

## Avaliação da qualidade microbiológica de queijos do tipo Minas padrão de produção industrial, artesanal e informal

### Microbiological evaluation of Minas type cheeses from industrial, artisanal and informal manufacturing

RIALA6/1628

Amanda Laryssa Borges do Carmo AMORIM, Emanuel Pereira COUTO, Angêla Patrícia SANTANA, Jaqueline Lamounier RIBEIRO, Márcia de Aguiar FERREIRA\*

\*Endereço para correspondência: Laboratório de Análises de Leite e Derivados, Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Brasília, Campus Universitário Darcy Ribeiro, Brasília, Brasil, CEP 70910-900. Tel.: (61)3107-7226. E-mail: mafer@unb.br

Recebido: 05.09.2014 - Aceito para publicação: 13.11.2014

#### RESUMO

Os objetivos deste estudo foram de avaliar a qualidade microbiológica de queijos do tipo Minas padrão, produzidos de forma industrial com inspeção federal, artesanal com inspeções estadual e municipal (a partir de leite não pasteurizado) e informal (produção caseira), bem como de analisar os hábitos de consumo desse tipo de queijo no Distrito Federal, Brasil. As amostras (n = 21) foram submetidas a análises para a pesquisa de coliformes a 30 °C e 45 °C, *Staphylococcus coagulase* positiva, *Listeria monocytogenes* e *Salmonella* spp. Os resultados foram avaliados de acordo com a RDC 12/2001 da ANVISA; 57,14 % das amostras de queijos industriais, 100 % das informais e 100 % das artesanais estavam em desacordo quanto às contagens de *Staphylococcus coagulase* positiva. As contagens de coliformes a 45 °C estavam em desacordo em 71,42 % das amostras de queijos informais e 14,28 % das industrializadas e artesanais. Nenhuma amostra foi positiva para *L. monocytogenes* ou *Salmonella* spp. Um questionário simplificado sobre o consumo de queijo Minas foi aplicado a 50 pessoas no momento da compra e houve indicação de 47 % de preferência ao sabor de queijos informais. Em virtude destes queijos não serem inspecionados e não seguirem padrões de produção, representam um risco à saúde pública.

**Palavras-chave.** coliformes, *Staphylococcus coagulase* positiva, *Listeria* spp.

#### ABSTRACT

This study aimed at evaluating the microbiological quality of Minas type cheeses, manufactured in industrial scale under federal inspection, artisanal production (from unpasteurized milk) under state and municipal inspections and informal (home production). Also the Minas type cheeses consumption habits among the population of Distrito Federal, Brazil were assessed. Microbiological quality was evaluated in 21 samples by performing the following analyses: coliforms counts at 30 °C and 45 °C, enumeration of coagulase-positive *Staphylococcus* and detection of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* spp. According to the RDC 12/2001 from ANVISA, 57.14 % of industrial, 100 % of informal and 100 % of artisanal samples were noncompliant in the coagulase-positive *Staphylococcus* counts. In addition, 71.42 % of informal samples and 14.28 % of artisanal and informal cheeses showed coliforms counts at 45 °C above the permitted one. No sample was positive for *L. monocytogenes* and *Salmonella* spp. A simplified questionnaire regarding Minas cheese consumption was applied to 50 persons at purchase time, and 47 % of the interviewees preferred the taste of informal cheeses. Nevertheless, the informal cheeses are not inspected and do not follow the production standards; therefore they represent a risk to the public health.

**Keywords.** coliforms, coagulase-positive *Staphylococcus*, *Listeria* spp.

## INTRODUÇÃO

Os queijos são, em geral, produtos muito manipulados e, por este motivo, passíveis de contaminação, especialmente de origem microbiológica. O consumo de queijos contaminados pode ocasionar diversas doenças de origem alimentar, desde zoonoses (brucelose, tuberculose) até intoxicações alimentares. Queijos produzidos a partir de leite cru, ou produzidos em condições de higiene insatisfatórias, podem se tornar impróprios para o consumo<sup>1</sup>.

Dentre os queijos mais produzidos no Brasil, está o queijo tipo Minas e suas variedades mais importantes: frescal e padrão. Os queijos tipo Minas padrão industrializados são elaborados a partir de leite pasteurizado, em indústria laticinista, com serviço de inspeção, e devem atender aos requisitos de qualidade e identidade, estabelecidos pela Portaria No. 146, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA<sup>2</sup>; os queijos artesanais são produzidos a partir de leite cru, em queijarias<sup>3</sup> e devem atender aos padrões estabelecidos pela Lei 20.549, de Dezembro de 2012, de âmbito do estado de Minas Gerais<sup>4</sup>; e os queijos ditos informais, não passam por controle de qualidade, não são inspecionados e geralmente são comercializados em feiras ou por ambulantes, sem os cuidados necessários na produção e conservação.

