Área de Publicação: Controle de qualidade na indústria de alimentos

PESQUISA DE MICRORGANISMOS INDICADORES E DE PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS EM QUEIJOS DE COALHO

Ana Flavia Santos Coelho[1]; Adailton Feliciano da Silva[2]
[1, 2]Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal da Paraíba, Campus Universitário I, Castelo Branco, CEP: 58051-970, Joao Pessoa.
E-mail do autor correspondente: anaflaviascoelho@gmail.com

RESUMO:
O controle de qualidade de queijos vai muito além de apenas, textura, sabor e aroma, pois alimentos sofrem deterioração de origem química e biológica, por meio da ação de microrganismos que fermentam o alimento, produzindo flavores e características indesejáveis. Isso pode ser acelerado quando o processo de fabricação e o armazenamento são inadequados. Desta maneira, este trabalho teve como objetivo pesquisar microrganismos do grupo coliformes e mesófilos em amostras de queijo de coalho e verificar parâmetros físico-químicos que pudessem influenciar no crescimento microbiano. Os resultados foram comparados com os padrões exigidos pela legislação e também com trabalhos publicados. Metade das amostras analisadas foi de origem artesanal e a outra metade industrializada. Foi constada falha no armazenamento do alimento, que deveria ser refrigerado para todas as amostras. Os valores encontrados para microrganismos mesófilos variaram de $2{,}0x10^3$ a $1{,}5x10^8$ UFC/g, os valores de NMP/g para coliformes termotolerantes variaram de <0,3 a >1100. Esses resultados indicam que o alimento possa estar deteriorando e também apresenta problemas relacionados às suas condições higiênico sanitárias. Os resultados dos parâmetros físico-químicos mostraram o favorecimento ao crescimento principalmente de bactérias. Assim, pode-se constatar a maioria das amostras analisadas estava inadequada ao consumo.

PALAVRAS–CHAVE: coliformes; controle de qualidade; queijo de coalho; parâmetros físico-químicos.

INTRODUÇÃO

O queijo de coalho é um alimento que faz parte da dieta dos brasileiros, principalmente na região Nordeste onde é produzido, em sua maioria, de maneira artesanal e possui grande valor cultural (CAVALCANTE, 2005).

A Instrução Normativa nº 30 define queijo de coalho como o "queijo que se obtém por coagulação do leite por meio do coalho ou outras enzimas coagulantes apropriadas, complementada ou não pela ação de bactérias lácteas selecionadas, e comercializado normalmente com até 10 (dez) dias de fabricação (BRASIL, 2001).

O processo de fabricação do queijo de coalho segue as seguintes etapas: recepção do leite, pasteurização, adição de fermento, cloreto de cálcio e coalho, coagulação, corte, mexedora, cozimento, salga, enformagem, prensagem e viragem, maturação e embalagem (NASSU *et al*., 2006).

Galoá { Este trabalho foi publicado utilizando o **Galoá** proceedings

Embora este queijo seja considerado um patrimônio cultural da região Nordeste, tornando-se uma referência em fonte de renda para pequenos agricultores, faltam dados que ilustrem a sua contribuição econômica nos municípios onde são produzidos (MENEZES, 2011).

A informalidade nos comércios municipais gera uma série de dificuldades e consequências no que tange a regulamentação e controle de qualidade de queijos produzidos em queijarias artesanais, pois a maioria dos produtores não dispõem de conhecimento acerca das normas das Boas Práticas de Fabricação (BPF) e, como essa produção é caracterizada como agricultura familiar, existe uma dificuldade financeira para esses produtores se encaixem nos padrões de grandes empresas já consolidadas no mercado. Desta maneira, os consumidores correm um risco grande de adquirir um produto de baixa qualidade e estado higiênico sanitário comprometido (CAVALCANTE, 2005).

Analises físico-químicas e microbiológicas revelam a qualidade do queijo de coalho. Parâmetros físico-químicos como pH, acidez e atividade de água mostram a provável microbiota que estará presente nesse alimento e influenciam o seu metabolismo. Além disso, dado que a matéria prima para produção do queijo de coalho é o leite, os nutrientes como açúcares, gorduras, proteínas também são importantes para manutenção dessa microbiota. Neste aspecto, uma matéria prima de boa qualidade, com baixa contaminação microbiológica, contribuirá para a obtenção de um queijo também de boa qualidade.

Porém, em pequenas queijarias é comum a fabricação do queijo de coalho utilizando o leite cru, como justificativa de que o tratamento térmico da pasteurização promove a perda das características desejadas e do valor regional do produto, pois o leite ao ser aquecido perde a sua microbiota característica, que gera a perda das características únicas do produto final.

Quanto às conformidades microbiológicas, a legislação refere-se ao queijo de coalho, como queijo de umidade média, em que devem ser feitas contagens dos seguintes microrganismos: coliformes a 45°C, *Staphylococcus aureus, Salmonella sp* e a *L. monocytogenes*, sendo os três últimos microrganismos patogênicos, comprometendo a saúde do consumidor (BRASIL, 2001).

