

CONIC·SEMESP

13º Congresso Nacional de Iniciação Científica

Anais do Conic-Semesp. Volume 1, 2013 - Faculdade Anhanguera de Campinas - Unidade 3. ISSN 2357-8904

TÍTULO: PESQUISA DE MICROORGANISMOS INDICADORES DA QUALIDADE HIGIÊNICO-SANITÁRIA DE QUEIJOS TIPO MINAS FRESCAL

CATEGORIA: CONCLUÍDO

ÁREA: CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E SAÚDE

SUBÁREA: BIOMEDICINA

INSTITUIÇÃO: CENTRO UNIVERSITÁRIO GERALDO DI BIASE

AUTOR(ES): MATUZA DE SOUZA, ALINE CRISTINA C. C. DE ASSIS, MARIANA OLIVEIRA ANDRADE DA SILVA, THAISA MARA ROQUE RIBEIRO

ORIENTADOR(ES): GEISI FERREIRA MARINÉ OLIVEIRA

Realização:



Apoio:



RESUMO

AVALIAÇÃO DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE QUEIJOS TIPO MINAS FRESVAL COMERCIALIZADOS EM FEIRAS LIVRES NA REGIÃO DO MÉDIO PARAÍBA

O queijo Minas Frescal, de ampla aceitação e consumo no mercado brasileiro, possui características físico-químicas favoráveis ao crescimento de microrganismos podendo causar as chamadas Doenças Transmitidas por Alimentos (DTAs). Este trabalho objetivou avaliar a qualidade microbiológica de queijos Minas Frescal comercializados em feiras livres através da contagem de microrganismos mesófilos e da contagem de bolores e leveduras. Foram adquiridas 11 amostras de queijos dos Municípios de Valença, Barra do Piraí e Barra Mansa. As análises microbiológicas foram realizadas de acordo com a recomendação e exigências da RDC n. 12 de 2001 (ANVISA). Todas as amostras apresentavam-se fora dos padrões estabelecidos pela legislação. É provável que os alimentos tenham sido preparados a partir de leite cru; ou o processamento foi realizado sem as devidas condições higiênico-sanitárias, apresentando risco a saúde humana e sinalizando a necessidade de fiscalizações e educação aos produtores e comerciantes do município.

1. INTRODUÇÃO

Os alimentos de origem animal são amplamente utilizados na alimentação humana devido à riqueza em nutrientes, sendo uma das principais formas de fornecimento de proteína.

O leite e seus derivados configuram bons exemplos destes alimentos. Devido a principal característica de alto teor de umidade somada à presença de nutrientes como açúcares e aminoácidos, estes alimentos são perecíveis, ou seja, podem sofrer deterioração rapidamente se não conservados e manuseados adequadamente.

Os microrganismos, como as bactérias e os fungos são responsáveis por causar alterações dos alimentos a partir de seu desenvolvimento e da produção de toxinas como seus metabólitos secundários. A microbiologia alimentar estuda a

ocorrência e a importância do desenvolvimento destes microrganismos nos alimentos.

Uma vez contaminados por espécies patogênicas os alimentos podem ser um potente veículo de transmissão de doenças, configurando um grave problema de saúde pública. O queijo tipo Minas Frescal, de ampla aceitação e consumo no mercado brasileiro, possui características físico-químicas favoráveis ao crescimento de microrganismos podendo causar as chamadas Doenças Transmitidas por Alimentos (DTAs), desta forma torna-se relevante toda investigação que resulte no controle da qualidade deste alimento.

2. OBJETIVOS

Avaliar a qualidade higiênico-sanitária de queijos tipo Minas frescal comercializados em Feiras livres dos municípios de Valença, Barra do Piraí e Barra Mansa, no Estado do Rio de Janeiro, através de análises microbiológicas.

Associar os possíveis resultados, a partir de espécies de microrganismos patogênicos, a fatores de risco a saúde pública.

3. JUSTIFICATIVA

O queijo tipo Minas Frescal é um alimento que possui diversas características que podem favorecer o desenvolvimento de microrganismos patogênicos, levando a ocorrência de inúmeras doenças humanas através da sua ingestão, como as conhecidas Doenças Transmitidas por Alimentos (DTAs).

Microrganismos contaminantes de alimentos, como as bactérias enteropatogênicas, podem causar um quadro grave de desidratação a partir das alterações do metabolismo absorptivo do trato gastrointestinal (TGI). Desta forma ocorre a perda intensa de líquidos por vômitos e diarreias, somadas a ação de toxinas que, se não tratadas, podem levar o indivíduo ao óbito, principalmente considerando indivíduos mais suscetíveis como os idosos e as crianças, além dos portadores de síndromes que comprometam o sistema imunológico como Síndrome da Imunodeficiência Humana (SIDA ou AIDS).