Pesquisas demonstram problemas na qualidade desses tipos de queijos, constatando altos níveis de contaminação microbiana, geralmente atribuídas à manipulação excessiva, à falta de boas práticas, ao alto teor de umidade que favorece o desenvolvimento de micro-organismos indesejáveis e à forma de produção, entre outras causas<sup>5,6</sup>.

São escassos os dados sobre a qualidade higiênica e sanitária de queijo tipo Minas padrão proveniente de diferentes formas de produção (industriais, informais e artesanais) na região do Distrito Federal. Assim, a presente pesquisa teve como objetivo avaliar a qualidade microbiológica desse tipo de queijo comercializado na região e identificar as preferências dos consumidores.-

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram coletadas 21 amostras de queijo tipo Minas padrão (sete de fabricação industrial, sete de produção informal e sete artesanais) em supermercados, feiras permanentes, padarias e lojas especializadas do Distrito

Federal, sendo mantidas refrigeradas e transportadas para o Laboratório de Análises de Leite e Derivados, da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, da Universidade de Brasília (FAV/UnB).

As amostras foram semeadas para contagem de Coliformes Totais (CT), Coliformes Termotolerantes (CTt) e *Staphylococcus* coagulase positiva, conforme preconizado pela Instrução Normativa No. 62 de 2003, do MAPA<sup>7</sup>. Para a detecção de *Salmonella* spp., a metodologia empregada foi a descrita por Wehr e Frank<sup>8</sup>. Na pesquisa de *Listeria monocytogenes*, inicialmente utilizou-se o método BAM/FDA contido em Silva et al<sup>9</sup>, até a fase de plaqueamento seletivo diferencial em Palcam *Listeria* Selective Agar, para isolamento das colônias suspeitas e típicas; a identificação foi realizada por técnica de PCR (Polimerase Chain Reaction), segundo o protocolo proposto por Kérouanton et al<sup>10</sup>, no Laboratório de Microbiologia de Alimentos da FAV/UnB. Os *primers* utilizados foram os descritos abaixo, sendo que o surgimento de bandas de 274 pb e 370 pb indicava amostras positivas para *Listeria monocytogenes* e de banda de 370 pb indicava amostra positiva para *Listeria* spp.

LIP1	5'-GATACAGAAACATCG- GTTGGC-3'	274 bp (gene flagelina L.
LIP2A	5'-GTGTAATCTTGATGC- CATCAGG-3'	monocytogenes)
Prs-F	5'-GCTGAAGAGATTGC- GAAAGAAG-3'	370 bp ( <i>Listeria</i> sp.) fosforibosil-
Prs-R	5'-CAAAGAAACCTTG- GATTTGCGG-3'	pirofosfato sintetase

Sendo gene *Lip* específico para *Listeria monocytogenes* e o gene *prs* comum ao gênero *Listeria*.

Ainda, foi realizada uma pesquisa de campo na qual foram entrevistados 50 consumidores (25 homens e 25 mulheres) por meio de um questionário simplificado, no qual, além de dados de identificação (sexo e idade), constavam questões que abordavam: o hábito de consumir queijos do tipo Minas padrão; se afirmativo, com que frequência (diária, semanal, mensal); forma de aquisição do produto (mercados, feiras, ambulantes, outros); opinião sobre qual tipo considerava mais saboroso; e, conhecimento sobre diferenças de produção

entre queijos industrializados, artesanais e informais. As entrevistas foram realizadas nos estabelecimentos em que foram coletadas as amostras de queijos.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram adotados os critérios microbiológicos estabelecidos para queijos de alta umidade, referentes a amostras indicativas, com base no anexo I da RDC N.º 12/2001<sup>11</sup> e descritos abaixo.

Coliformes 45 ° C (NMP/g).....	5,0 x 10 <sup>3</sup>
<i>Staphylococcus</i> coagulase positiva (UFC/g).....	1,0 x 10 <sup>3</sup>
<i>Listeria</i> spp./25g.....	ausência
<i>Salmonella</i> spp./25g.....	ausência

Extraído da RDC No. 12/2001 da ANVISA

Essa resolução não estabelece critérios para enumeração de CT nesse tipo de queijo, entretanto esses micro-organismos quando presentes em altas contagens indicam condições de higiene insatisfatórias na fabricação, falhas no beneficiamento da matéria prima e/ ou recontaminação. Com relação aos CT, observou-se que 17 amostras (81 %) apresentaram contagens que variaram de 23 a 1,1 x 10<sup>4</sup> NMP/g, sendo que em 11 (52,3 %) as contagens foram maiores ou iguais que 1,1 x 10<sup>3</sup> NMP/g (uma de queijo industrializado, cinco de artesanais e cinco de informais). Brant et al<sup>12</sup> analisaram 40 amostras de queijo Minas artesanal do Serro e constataram que 80 % das amostras apresentaram coliformes a 35 °C acima de 5x10<sup>3</sup> NMP/g.

