

AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DE QUEIJOS COLONIAIS ARTESANAIS PRODUZIDOS NO MUNICÍPIO DE SEARA-SC

Vanessa Cortina Zanetti*¹; Giovanna Bruna Koide¹; Emanuelli Marchesan Maran²;
Sheila Mello da Silveira³, Marília Miotto¹, Silvani Verruck¹

¹Universidade Federal de Santa Catarina, Departamento de Ciência e Tecnologia de
Alimentos, Florianópolis – SC. *E-mail: vanessa.zanetti@posgrad.ufsc.br

²Universidade Federal de Santa Catarina, Departamento de Engenharia Química e
Engenharia de Alimentos, Florianópolis – SC.

³Instituto Federal Catarinense, Departamento de Engenharia de Alimentos, Concórdia –
SC.

RESUMO

O presente trabalho tem por objetivo a caracterização microbiológica de queijos coloniais artesanais de Seara-SC, durante 21 dias de maturação. Em 8 amostras de queijo Colonial artesanal de dois produtores diferentes da região de Seara-SC foram realizadas análises de contagem de aeróbios mesófilos totais, bactérias lácticas, Enterobacteriaceae, *Escherichia coli*, bolores e leveduras, estafilococos coagulase positiva, pesquisa de enterotoxina estafilocócica, *Listeria monocytogenes* e *Salmonella* spp. Os resultados apresentaram ausência de *Salmonella* spp. e *L. monocytogenes* em 25g, estando de acordo com a legislação. As análises de aeróbios mesófilos totais e bolores e leveduras apresentaram altas contagens, demonstrando alta taxa de contaminação ao longo dos 21 dias de maturação. As bactérias ácido lácticas foram encontradas em valores superiores a 7,67 log UFC/g durante os 21 dias, resultado esperado devido a utilização de leite cru para fabricação dos queijos. Os valores de Enterobacteriaceae juntamente aos valores elevados de *E. coli*, representam práticas de fabricação deficientes. Estafilococos coagulase positiva apresentaram alguns valores superiores ao limite regulatório de 3 log UFC/g. No entanto, não houve detecção de toxina estafilocócica. Por fim, os resultados demonstram que o contínuo monitoramento do rebanho e da qualidade microbiológica dos queijos coloniais artesanais se faz necessário.

Palavras-chave: Queijo Colonial Artesanal. Caracterização. Qualidade Microbiológica.

INTRODUÇÃO

O queijo colonial artesanal tem uma longa tradição de produção e consumo no sul do país, possuindo uma microbiota específica, tipicamente encontrada em sua região de produção e consumo, sendo constituída principalmente de bactérias dos gêneros *Lactobacillus* spp., *Lactococcus* spp. e *Leuconostoc* spp. (1). Essas bactérias ácido lácticas (BAL) são fundamentais no microbioma dos queijos, pois possuem características benéficas, as quais garantem a qualidade e segurança dos queijos a partir da formação de ácido láctico e consequente redução do pH, formação de metabólitos que, por consequência, promovem a redução de microrganismos patogênicos presentes. Além disso, as BAL podem promover benefícios a saúde dos consumidores quando consumidas em quantidades adequadas (1).

No entanto, não são encontradas apenas bactérias benéficas. Queijos artesanais estão susceptíveis a presença de microrganismos patogênicos, principalmente devido às falhas nas boas práticas de fabricação e contaminação da matéria-prima (2). Com isso, diversos patógenos podem ser encontrados, sendo as mais recorrentes *Enterobacteriaceae*, *Escherichia coli*, *Salmonella* spp, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* e bolores e leveduras (3, 4).

Para a identificação e contagem destes microrganismos em alimentos diversas técnicas podem ser utilizadas, havendo padrões já estabelecidos para analisar individualmente cada bactéria ou grupo. As análises microbiológicas clássicas são as mais utilizadas, devido a maior facilidade de realização e menor custo, sendo realizada principalmente a contagem em placas para determinação de unidades formadoras de colônias (UFC) (5).