As análises de alimentos destinados ao consumo humano buscam avaliar a qualidade higiênico-sanitária destes gêneros alimentícios objetivando a segurança alimentar através da redução dos riscos de contaminação e da educação e conscientização dos manipuladores dos alimentos.

Diante deste contexto e da escassez de dados científicos sobre os índices de contaminação dos queijos tipo Minas frescal comercializados na região do Médio Paraíba, se faz necessário avaliar a qualidade microbiológica destes, já que a ingestão deste alimento fora dos padrões de qualidade apresenta risco a saúde da população configurando, portanto, um problema de saúde pública.

4. METODOLOGIA

As análises microbiológicas foram realizadas de acordo com as recomendações e exigências da RDC n. 12 de 2001 - ANVISA (BRASIL, 2001). A metodologia para efetuar as análises microbiológicas baseou-se na Instrução Normativa n. 62 de 26 de agosto de 2003 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) que oficializa os métodos analíticos para análises microbiológicas para controle de produtos de origem animal (BRASIL, 2003).

4.1 Coleta de amostras :

Durante os meses de Maio a Agosto de 2013 foram adquiridas amostras mensais de 500 g de queijos Minas Frescal comercializados em feiras livres dos municípios de Valença, Barra do Piraí e Barra Mansa, no Estado do Rio de Janeiro; totalizando 11 amostras a serem analisadas; 04 amostras de Valença, 04 de Barra Mansa e 03 de Barra do Piraí.

As amostras imediatamente após serem adquiridas foram transportadas, em caixas isotérmicas, sob refrigeração, até o Laboratório de Microbiologia do Instituto de Ciências da Saúde do Centro Universitário Geraldo Di Biase, campus Barra do Piraí, para as subseqüentes análises.

4.2 Análises Microbiológicas

Para a realização das técnicas Contagem de bolores e leveduras e Contagem de microrganismos mesófilos, as amostras foram previamente preparadas e diluídas adicionando 225 mL de água destilada a 25 g das amostras; configurando a primeira diluição 10^{-1} e a partir desta, foram realizadas sucessivas diluições decimais até 10^{-5} .

A análise através da Contagem Padrão de microrganismos mesófilos baseia-se na semeadura da amostra ou de suas diluições em Ágar Padrão para Contagem (P.C.A.) seguida de incubação em temperatura de $36 \pm 1^\circ\text{C}$ por 24 e/ou 48 horas.

Após realizadas as diluições das amostras, foi semeado 0,1 mL de cada diluição selecionada em placas de Petri estéreis previamente preparadas contendo o meio de cultivo PCA. As amostras foram semeadas em duplicatas de cada diluição. O controle de possível contaminação foi realizado semeando 0,1 ml da água destilada utilizada para as diluições após serem semeadas as amostras.

A leitura foi realizada selecionando as placas de acordo com o critério de contagem de todas as colônias presentes e considerando as placas que continham entre 25 e 250 colônias. A partir dos dados obtidos, foram calculados o número de microrganismos presentes na amostra em análise, seguindo as instruções contidas no Anexo IV, "Procedimentos para contagem de colônias", do Manual Métodos Analíticos oficiais para análises microbiológicas para controle de produtos de origem animal e água (BRASIL, 2003). Os resultados foram expressos em UFC/g.

A segunda análise, Contagem de Bolores e Leveduras baseia-se na verificação da capacidade desses microrganismos se desenvolverem em meios de cultura com pH próximo a 3,5 e temperatura de incubação de $25 \pm 1^\circ\text{C}$. A utilização de meios acidificados a pH $3,5 \pm 0,1$ promove seletivamente o crescimento de fungos, inibindo a maioria das bactérias presentes no alimento. Foi utilizado Ágar batata glicose 2% acidificado com L(+) Ácido tartárico 10%. Os procedimentos para preparo da amostra e das placas foram os mesmos utilizados para a primeira análise. As placas foram incubadas, sem inverter, a $25 \pm 1^\circ\text{C}$, por 5 a 7 dias e para a realização das leituras foram selecionadas as placas que continham entre 15 e 150 colônias e expressos os resultados em UFC/g.

Os resultados obtidos foram confrontados com os limites padrões estabelecidos pela Resolução da Diretoria Colegiada - RDC nº 12 da ANVISA (BRASIL, 2001),

5. DESENVOLVIMENTO

O queijo é um dos produtos lácteos mais populares no Brasil e é produzido em larga escala e consumido em diversas refeições (CARVALHO et al, 2007; PINTO et al., 2008).