Os resultados das análises de queijo tipo Minas padrão industrializado demonstraram uma amostra (14,28 %) com contagem de CTt acima do estabelecido. Esses micro-organismos são indicadores de provável contaminação de origem fecal em alimentos, sendo *E. coli* a principal bactéria indicadora deste tipo de contaminação e, sua presença em altas contagens pode representar risco à saúde dos consumidores<sup>13</sup>. Quatro amostras (57,14 %) apresentaram contagens de *Staphylococcus* coagulase positiva iguais ou maiores do que 5,0 x 10<sup>3</sup> UFC/g, portanto, em desacordo com a legislação vigente; que podem indicar manipulação excessiva e inadequada, além de representar risco potencial pela possibilidade de serem *S. aureus* enterotoxigênicos. Nenhuma amostra apresentou desenvolvimento de *L. monocytogenes* ou de

*Salmonella* spp.

Nos resultados obtidos nas análises de amostras de queijos tipo Minas padrão artesanais, observou-se: uma amostra (14,28 %) com enumeração de CTt de 3,0 x 10<sup>4</sup> NMP/g; 100 % em desacordo com o limite estabelecido para *Staphylococcus* coagulase positiva sendo que as contagens variaram de 3,1 x 10<sup>3</sup> UFC/g a 4,7 x 10<sup>5</sup> UFC/g; também nessas amostras, não foram detectadas a presença de *L. monocytogenes* ou de *Salmonella* spp.

O queijo tipo Minas padrão artesanal é produzido a partir de leite cru, ou seja, sem passar por tratamento térmico, sendo que sua produção consiste em uma atividade tradicional em vários municípios mineiros, além de uma importante atividade geradora de renda. O governo estadual de Minas Gerais, no intuito de resguardar a produção artesanal do queijo Minas, elaborou e publicou a Lei n.º 14.185, de 31 de janeiro de 2002, que dispõe sobre o processo de produção do queijo Minas artesanal e definiu normas de fabricação, de embalagem e de transporte do queijo artesanal, além da obrigatoriedade de certificação de qualidade dos produtores e o cadastramento oficial das queijarias<sup>5</sup>.

O fermento utilizado é o “pingo”, que é retirado na segunda etapa da cura, após a salga. Dentre os micro-organismos que podem estar presentes no “pingo” estão *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Enterococcus*, e *Streptococcus*. Entretanto, a microbiota existente nesse soro utilizado como fermento, por ser extremamente variável, pode conter inclusive, diversos micro-organismos patogênicos como *Streptococcus agalactiae* e leveduras, além de diversos deteriorantes<sup>12,14</sup>.

Nos resultados obtidos nas análises das amostras de queijos tipo Minas padrão provenientes de produção informal, observou-se que cinco amostras (71,42 %) apresentaram contagens de CTt acima do estabelecido pela legislação que, variaram de 3,0 x 10<sup>4</sup> NMP/g a 1,6 x 10<sup>5</sup> NMP/g; 100 % das amostras apresentaram elevadas contagens de *Staphylococcus* coagulase positivas que, variaram de 2,5 x 10<sup>6</sup> UFC/g a 1,75 x 10<sup>7</sup> UFC/g. Assim como nas amostras de queijos tipo Minas padrão de fabricação industrial e artesanal, não foram detectadas as presenças de *Salmonella* spp. ou de *L. monocytogenes* nas amostras de queijo provenientes de fabricação informal. Geralmente, o leite utilizado na fabricação de queijos informais (tanto frescal, quanto padrão) não passa por nenhum processo que vise eliminar sujidades ou contaminações, e a manipulação é excessiva e por vezes realizada por pessoas sem nenhum conhecimento e/ou cuidado de higiene. O momento da ordenha também

pode ser um importante ponto de contaminação, uma vez que, provavelmente, não há a adequada higienização dos tetos dos animais antes do procedimento.

Na pesquisa realizada para identificar o perfil dos consumidores e, as principais motivações para a aquisição dos diferentes tipos de queijos avaliados, a maioria dos entrevistados (55 %) relatou ter o hábito de consumir queijo diariamente, 38 % semanalmente, 7 % raramente ou não consumiam; 61,70 % alegaram comprar os produtos industrializados em mercados, entretanto destes, 47 % afirmaram preferir o sabor dos informais adquiridos em feiras ou de ambulantes. O queijo tipo Minas padrão informal foi considerado o mais saboroso pela maioria dos entrevistados (68 %), o que demonstra que as condições em que é comercializado não é fator condicionante para o consumidor deixar de comprar esse tipo de produto. Apenas três entrevistados declararam conhecer a diferença entre queijos artesanais e informais.

