



Área: Ciência de Alimentos

AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DE QUEIJO MINAS FRESCAL PROVENIENTE DE FEIRA LIVRE DE LAVRAS-MG

Bruna Azevedo Balduino*, Anderson Henrique Venâncio, Mônica Aparecida da Silva, Isabela Sampaio Ribeiro, Sabrina de Souza Nascimento, Roberta Hilsdorf Piccoli

Laboratório de Microbiologia de Alimentos, Mestrado em Ciência dos Alimentos, Departamento de Ciência dos Alimentos, Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG

*E-mail: brunaazevedo.94@hotmail.com

RESUMO – Queijo Minas frescal é um produto altamente consumido no Brasil. Devido sua composição e alta umidade, torna-se um meio ideal para o crescimento de microrganismos patogênicos, sendo um risco a saúde do consumidor. Desse modo, este trabalho teve como objetivo avaliar a presença de *Staphylococcus* coagulase positiva e enterobactérias durante a vida útil de uma marca de queijo Minas frescal, adquirido em feira livre na região de Lavras-Minas Gerais. Para tanto, foram coletadas três unidades de queijo do mesmo lote, que foram encaminhadas imediatamente ao Laboratório de Microbiologia de Alimentos, onde procedeu-se as análises microbiológicas. As amostras foram avaliadas nos tempos 2, 5 e 8 dias de fabricação, de acordo com o prazo de validade de 7 dias, contido no rótulo. Para identificação de *Staphylococcus*, foram selecionadas três diluições e realizado um plaqueamento em superfície, em ágar Baird-Parker, seguido de incubação das placas a 37 °C/24 h. Já para enumeração de enterobactérias, foram realizados plaqueamentos em profundidade, com sobrecamada, utilizando-se o Ágar Vermelho Violeta Bile Glicose (VRBG), seguido de incubação das placas a 35° C/ 24 h. As análises demonstraram que nenhuma das amostras estavam contaminadas com *Staphylococcus* coagulase positiva, estando estas em conformidade com a legislação. No entanto, a contagem de enterobactérias foi elevada e aumentou durante os dias de armazenamento. A presença desse grupo de bactérias indica falhas no processo de sanitização durante a fabricação. Portanto, a utilização de boas práticas de fabricação é necessária para garantir a qualidade do produto e segurança dos consumidores.

Palavras-chave: Controle microbiológico, queijo, enterobactérias, *Staphylococcus* coagulase positiva.

1 INTRODUÇÃO

A produção de queijos é uma forma de conservação do leite, por meio de sua transformação em um produto mais estável, cujas características são mantidas (DIAS et al., 2016).

Queijo Minas frescal é um queijo fresco, obtido por coagulação enzimática do leite com coalho e/ou outras enzimas coagulantes apropriadas, complementada ou não com a ação de bactérias lácticas específicas. É considerado um queijo semi-gordo, de muito alta umidade, consumido fresco. (BRASIL, 2004).

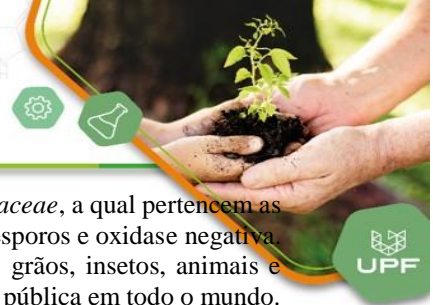
Dentre os diversos produtos derivados do leite, o queijo Minas frescal, produzido de forma artesanal ou industrial, é um dos mais consumidos no Brasil, o que está relacionado a fatores como seu teor nutritivo, simples processo de fabricação e baixo custo (LIMA; CARDOSO, 2019).

Suas características físico-químicas e composição fazem com que ele seja um produto propício ao desenvolvimento de microrganismos patogênicos, sendo, portanto, relacionado a doenças de origem alimentar em diversos países (CARVALHO; VIOTTO; KUAYE; 2007).

Desse modo, as condições higiênico-sanitárias durante a produção são essenciais para garantir um produto seguro aos consumidores, sendo necessário realizar procedimentos como a pasteurização do leite cru e as boas práticas de fabricação para evitar a contaminação por microrganismos patogênicos causadores de doenças transmitidas por alimentos (DTAs) (BASTOS; MARTINS; RAGHIANTE, 2020; SILVA; BORTOLUCI; VIVAN, 2019). Entre esses microrganismos, as enterobactérias e *Staphylococcus* coagulase positiva são comumente associados a contaminação de queijos.