Diversas são as formas de produção de queijos obtendo produtos com maior ou menor índice de umidade, contendo diferentes sabores através do acréscimo de

temperos ou ainda através de métodos de maturação ou a adição de microrganismos não patogênicos.

Especificamente, a produção artesanal de queijos, apresenta além das relevantes questões sociais e econômicas, grande importância cultural. A extensão da fabricação em pequena escala ou caseira, pode ser superficialmente avaliada pela quantidade de queijos artesanais ou semi artesanais que se encontra a venda em feiras populares, em todo o país, quase sempre vendidos a fresco (LIMA, 2005).

A qualidade microbiológica dos queijos fabricados de maneira artesanal está relacionada a vários fatores, desde a qualidade de matéria-prima, que é influenciada pela sanidade do rebanho e higiene na obtenção do leite, até o tratamento térmico, higiene de equipamentos, armazenamento e distribuição (FAVA et al, 2012).

É de extrema relevância a realização de boas práticas da produção já que o consumo deste produto contaminado pode ser prejudicial à saúde causando várias patologias ao homem, as conhecidas Doenças Transmitidas por Alimentos (DTAs) (CARVALHO et al, 2007).

O grupo das bactérias mesófilas é constituído por espécies dos gêneros *Clostridium*, *Streptococcus*, *Corynebacterium*, *Bacillus* e ainda por alguns pertencentes a família Enterobacteriaceae; crescendo em temperaturas em torno de 35°C, apresentando variações. Este grupo constitui a principal microbiota contaminante encontrada no leite (PERRY, 2004). A contagem padrão em placa (P.C.A.) tem sido usada como indicador da qualidade higiênica dos alimentos, fornecendo também idéia sobre seu tempo útil de conservação (Silva et al., 2001).

Diversas pesquisas têm buscado demonstrar, através de análises de qualidade higiênico-sanitária, que o queijo produzido artesanalmente, necessita receber maior atenção tanto nos processos de fabricação quanto às questões de manipulação e conservação do produto.

Rossi et al. (2010) pesquisaram a qualidade microbiológica de queijos tipo Minas Frescal comercializados em supermercados da região Extremo-Oeste em Santa Catarina. Através das técnicas de análises de contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva, *Coliformes* termotolerantes e da presença de *Salmonella* sp. e *Listeria monocytogenes*, revelaram que 7% das amostras estavam fora dos padrões estabelecidos pela legislação, apresentando contaminação por coliformes termotolerantes. Não houve contaminação por *L. monocytogenes*, *Salmonella* sp. e *Staphylococcus* coagulase positiva.

Ferreira, et al. (2011) ao analisarem queijos fabricados artesanalmente no estado de Minas Gerais, em Uberlândia, verificaram que das 20 amostras analisadas, 70% apresentaram-se acima de 10^3 NMP/g para coliformes totais e 80% estavam acima de 10^2 NMP/g de coliformes termotolerantes. Segundo os autores, a presença de coliformes termotolerantes e totais em queijo Minas Frescal artesanal pode indicar contaminação dos utensílios e equipamentos e também falta de higiene dos manipuladores.

Fava, et al (2012) avaliando as características de queijos artesanais tipo colonial comercializados em uma feira agropecuária de Porto Alegre, Rio Grande do Sul, encontraram 5 amostras, de um total 12 amostras analisadas, contaminadas por *Staphylococcus spp* e coliformes totais apresentando-se inadequadas ao consumo segundo a legislação.

Em seus estudos, Martins e Reis (2012) investigando 40 amostras de queijo tipo Minas frescal oriundos da cidade de Frutal em Minas Gerais , observaram que 21 estavam fora do padrão estabelecido pela legislação para coliformes termotolerantes e ainda que 18 das amostras estavam contaminadas por *Staphylococcus spp*.

Um dos momentos críticos no processo de fabricação do queijo tipo Minas frescal apontado pelos pesquisadores é a fase de obtenção da matéria prima, o leite. Quanto mais higiênica esta fase, menor será o índice de contaminação microbiológica do alimento e conseqüentemente maior será a segurança oferecida ao consumidor.

A partir do estado sanitário do ambiente de ordenha, da vaca, do ordenhador, do equipamento utilizado e ainda das condições de transporte do leite é que haverão condições ideais para a contaminação e a multiplicação de bactérias mesófilas no leite e em seus derivados. A higiene constitui condição sem a qual a qualidade sanitária do leite, e conseqüentemente a produção de derivados, estará comprometida (CERQUEIRA E SENA, 1998).