No momento dessa pesquisa, os queijos artesanais comercializados no DF apresentaram o maior custo por Kg (média de R\$ 28,00), sendo o seu comércio restrito a lojas especializadas. Entretanto, verificou-se que eram procedentes de outros estados, e com carimbo de inspeção estadual (SIE) ou de inspeção municipal (SIM), ou seja, sua comercialização no DF é irregular. Os preços médios, por kg, dos queijos industrializados e informais, foram de R\$ 27,00 e R\$ 15,00, respectivamente.

## CONCLUSÃO

Os resultados obtidos permitem concluir que o queijo tipo Minas padrão industrializado, comercializado no Distrito Federal, apresenta melhor qualidade higiênica e sanitária, quando comparado com os de fabricação artesanal e os informais. Estes dois últimos apresentaram 100 % das amostras impróprias para o consumo em um ou mais critérios microbiológicos, indicando condições insatisfatórias de produção e/ou comercialização.

A pesquisa realizada com consumidores indicou que a maioria prefere o sabor dos queijos informais comercializados em feiras e desconhece a procedência e o risco associado a esses produtos. Considera-se importante que os órgãos de fiscalização adotem medidas que informem e conscientizem os produtores, os comerciantes e os consumidores de forma a coibir a comercialização de produtos que possam representar riscos à saúde pública.

## REFERÊNCIAS

1. Leite BM. Aspectos epidemiológicos e econômicos da certificação de propriedades leiteiras como livres de brucelose e tuberculose bovina [dissertação de mestrado]. Brasília (DF): Universidade de Brasília; 2012.
2. Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA. Portaria nº 146 de 07 de março de 1996. Aprova os Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade dos Produtos Lácteos. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil. Brasília, 11 mar.1996. Seção 1,nº48.p.3977-8.
3. Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA. Resolução No. 7, de 28 de novembro de 2000. Critérios de Funcionamento e de Controle da Produção de Queijarias. Seção 1,nº1.p.78-80.
4. Minas Gerais. Lei nº 20549, de 18 de dezembro de 2012. Dispõe sobre a produção e a comercialização dos queijos Artesanais de Minas Gerais. Diário do Executivo, 19 de dez. de 2012.
5. Resende MFS. Queijo Minas artesanal da Serra da Canastra: influência da altitude e do nível de cadastramento das queijarias nas características físico-químicas e microbiológicas. [dissertação de mestrado]. Belo Horizonte (MG) Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais;2010.
6. Zocche F, Bastos CP, Bassani MT, França RC, Lima AS, Silva WP. Estafilococos coagulase positiva em queijos Minas Frescal e Minas Padrão comercializados em Pelotas, Rio Grande do Sul. Bol CPPA. 2012;30(1):119-24.
7. Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA. Instrução Normativa nº 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 de set.2003. Seção 1,nº181.p.14-22.
8. Wher HM, Frank JF. Standard methods for the examination of dairy products. American Public Health Association, 17<sup>th</sup> ed., Washington;2004.
9. Silva N, Junqueira VCA, Silveira NFA, Taniwaki MH, Santos RFS, Gomes RAR. Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos, 3<sup>a</sup> ed., São Paulo: Livraria Varela; 2007.552p.
10. Kérouanton A, Laetitia P, Groul J, Tam Dao T, Brisabois A. Evaluation of a multiplex PCR assay as an alternative method for *Listeria monocytogenes* serotyping. J Microbiol Meth. 2010;80(2):134-7.
11. Brasil. Resolução RDC nº 12 de 2 de janeiro de 2001 da ANVISA do Ministério da Saúde. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Poder Executivo, Brasília, DF, 10 jan. 2001. Seção 1, nº 59, p.45-53.
12. Brant LMF, Fonseca LM, Silva MCC. Avaliação da qualidade microbiológica do queijo-de-minas artesanal do Serro-MG. Arq Bras Med Vet Zootec. 2007;59(6):1570-4.
13. Franco BDGM, Landgraf M. Microbiologia dos Alimentos. São Paulo: Editora Atheneu,2005.182p.
14. Lima CDLC, Lima LA, Cerqueira MMOP, Ferreira EG, Rosa CA. Bactérias do ácido láctico e leveduras associadas com o queijo-de-minas artesanal produzido na região da Serra do Salitre, Minas Gerais. Arq Bras Med Vet Zootec. 2009;61(1):266-72.