Entre as várias espécies de *Staphylococcus*, cinco (*S. aureus*, *S. intermedius*, *S. delphini*, *S. schleiferi* subsp. *Coagulans* e *S. hyicus*) são capazes de produzir coagulase, uma enzima extracelular. Essas espécies são consideradas patógenos potencialmente sérios e, desse modo, a produção de coagulase é utilizada como uma indicação de patogenicidade entre as espécies de *Staphylococcus*. Sendo *S. aureus* a espécie mais prevalente em surtos de intoxicação alimentar estafilocócica (SILVA; GANDRA, 2004; DA SILVA et al., 2017).

S. aureus é um patógeno de origem alimentar de grande importância em todo mundo, por estar relacionado à frequente contaminação de alimentos. Algumas de suas cepas são capazes de produzir enterotoxinas estafilocócicas, que, uma vez presentes nos alimentos, podem levar a intoxicação alimentar quando ingeridas. Leites e produtos lácteos são produtos que estão frequentemente relacionados a contaminação por esse patógeno (CRETENET; EVEN; LE LOIR, 2011).



Enterobactérias é o nome dado “vulgarmente” aos membros da família *Enterobacteriaceae*, a qual pertencem as bactérias Gran-negativas, em forma de bastonetes, anaeróbias facultativas, não formadora de esporos e oxidase negativa. Essas bactérias podem estar presentes no solo, água, frutas, plantas, vegetais, ovos, carnes, grãos, insetos, animais e humanos. Algumas são patogênicas ao homem, sendo consideradas um problema para a saúde pública em todo o mundo. Devido ao fato de serem sensíveis e facilmente inativadas por sanitizantes, são utilizadas como indicadores das condições de higiene dos processos de fabricação, pois se houver falhas no processo de sanitização elas são capazes de colonizar vários setores das plantas de processamento (DA SILVA et al., 2017).

Diante deste contexto, o objetivo do trabalho foi avaliar presença de *Staphylococcus* coagulase positiva e enterobactérias durante a vida útil de uma marca de queijo Minas frescal adquirido em feira livre na região de Lavras-Minas Gerais.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Local de condução do experimento

As análises microbiológicas foram realizadas no Laboratório de Microbiologia de Alimentos, do Departamento de Ciência dos Alimentos (DCA), da Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras-MG, Brasil.

2.2 Coleta, manutenção e preparo das amostras

Três amostras de queijo Minas frescal do mesmo lote, foram coletadas em uma feira livre do município de Lavras-MG. As amostras foram coletadas de forma asséptica, armazenadas em caixas isotérmicas com gelo e imediatamente transportadas para o Laboratório de Microbiologia de Alimentos do DCA/UFLA, onde foram realizadas as análises microbiológicas. Ao chegarem ao laboratório, uma amostra (uma unidade de queijo) foi coletada aleatoriamente para o início das análises. As outras duas amostras foram armazenadas em geladeira (7°C), por 5 e 8 dias, para posterior realização das análises.

Inicialmente, realizou-se a higienização da bancada, embalagens dos queijos e demais utensílios com álcool 70% (m/v). Utilizou-se uma tesoura previamente esterilizada para abertura das embalagens. Com auxílio de uma espátula estéril, retirou-se unidades analíticas de 25g de cada queijo, que foram diluídas em 225 mL de Caldo Citrato do Sódio e homogeneizadas em homogeneizador tipo Stomacher (Seward Stomacher 400 Lab) a 490 golpes/min, durante 5 minutos, para obtenção da diluição inicial (10^{-1}). Posteriormente, realizou-se diluições seriadas a partir da transferência de uma alíquota de 1mL da amostra diluída (diluição 10^{-1}) para um tubo contendo 9 mL de água peptonada (0,1% m/v) e assim, sucessivamente até atingir a diluição 10^{-5} .

Realizou-se as análises para identificação de *Staphylococcus* coagulase positiva e contagem de enterobactérias de acordo com a metodologia proposta por Da Silva et al. (2017). Todas as análises foram realizadas em triplicata com 3 repetições. Essas análises foram realizadas após 2, 5 e 8 dias de fabricação.