Neste aspecto o modo de comercialização interferirá também na qualidade do alimento. O queijo Minas frescal é comercializado inclusive em feiras livres onde a refrigeração em muitos casos é inadequada, não atingindo a temperatura ideal para inibir o crescimento de microrganismos, ou até mesmo inexistente. As embalagens

também configuram outra fonte de risco de contaminação além da manipulação pelo comerciante que não higieniza as mãos periodicamente durante o seu trabalho.

Portanto, são diversos os fatores que influenciam na qualidade microbiológica do queijo tipo Minas frescal, importando além de pesquisas que possam demonstrar a presença de microrganismos patogênicos, a educação sanitária de produtores e comerciantes da região.

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Todas as amostras analisadas estavam impróprias ao consumo humano por apresentarem contaminação por microrganismos mesófilos superiores a 500 UFC/g ou $5,0 \times 10^2$ UFC/g, padrão estabelecido pela legislação vigente (BRASIL, 2001). Do total de 11 amostras analisadas, 6 delas apresentaram contaminação por bolores e leveduras. Os resultados das análises microbiológicas em amostras de queijos tipo Minas frescal, comercializados em feiras livres dos municípios estudados, estão demonstrados na Tabela 1.

A Portaria nº 146/1996 do MAPA contém Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade dos Produtos Lácteos onde apresenta, entre outros parâmetros a serem observados, os padrões microbiológicos para os queijos divididos em categorias. O limite máximo para a contagem de bolores e leveduras para o queijo de alto teor de umidade, como o tipo Frescal, é de $5,0 \times 10^3$ UFC/g, entretanto, a legislação vigente RDC nº 12/2001 da ANVISA não apresenta limites para bolores e leveduras neste alimento.

Tabela 1- Médias de microrganismos mesófilos, bolores e leveduras em queijos tipo Minas frescal, comercializados na região do Médio Paraíba, Estado do Rio de Janeiro, durante o ano de 2013.

Microrganismos/Amostra - Municípios	Valença	Barra do Pirai	Barra Mansa	Legislação (UFC/g)
Mesófilos (UFC/g)	$3,4 \times 10^3$	$1,5 \times 10^4$	$3,9 \times 10^6$	$5,0 \times 10^2$
	$4,0 \times 10^6$	$3,2 \times 10^6$	$9,0 \times 10^5$	
	$1,7 \times 10^5$	$1,0 \times 10^6$	$3,0 \times 10^4$	
	$3,5 \times 10^5$	_____	$8,0 \times 10^4$	
Bolores e leveduras (UFC/g)	$3,5 \times 10^6$	$3,5 \times 10^4$	$2,7 \times 10^3$	___
	$4,0 \times 10^2$	$7,0 \times 10^6$	$4,0 \times 10^4$	

Os resultados da presente pesquisa revelaram-se preocupantes quanto ao risco do consumo do alimento por parte da população corroborando dados encontrados em outras pesquisas. Entretanto, em sua grande maioria, as pesquisas não encontraram índices de 100% das amostras analisadas contaminadas e impróprias ao consumo como a atual pesquisa.

Martins e Reis (2012) ao analisarem amostras de queijo tipo Minas frescal da cidade de Frutal no estado de Minas Gerais, observaram que em torno de 50% estavam fora do padrão estabelecido pela legislação para *Staphylococcus* coagulase positiva e coliformes termotolerantes.

Em Porto Alegre, Fernandez et al. (2010), obtiveram 37,5% das amostras de queijos artesanais impróprios ao consumo. Loguercio e Aleixo (2001), ao analisarem queijos Minas Frescal comercializados em Cuiabá, destacaram 96,6% e 93,3% de amostras em desacordo com legislação, respectivamente para *Staphylococcus* coagulase positiva e coliformes termotolerantes (45°C).

Segundo Oliveira et al (2012) o fato de o queijo colonial ser elaborado a partir de leite cru e não sofrer processo de maturação, o torna um veículo importante de patógenos de origem alimentar, podendo oferecer riscos de toxi-infecções alimentares.

Considerando os microrganismos indicadores pesquisados, as bactérias mesófilas e fungos, Delamare et al. (2012) relatam que as altas populações destes grupos, revelam as precárias condições higiênico-sanitárias na produção, armazenagem, manipulação e/ou comercialização do produto, assim como a falta de pasteurização e controle de qualidade da matéria-prima, fornecendo também uma perspectiva para seu tempo de conservação.