Assim sendo, este trabalho teve como objetivo avaliar a qualidade dos queijos tipo coalho, coletados em pontos de venda na grande João Pessoa/PB e Pedras de Fogo/PB, por meio de analises microbiológicas e físico-químicas.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram coletadas 12 amostras do queijo de coalho, obtidas no comercio de João Pessoa-PB e Pedras de Fogo-PB e, quando possível, anotadas as informações sobre as mesmas (lote, fabricação e validade). Todas as amostras coletadas estavam dentro do prazo de validade e, após a coleta, foram transportadas para o Laboratório de Microbiologia Industrial, em caixa térmica, para realização das análises.

Preparo da amostra

Após a desinfecção da embalagem, as amostras foram trituradas e homogeneizadas, sendo então pesados 25g para compor a unidade analítica. Foi realizada a diluição decimal seriada, em que os 25g da amostra foram incorporados em 225ml de água

Galoá { Este trabalho foi publicado utilizando o **Galoá** proceedings

peptonada 0,1% esterilizada. Essa solução amostra + água peptonada constituiu a primeira diluição seriada da amostra (10^{-1}), sendo a partir desta transferida uma alíquota de 1ml e adicionada a outros 9ml de água peptonada 0,1%, formando a segunda diluição (10^{-2}). Este procedimento foi realizado até obtenção da diluição 10^{-5}.

Análises microbiológicas

Contagem de microrganismos aeróbios mesófilos

A contagem de microrganismos aeróbios mesófilos foi feita por plaqueamento em superfície inoculando-se 0,1ml de amostra em placas de Petri contendo Agar Padrão para Contagem. Posteriormente as placas foram incubadas a 35ºC por 24 horas. O resultado foi expresso em número de Unidades Formadoras de Colônias (UFC/g) (SILVA *et al.,* 2010).

Pesquisa de coliformes totais e termotolerantes

A pesquisa de coliformes totais e termotolerantes foi realizada por meio da técnica de tubos múltiplos. Foram utilizadas as diluições da amostra 10^{-1}, 10^{-2} e 10^{-3}. Primeiramente foi feito o teste presuntivo, em que para cada diluição foram retiradas alíquotas de 1ml, que foram transferidas para 3 tubos contendo Caldo Lauril Sulfato Triptose (LST) contendo tubo de Durham invertido. Posteriormente, os tubos foram incubados a 35°C/24-48 horas. Quando resultado positivo (turvação do meio e produção de gás no tudo de Durham), foi realizado o teste confirmativo. Para este teste, de cada tubo de LST positivo foi transferida uma alçada para um tubo contendo Caldo Verde Brilhante (VB), para análise de coliformes totais e caldo E coli (EC) para coliformes termotolerantes. Os tubos de VB e EC foram incubados a 35º por 24-48horas e em banho maria a 44,5-45ºC por 24-48horas, respectivamente. A contagem foi feita utilizando a tabela do Número Mais Provável (NMP) (SILVA *et al.,* 2010).

Análises físico-químicas

Determinação do pH

O pH foi determinado em 3 pontos da amostra homogeneizada utilizando um potenciômetro, marca MARCONI®. O resultado considerado foi a média dos valores encontrados (IAL, 1985).

Acidez total titulavel

Para cada amostra foi pesado cerca de 10 g de queijo e diluído em e álcool etílico 95% até completar o volume de 100 ml de solução, a mesma foi reservada ficando em repouso durante 6 horas. Posteriormente, filtrou-se a amostra e uma alíquota pesada e titulada com uma solução hidróxido de sódio padronizado (0,1mol/L), a porcentagem em massa/massa foi calculada de acordo com a equação abaixo. As análises foram feitas em duplicata (IAL, 1985).

$$teor\ de\ AL = \frac{V * f * 0{,}9}{A} \quad (2)$$

Galoá { Este trabalho foi publicado utilizando o **Galoá** proceedings

Em que: V = volume gasto de solução NaOH em ml; f = fator de correção da solução usada; 0,9 = fator de correção do ácido lático; A = Peso da alíquota em gramas

Atividade de água

A atividade de água foi determinada por meio do analisador de atividade de água, marca NOVASINA®, utilizando com temperatura padrão 25C°.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Tabela 1 apresenta a identificação das amostras utilizadas no estudo quanto a procedência, tipo de embalagem e armazenamento. As amostras foram codificadas por meio de números, que seguem a sequência cronológica de obtenção das mesmas.

Tabela 1: Identificação das amostras de queijo de coalho utilizadas no estudo.

