norte. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v.23, p.162 - 165, 2003. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/cta/v23s0/19490.pdf>>.

FELLOWS, P.J. Resfriamento. *Tecnologia do Processamento de Alimentos: princípios e práticas*. 2.ed. São Paulo: Artmed, 2006. p. 401-409.

LANDGRAF, M. Microrganismos indicadores. In: FRANCO, B. D. G. de M.; LANDGRAF, M. *Microbiologia dos alimentos*. São Paulo: Atheneu, 2008. cap. 3, p. 27-31. Acesso em: 18 abr. 2016.

MENEZES, S. S. M. Queijo Artesanal: Identidade, Prática Cultural e Estratégia de Reprodução Social em Países da América Latina. *Revista Geográfica de América Central*. v. 2, n. 47, p. 1-16, jun/jul. 2011. Disponível em: <<http://revistas.una.ac.cr/index.php/geografica/article/view/2322/2218>>.

MAPA. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Queijo de Manteiga. Instrução Normativa, nº30, de 26 de junho de 2001. Disponível em: <http://www.agais.com/normas/leite/queijo_manteiga.htm>.

MELO F.D. et al. Avaliação da inocuidade e qualidade microbiológica do queijo artesanal serrano e sua relação com as variáveis físico químicas e o período de maturação. *Acta Scientiae Veterinariae*, v. 41, n. 1152, p. 1-7, 2013. Disponível em: <<http://www.ufrgs.br/actavet/41/PUB%201152.pdf>>.

NETO, A. C.; SILVA, C. G. M.; STAMFORD, T. L. M. Staphylococcus enterotoxigênicos em alimentos in natura e processados no estado de Pernambuco, Brasil. *Revista de Ciência e Tecnologia de Alimentos*. v. 22, n. 3, p. 263-271, set/dez. 2002. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/cta/v22n3/v22n3a12.pdf>>.

NUNES, M. M. et al. Investigation of food and water microbiological conditions and foodborne disease outbreaks in the Federal District, Brazil. *Food Control*, v. 34, n. 1, p. 235-240, 2013. Disponível em: <<http://www.toxicologia.unb.br/admin/ckeditor/kcfinder/upload/files/2013%20Food%20Control.pdf>>.

O'BRIEN, M et al. Occurrence of foodborne pathogens in Irish farmhouse cheese. *Food Microbiology*, v. 26, n. 8, p. 910-914, 2009. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19835780>>.

OLIVEIRA, C. S. Queijos artificiais. *Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes*. v.39, n.235, p49-51. 1984. Disponível em: <<http://arvoredoleite.org/pdf/235.pdf>>.

PEREDA, J. A. O. et al. Queijos. *Tecnologia de Alimentos: Alimentos de Origem Animal*. 2ª edição. Porto Alegre: Artmed, 2007. Cap. p. 13-275.

PENA, E. C. et al. Avaliação da qualidade microbiológica do queijo Minas Frescal fabricado em Minas Gerais em 2008. In: CONGRESSO NACIONAL DE LATICÍNIOS, 26. 2009, Juiz de Fora. Anais Eletrônicos. Juiz de Fora: EPAMIG/ILCT, 2009. Disponível em: <<http://www.revistadoilct.com.br/riilct/issue/archive?issuesPage=2#issues>>.

RIEDEL, G. *Industrialização de Alimentos e Inspeção de Alimentos Industrializados*. Controle sanitário dos alimentos. 3.ed. São Paulo: Artmed, 2005. p. 271-289.

SALOTTI, B. M. et al. Qualidade microbiológica do queijo Minas Frescal comercializado no município de Jaboticabal, SP, Brasil. *Arquivos do Instituto Biológico*, v. 73, n. 2, p. 171-175, 2006. Disponível em: <http://www.biologico.sp.gov.br/docs/arq/V73_2/salotti.PDF>.

SEIXAS, V. N. C.; FÉLIX, M. R.; SILVA, G. M.; PERRONE, I. T.; CARVALHO, A. F. Caracterização do Queijo do Marajó tipo manteiga produzido em duas estações do ano. *Ciência Rural*. v. 45, n. 4, p. 730-736, abr. 2015. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/cr/2014nahead/0103-8478-cr-00-00-cr20140463.pdf>>.

SILVA, N.D. et al. *Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos*. Editora: Varela. 453 p. 2010.

SHINOHARA, N. K. S. et al. Salmonella spp., importante agente patogênico veiculado em alimentos. *Ciência&SaúdeColetiva*, v. 13, n. 5, p. 1669-1674, 2008. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S141381232008000500031>.

SILVA, W. F.; NASCIMENTO, T. B.; OLIVEIRA, L. F.; FERNANDES, N. S. F.; OLIVEIRA, P. M. C. Análise de coliformes totais e termotolerantes em vegetais minimamente processados comercializados em um supermercado de Montes Claros, Minas Gerais. *Revista de Nutrição e Vigilância em Saúde*. V. 1, n. 3, p. 6-10, set, 2014. Disponível em: <<https://www.revistanutrivisa.com.br/wp-content/uploads/2014/11/nutrivisa-vol-1-num-3-b.pdf>>.

SOUSA, A. Z. B. et al. Aspectos físico-químicos e microbiológicos do queijo tipo Coalho comercializado em estados do nordeste do Brasil. *Arquivos do Instituto Biológico*. São Paulo, v. 81, n. 1, p. 30-35, out. 2014. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/aib/v81n1/1808-1657-aib-81-01-00030.pdf>>.

TOLEDO, R. T. Fundamentals of Food Process Engineering. New York: Chapman e Hall, 1991. p. 98-436.