Comparando os resultados da atual pesquisa com a bibliografia consultada, fica evidente a qualidade insatisfatória dos queijos de produção artesanal, como o queijo Tipo Minas Frescal. O fato de não haver a inspeção sanitária aos locais de fabricação assim como não serem realizadas as instruções adequadas aos pequenos produtores quanto a necessidade de cuidados higiênicos em todas as etapas da produção, inclusive desde a obtenção do leite, provavelmente permita a contaminação dos queijos por microrganismos indesejáveis em altos níveis como o encontrado no presente estudo.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados obtidos através deste estudo indicam o risco ao consumo do alimento e sinaliza a necessidade de atividades educativas, e também, fiscalizações junto aos produtores e comerciantes dos municípios, objetivando maior controle higiênico sanitário do queijo tipo Minas Frescal. Além de demonstrar ser imprescindível a continuidade das pesquisas na região.

8. FONTES CONSULTADAS

BRASIL. Instrução Normativa n. 62, de 26 de agosto de 2003. Oficializa os métodos analíticos oficiais para análises microbiológicas para controle de produtos de origem animal e água. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 18 set. 2003.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Resolução RDC nº. 12, de 2 de janeiro de 2001. Regulamento técnico sobre os padrões microbiológicos para alimentos. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 10 jan. 2001. Seção 1, p. 45-53.

CARVALHO, J. D. G.; VIOTTO, W. H.; KUAYE, A. Y. The quality of Minas Frescal cheese produced by different technological process. **Food Control**, v. 18, p. 262-267, 2007.

CERQUEIRA MMOP, SENA MJ. Produção higiênica e fatores determinantes da qualidade do leite. *Cienc Vet Trop.* 1:115-34. 1998;

DELAMARE, A. P. L.; ANDRADE, C. C. P.; MANDELLI, F.; ALMEIDA, R. C.; ECHEVERRIGARAY, S. Microbiological, physico-chemical and sensorial characteristics of Serrano, an artisanal Brazilian cheese. **Food and Nutrition Sciences**, Campinas, v.3, n.8, p.1068-1075, 2012.

E. S. Martins; N. E. V. Reis Determinação de coliformes e staphylococcus coagulase positiva em queijo minas frescal, **REVISTA BRASILEIRA DE TECNOLOGIA AGROINDUSTRIAL**, Paraná, v. 06, n. 02: p. 842- 851, 2012.

FAVA L . W . , HERNANDES, J . F . M . , PINTO, A . T . Características de queijos artesanais tipo colonial comercializados em uma feira agropecuária. **Acta Scientiae Veterinariae.** 40(4): 1084. 2012.

FERNANDEZ, V. N. V. **Avaliação da qualidade do leite e de queijos produzidos pela agricultura familiar, em sistemas de produção ecológico e convencional no leste do Rio Grande do Sul.** 2010. 99 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2010.

FERREIRA, R.M. et al. Quantificação de coliformes totais e termotolerantes em queijo Minas Frescal artesanal. **PUBVET**, Londrina, V. 5, N. 5, Ed. 152, Art. 1022, 2011.

LIMA, Carla Daniela de Las Casas. **Avaliação microbiológica e química do queijo minas artesanal da Serra do Salitre-MG**. 2005.138f. Tese (Doutorado em Microbiologia do Instituto de Ciências biológicas) – Universidade Federal de Minas Gerais.

LOGUERCIO, A. P.; ALEIXO, J. A. G. Microbiologia de queijo tipo Minas Frescal produzido artesanalmente. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.31, n.6, p.1063-1067, 2001.

OLIVEIRA, D. F.; BRAVO, C. E. C., TONIAL, I. B. Sazonalidade como fator interferente na composição físico-química e avaliação microbiológica de queijos coloniais. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v.64, n.2, p.521-523, 2012.

PERRY, K. S. P. Queijos: aspectos químicos, bioquímicos e microbiológicos. **Química Nova**. São Paulo, v.27, n.2, p.293-300, 2004.

Silva, N.; Junqueira, V.C.A.; Silveira, N.F.A. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. São Paulo: Varela, 2001, 290p.

PINTO M .P, CARDOSO, M. Avaliação da eficácia de dois protocolos de higienização em áreas de produção de alimentos de um supermercado. **Hig. Aliment**. v.22, n.6, p. 106-111, 2008.

ROSSI, E. M.; ZILLI, D.; SCAPIN, D.; ROZA-GOMES, M. F.; GELINSKI, J. M. L. N. Avaliação da qualidade microbiológica de queijos Minas Frescal comercializados em supermercados da região Extremo-Oeste de Santa Catarina, Brasil. **Evidência**, Joaçaba, v. 10, n. 1-2, p. 105-114, 2010.