OBJETIVO

O presente trabalho tem por objetivo a caracterização microbiológica de queijos coloniais artesanais de Seara – SC, a partir de análises microbiológicas clássicas.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas 8 amostras diferentes de queijo Colonial artesanal de dois produtores da região de Seara-SC, avaliando a fermentação durante os tempos de maturação (CFd1, 7, 14, 21 e RGd1, 7, 14, 21). As análises realizadas foram de contagem total de aeróbios mesófilos (NBR ISO 4833:2015), contagem de bactérias lácticas (ISO 7889:2003), contagem de Enterobacteriaceae (ISO 21518-2:2017), contagem de *Escherichia coli* (ISO 16649-2:2001), contagem de bolores e leveduras (ISO 21527-1:2008), contagem de estafilococos coagulase positiva (NBR ISO 6888-1:2016), pesquisa de enterotoxina estafilocócica (AOAC OMA 2019), pesquisa de *Listeria monocytogenes* (2004-2:2019), e pesquisa de *Salmonella* sp. (AOAC OMA 2019). Foram realizadas análises estatísticas de variância (ANOVA) e comparação entre médias (Tukey), utilizando o software Statistica 13.5.

RESULTADO E DISCUSSÃO

Os resultados das análises microbiológicas estão apresentados na Tabela 01. As bactérias patogênicas *L. monocytogenes* e *Salmonella* spp. estavam ausentes em todas as amostras, como exigido pela legislação (6).

Em relação a análise de microrganismos aeróbios mesófilos, observa-se que os resultados encontrados foram superiores a 5 log UFC/g. A legislação brasileira não fornece limites, no entanto, os valores demonstram um indicativo de alta contaminação microbiológica, o qual poderia afetar a qualidade dos queijos (7). Assim como para os aeróbios mesófilos totais, a presença de bolores e leveduras indesejados em queijos está relacionada a contaminação da matéria-prima e ambiente de produção (8). As amostras dos diferentes produtores se diferenciaram estatisticamente entre si nos mesmos tempos de maturação, e diferenciaram nos diferentes tempos de maturação de um mesmo produtor, demonstrando que o ambiente e as formas de manipulação do produto são variáveis significativas para a presença destes microrganismos no produto (9). Além disso, os fungos possuem a capacidade de crescimento em pH ácido, o que contribuiu para o aumento ($p < 0,05$) das contagens de bolores e leveduras ao longo do tempo de maturação.

Em relação as BAL foram encontrados altos valores (superiores a 7,67 log UFC/g) ao longo do tempo de maturação. Essa elevada contagem de BAL pode ser considerada benéfica ao produto, visto que essas bactérias ao reduzirem o pH, inibem outros microrganismos indesejáveis. Além da redução do pH, essas bactérias também produzem peptídeos antagonistas às bactérias indesejáveis, favorecendo a segurança do alimento, além de serem responsáveis pela formação de compostos de aroma e sabor no produto (10).

Analisando os dados em relação a Enterobacteriaceae, nota-se que houve um aumento nas contagens conforme o do tempo de maturação, em relação as amostras CF. Já com relação as amostras RG, nota-se uma redução de Enterobacteriaceae conforme o tempo de maturação. Essa variação nos resultados se justifica principalmente pelas amostras serem independentes. Segundo a Portaria n. 146/1996 (11), o valor máximo de coliformes totais para queijos com média umidade ($36\% < \text{umidade} < 46\%$), o qual pertence à família Enterobacteriaceae, é de 3,7 log UFC/g, ou seja, todas as amostras ultrapassaram o limite máximo tolerável. Além disso, segundo a Instrução Normativa n. 161/22 (6), o limite de *Escherichia coli* em queijos com umidade inferior a 46% é de 2 log UFC/g. Com isso, observa-se que as amostras apresentaram resultados superiores a legislação, apenas a amostra RGd21 ficou dentro dos limites desejáveis. Quando há populações superiores aos valores toleráveis, o microrganismo pode causar risco à saúde dos consumidores, visto que algumas cepas de *E. coli* são patogênicas. A sua presença no alimento representa contaminação de origem fecal, de ordem direta ou indireta (12).