2.3 Enumeração de enterobactérias

A quantificação de enterobactérias foi feita pelo método de contagem padrão em placas, utilizando-se o Ágar Vermelho Violeta Bile Glicose (VRBG). Desse modo, realizou-se a técnica de plaqueamento em profundidade, na qual alíquotas de 1mL de cada diluição foram transferidas para placas de Petri, com subsequente adição do meio VRBG, seguida de homogeneização das placas e, após completa solidificação do meio, adição de uma sobrecamada. As placas foram incubadas a 35 °C/24 h. Após esse período, realizou-se a contagem de colônias típicas, sendo o resultado expresso em unidades formadoras de colônia por grama (UFC/g) de produto.

2.4 Detecção de *Staphylococcus* coagulase positiva

Foram selecionadas três diluições adequadas e inoculados alíquotas de 0,1 mL em placas de Petri contendo o meio Ágar Baird-Parker, para realização do plaqueamento em superfície. As placas foram incubadas a 37 °C/48 h e após esse período, foram analisadas para detecção de colônias típicas.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A contagem de Enterobactérias e *Staphylococcus* coagulase positiva das amostras de queijo Minas frescal nos tempos de 2, 5 e 8 dias pode ser observada na Tabela 1.



Tabela 1. Contagem de Enterobactérias e *Staphylococcus* coagulase positiva em queijo Minas frescal

| Tempo de fabricação (dias) | Microrganismos (UFC/g) | |
|-------------------------------|------------------------|---|
| | Enterobactérias | <i>Staphylococcus</i> coagulase positiva |
| 2 | 1,81 x 10 ⁴ | Ausente |
| 5 | 7,60 x 10 ⁵ | Ausente |
| 8 | 2,01 x 10 ⁶ | Ausente |

Fonte: Dos autores (2021)

Analisando-se a tabela, é possível observar que nenhuma das amostras estavam contaminadas com *Staphylococcus* coagulase positiva, estando estas em conformidade com a legislação. No entanto, a contagem de enterobactérias foi elevada e aumentou durante o armazenamento.

Outros estudos também avaliaram a qualidade microbiológica de queijo Minas frescal. Cunha (2012) avaliou 117 amostras de queijo Minas frescal artesanal adquiridas em diferentes pontos de venda em 38 cidades e um distrito, escolhidas ao acaso, na mesorregião do Triângulo Mineiro e Alto Paranaíba – MG. Houve identificação de *Staphylococcus* coagulase positiva em 65 (55,55%) amostras, das quais 23 (35,89%) amostras se apresentaram impróprias para o consumo humano, com resultados acima do limite tolerado pela legislação. Souza et al. (2017) avaliaram a qualidade microbiológica de 50 amostras de queijo Minas frescal provenientes de 6 municípios da Zona da Mata Mineira. Dessas amostras, 16 (32%) apresentaram contagens de *Staphylococcus* coagulase positiva acima do limite estabelecido pela legislação e 10 (20%) apresentaram *S. aureus*.

Rodrigues e Ferreira (2016) avaliaram a qualidade microbiológica de 20 amostras de queijo Minas Padrão produzidos em um laticínio na cidade de Januária – MG e obtiveram uma contagem média para enterobactérias igual a 1,6 log UFC/g. Campos (2019) avaliou as características microbiológicas de queijos Minas artesanais obtidos de 78 produtores rurais na região da Canastra após maturação e observaram que as contagens para enterobactérias variaram de <1 a 6,6 log UFC/g.

A presença de enterobactérias no queijo, como foi observado em nosso trabalho, está relacionada a condições higiênico-sanitárias inadequadas, o que indica uma não utilização ou até mesmo um desconhecimento das boas práticas de fabricação, pelos produtores. Desse modo, a contaminação pode ter ocorrido durante o processo de fabricação e estar relacionada com condições sanitárias do rebanho, qualidade do leite e procedimentos higiênicos inadequados durante processamento, armazenamento, transporte e comercialização (BASTOS; MARTINS; RAGHIANTE, 2020; SOUZA et al., 2017; RODRIGUES; FERREIRA, 2016; BRANT; FONSECA, SILVA, 2007).