Em relação a Estafilococos coagulase positiva, sendo o principal representante deste grupo o *Staphylococcus aureus*, a legislação determina um limite máximo aceitável de 3 log UFC/g (6). Vale ressaltar que todas as amostras são independentes, de forma que a produção dos queijos apresenta diferenças em relação a matéria prima e o controle da produção. A presença de estafilococos acima do limite permitido pode ocorrer a partir dos manipuladores, que apresentam a bactéria em seu trato respiratório e pele, além da contaminação por equipamentos e superfícies que entraram e contato com o produto (9). Também, o *S. aureus* é um dos principais causadores de mastite clínica e subclínica nos bovinos leiteiros, o que, quando não tratado, causa contaminação do leite e derivados (13). Também foi realizada análise de toxina estafilocócica nos queijos, como requerido pela legislação vigente, de modo que os resultados se apresentaram negativos para a análise. Para a produção da toxina estafilocócica, a população de *S. aureus* deve ser superior a 5 log UFC/g (14). Com os resultados apresentados em relação a Estafilococos coagulase positiva (inferior a 5 log UFC/g), pode-se observar um ambiente desfavorável a produção da toxina.

CONCLUSÃO

Queijos produzidos de forma artesanal apresentam ampla microbiota natural, principalmente quando produzidos a partir de leite cru. É importante realizar a caracterização microbiológica destes produtos a fim de compreender a dinâmica da ecologia microbiana durante a maturação, bem como caracterizar o produto advindo de locais específicos. Os resultados descrevem alguns valores acima dos aceitos na legislação, podendo indicar que as condições higiênico-sanitárias precisam ser revisadas. Por fim, o contínuo monitoramento do rebanho e da qualidade microbiológica dos queijos coloniais artesanais se faz necessário.

Tabela 01: Resultados das análises microbiológicas das amostras de queijo Colonial artesanal ao longo de 21 dias de maturação.

Análises	Amostras							
	CFd1	CFd7	CFd14	CFd21	RGd1	RGd7	RGd14	RGd21
Aeróbios mesófilos (log UFC/g)	7,92±0,60 ^{aA*}	8,01±0,39 ^{aA}	7,78±0,13 ^{aA}	7,83±0,24 ^{aA}	7,97±0,54 ^{aA}	7,82±0,45 ^{aA}	7,94±0,42 ^{aA}	7,87±0,13 ^{aA}
Bolores e Leveduras (log UFC/g)	5,10±0,02 ^{cB}	7,05±0,08 ^{bA}	7,77±0,10 ^{aA}	7,05±0,11 ^{bA}	5,52±0,05 ^{cA}	6,24±0,05 ^{bB}	6,56±0,11 ^{aB}	4,84±0,02 ^{dB}
Bactérias Ácido Láticas (log UFC/g)	8,56±0,05 ^{aA}	8,18±0,07 ^{aA}	7,86±0,16 ^{aA}	8,43±0,73 ^{aA}	8,49±0,18 ^{aA}	7,93±0,16 ^{abA}	7,67±0,19 ^{bA}	7,86±0,04 ^{bA}
Enterobactérias (log UFC/g)	4,26±0,17 ^{bB}	4,58±0,06 ^{bA}	5,15±0,00 ^{ab}	5,25±0,19 ^{aA}	6,25±0,01 ^{aA}	4,81±0,05 ^{cA}	5,46±0,00 ^{bA}	3,93±0,00 ^{dB}
E. coli (log UFC/g)	3,53±0,36 ^{bA}	4,33±0,07 ^{aA}	4,92±0,04 ^{aA}	4,53±0,04 ^{aA}	4,16±0,02 ^{aA}	3,68±0,13 ^{bB}	3,82±0,15 ^{abB}	<1,00±0,00 ^{cB}
Estafilococos coagulase + (log UFC/g)	3,37±0,47 ^{aA}	3,20±1,70 ^{aA}	<2,00±0,00 ^{aA}	3,12±1,58 ^{aA}	2,54±0,76 ^{aA}	<2,00±0,00 ^{aA}	<2,00±0,00 ^{aA}	2,17±0,24 ^{aA}
Salmonella spp. (25g)	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência
L. monocytogenes (25g)	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência
Toxina Estafilocócica	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo

*^{a-d} Médias seguidas da mesma letra minúscula na mesma linha não são significativamente diferentes ($p < 0,05$), em relação ao mesmo produtor (CF e RG).

^{A-B} Médias seguidas da mesma letra maiúscula na mesma linha não são significativamente diferentes ($p < 0,05$), em relação ao mesmo tempo de maturação (1, 7, 14 e 21 dias).