4 CONCLUSÃO

Os resultados demonstraram que as amostras de queijo Minas frescal analisadas estavam em conformidade com a legislação vigente, em relação a presença de *Staphylococcus* coagulase positiva, já que nenhuma das amostras estava contaminada por este microrganismo. No entanto, foram observadas elevada contagem de enterobactérias durante a vida útil do queijo, o que indica falhas de higiene durante o processo de produção, transporte e comercialização. Portanto, faz-se necessário uma melhoria no processo de produção desse queijo, além de uma fiscalização com o intuito de orientar os produtores de queijo quanto aos métodos higiênico-sanitários e às boas práticas de fabricação, de modo que se possa fornecer um produto de qualidade, que não ofereça riscos ao consumidor.

5 AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à UFLA, CAPES, FPEMIG e CNPq.

6 REFERÊNCIAS

- BASTOS, R. B.; MARTINS, O. A.; RAGHIANTE, F. Hygienic-sanitary quality of fresh Minas cheese: a review. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, v.14, n.3, p. 1-12, 2020.
- BRANT, L. M. F.; FONSECA, L. M.; SILVA, M. C. C. Avaliação da qualidade microbiológica do queijo-de-minas artesanal do Serro-MG. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 59, n. 6, p. 1570-1574, 2007.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 04, de 01 de Março de 2004. Inclusão do termo Muito na expressão Alta Umidade nos itens 2.2 (Classificação), 4.2.3 (Requisitos Físico-Químicos) e 5.1 (Aditivos), no Regulamento Técnico para fixação de Identidade e Qualidade do queijo Minas frescal. Diário Oficial da União, Brasília, 05 mar. 2004.



- CAMPOS, G. Z. **Avaliação microbiológica de queijos minas artesanais provenientes da Serra da Canastra durante e após o período de maturação.** 2019. 90 p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos). Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo.
- CARVALHO, J. D. G.; VIOTTO, W. H.; KUAYE, Y. The quality of Minas Frescal cheese produced by diferente technological processes. **Controle Alimentar**, v. 18, n. 3, p. 262-267, 2007.
- CRETENET, M.; EVEN, S.; LE LOIR, Y. Uneveiling *Staphylococcus aureus* enterotoxin production in dairy products: a review of recente advances to face new challenges. **Dairy Science & Technology**, v. 91, n. 2, p. 127-150, 2011.
- CUNHA, A. P. **Presença de Staphylococcus coagulase positiva em queijo minas frescal artesanal.** 2012. 48 p. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde). Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia.
- DA SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; DE ARRUDA SILVEIRA, N. F.; TANIWAKI, M. H. *et al.* **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água.** Editora Blucher, 2017, 560p.
- DIAS, B. F.; FERREIRA, S. M.; CARVALHO, V. S.; SOARES, D. S. B. Qualidade microbiológica e físico-química de queijo minas frescal artesanal e industrial. **Revista de Agricultura Neotropical**, v. 3, n. 3, p. 57-64, 2016.
- LIMA, A. A.; CARDOSO, A. J. V. S. Qualidade microbiológica de queijo Minas frescal, artesanal, comercializados em feiras livres do Distrito Federal. **Brazilian Journal of Development**, v. 5, n. 9, p. 13673-13688, 2019.
- RODRIGUES, C. R. F.; FERREIRA, L. C. Avaliação da qualidade microbiológica de queijo Minas Padrão produzido no município de Januária-MG. **Caderno de Ciências Agrárias**, v. 8, n. 1, p. 57-61, 2016.
- SILVA, W. P.; GANDRA, E. A. Estafilococcus coagulase positiva: patógenos de importância em alimentos. **Higiene Alimentar**, v.18, n.122, p. 32-40, 2004.
- SILVA, L. F. B.; BORTOLUCI, F.; VIVAN, A. C. P. Análise microbiológica de queijos tipo minas frescal oriundos de diferentes formas de produção. **SALUSVITA**, v. 38, n. 2, p. 329-343, 2019.
- SOUZA, I. A.; GIOVANNETTI, A. C. S.; SANTOS, L. G. F.; GANDRA, S. O. S.; MARTINS, M. L.; RAMOS, A. L. S. Qualidade microbiológica de queijo Minas frescal comercializado na Zona da Mata Mineira. **Rev. Inst. Laticínios Cândido Tostes**, v. 72, n. 3, p. 152-162, 2017.