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

1. KAMIMURA, B. A.; MAGNANI, M.; LUCIANO, W. A.; CAMPAGNOLLO, F. B.; PIMENTEL, T. C. ALVARENGA, V. O.; PELEGRINO, B. O.; CRUZ, A. G.; SANT'ANA, A. S. Brazilian Artisanal Cheeses: An Overview of their Characteristics, Main Types and Regulatory Aspects. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 18, n. 5, p. 1636 – 1657, 2019.
2. CAMPOS, A. C. L. P.; PUÑO-SARMIENTO, J. J.; MEDEIROS, L. P.; GAZAL, L. E. S.; MALUTA, R. P.; NAVARRO, A.; KOBAYASHI, R. K. T.; FAGAN, E. P.; NAKAZATO, G. Virulence Genes and Antimicrobial Resistance in *Escherichia coli* from Cheese Made from Unpasteurized Milk in Brazil. **Foodborne Pathogens and Disease**, v. 15, n. 2, 2018.
3. GALLO, M.; FERRARA, L.; CALOGERO, A.; MONTESANO, D.; NAVIGLIO, D. Relationships between Food and diseases: What to know to ensure food safety. **Food Research International**, v. 137, 2020.
4. LOURENCO, A.; FRAGA-CORRAL, M.; DE COLLI, L.; MOLONEY, M.; DANAHER, M.; JORDAN, K. Determination of the presence of pathogens and anthelmintic drugs in raw milk and raw milk cheeses from small scale producers in Ireland. **LWT – Food Science and Technology**, n. 130, 2020.
5. SANT'ANNA, F. M. **Microbioma de queijo Minas artesanal da Serra do Salitre ao longo do período de maturação**. 2019. 127 f. Tese (Doutorado) – Curso de Ciência Animal, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, 2019.
6. BRASIL. Instrução Normativa – IN nº 161, de 01 de julho de 2022. Estabelece os padrões microbiológicos dos alimentos. **Diário Oficial da União** nº 126, de 06 de julho de 2022, seção 1, p. 235.
7. LIMA, K. P.; HAOACK, A.; FAVERO, D. M.; DALANHOL, K. C. F. Quantificação de aeróbios mesófilos presentes em amostras de carne bovina moída comercializadas em Palmas – PR. **Revista Mundi Meio Ambiente e Agrárias**, v. 3, n. 1, jan/jun., 2018.
8. BORELLI, B. M.; FERREIRA, E. G.; LACERDA, I. C.; FRANCO, G. R.; ROSA, C. A. Yeast populations associated with the artisanal cheese produced in the region of Serra da Canastra, Brazil. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, n. 22, 1115-1119, 2006.
9. SILVA, F. R.; SANTANA, C. M.; MELO, W. F.; TALABERA, G. G.; SARMENTO, W. E.; SOBRINHO, W. S.; SÁ, J. A.; MACHADO, A. V. Conservação e controle de qualidade de queijos: Revisão. **PubVet**, v. 11, n. 4, p. 333-341, 2017.
10. FREIRE, T. T.; TOLENTINO e SILVA, A. L.; FERREIRA, B. K. O.; SANTOS, T. M. Bactérias ácido lácticas suas características e importância: revisão. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 11, 2021.
11. BRASIL. Portaria MAPA – 146, de 07 de março de 1996. Aprova o regulamento técnico de identidade e qualidade dos produtos lácteos. **Diário Oficial da União**, n. 48, s. 1, de 11 de março de 1996.
12. SCHER, D. D.; LIMA, A. P. F.; FIGUEIRA, P. T.; HOSCHEID, J. Ocorrência de *Escherichia coli* e *Staphylococcus* sp. em queijos do tipo Minas Frescal comercializados em feiras livres e supermercados no Oeste do Paraná. **Brazilian Journal of Food Research**, v. 9, n. 4, p. 105-120, 2018.
13. SAEKI, E. K.; PEIXOTO, E. C. T. M.; MATSUMOTO, L. S.; MARCUSSO, P. F.; MONTEIRO, R. M. Mastite bovina por *Staphylococcus aureus*: sensibilidade às drogas antimicrobianas e ao extrato alcoólico de própolis. **Acta Veterinária Brasilica**, v. 5, n. 3, p. 284-290, 2011.
14. PRETTO, A. N.; RECK, C.; MENIN, A.; SANT'ANNA, V. Kinetic modeling of inactivation of foodborne bacterial pathogens in serrano artisanal cheese during ripening. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 24, e2019322, 2021.