N° da amostra	Procedência	Embalagem	Refrigeração
1	Industrial	Não original	Sim
2	Industrial	Original	Sim
3	Artesanal	Não original	Não
4	Artesanal	Não original	Sim
5	Industrial	Não original	Sim
6	Artesanal	Não original	Sim
7	Industrial	Original	Não
8	Artesanal	Não original	Sim
9	Industrial	Original	Sim
10	Industrial	Não original	Não
11	Artesanal	Sem embalagem	Não
12	Artesanal	Não original	Sim

Os dados revelaram que a maioria das amostras coletadas não estava em sua embalagem original, mesmo sendo de procedência industrial. Este fato pode contribuir para contaminação microbiológica, tanto de microrganismos deteriorantes como patogênicos. Pode-se constatar também que 67% das amostras seguiam os padrões de armazenamento previstos na Instrução Normativa nº 30, que regula os padrões técnicos e característicos de produtos laticínios, em que os produtos devem ser armazenados em refrigeração (BRASIL, 2001). O armazenamento em temperatura inadequada pode acelerar as transformações químicas e o crescimento de microrganismos indesejáveis, reduzindo a vida de prateleira do alimento.

A Tabela 2 apresenta os resultados das análises físico-químicas realizadas (pH, acidez total titulavel e atividade de água).

Os parâmetros físico-químicos analisados não têm padrões na legislação, porém, seus valores podem representar características inerentes ao processo de fabricação do queijo. Os valores de pH variaram de 5,00 até 6,25, essa variação mostra que diferentes singularidades no processo podem ser encontradas, já que o pH interfere na textura e nas reações enzimáticas de maturação do queijo (SOUSA *et al.*, 2014). Além disso, favorece o crescimento de determinados grupos microbianos (JAY, 2005).

Galoá { Este trabalho foi publicado utilizando o **Galoá** proceedings

Tabela 2: Resultados da análises físico-químicas das amostras do queijo de coalho.

Nº da amostra	pH (médio)	Acidez %m/m	Atividade de água
1	5,46	0,031	0,971
2	6,25	0,026	0,982
3	5,99	0,021	0,977
4	5,53	0,031	0,980
5	5,56	0,031	0,980
6	6,16	0,010	0,977
7	5,90	0,021	0,978
8	5,61	0,021	0,977
9	5,21	0,052	0,985
10	5,90	0,021	0,989
11	5,00	0,062	0,979
12	5,45	0,010	0,973

Os resultados da análise de acidez em ácido lático, demostraram valores variando entre 0,010% e 0,062%, considerados baixos quando comparados com valores obtidos em outros estudos como o realizado por Medeiros *et al.,* (2018), que pesquisaram amostras do queijo de coalho no Sertão da Paraíba e encontraram valores variando entre 0,070% e 0,200%.

A acidez pode ser um fator de qualidade, pois a produção de ácido lático, por bactérias oriundas do leite, interfere diretamente no pH e nas transformações que irão afetar as características sensoriais e microbiológicas do queijo produzido (DANTAS, 2012).

Os resultados da análise da atividade de água variaram entre 0,971 e 0,989, sendo semelhantes aos valores encontrados por Sousa *et al*., (2014), que encontraram valores variando entre 0,944 e 0,979. Esses valores de atividade de água representam uma condição propicia ao desenvolvimento de microrganismos, principalmente de bactérias (JAY, 2005).

Os resultados da contagem de microrganismos aeróbios mesofilos e pesquisa de coliformes são apresentados na Tabela 3.

A contagem de microrganismos aeróbios mesofilos variou de 2,0 x 10^3 a 1,5 x 10^8 UFC/g. A análise deste grupo de microrganismos conhecida também como contagem padrão em placas é muito utilizada como um primeiro indicador para população microbiana em alimentos. Embora não seja um resultado que indique segurança, pois não pode indicar presença ou ausência de patógenos, por meio dele pode-se obter informações sobre condições de processamento, manipulação e sobre a qualidade do produto.

Todas as amostras analisadas apresentaram coliformes totais, sendo que 91,7% das mesmas revelaram valores >1100 NPM/g. Os coliformes constituem o grupo de bactérias que são indicadores de má higiene e manipulação. Vivem no intestino de animais de sangue quente e são destruídas na temperatura de pasteurização. Os principais gêneros que fazem parte desse grupo são: *Escherichia, Citrobacter, Enterobacter, Klebsiella* (JAY, 2005).

Galoá { Este trabalho foi publicado utilizando o **Galoá** proceedings

Os coliformes termotolerantes estiveram presentes em 75% das amostras analisadas, sendo que 33% das mesmas apresentaram valores máximos, >1100 NPM/g. Os coliformes termotolerantes distinguem dos demais por possuírem a capacidade fermentativa nas temperaturas de 44,5-45,5°C. Sua contagem é possível com meios mais seletivos onde se desenvolvem apenas as enterobactérias que fazem parte do sistema gastrintestinal, como a *Escherichia coli.* A confirmação dessa bactéria indica a existência de contaminação fecal em alimentos, indicando desobediência as normas de Boas Práticas de Fabricação (BPF) (COSTA, 2009).

Tabela 3: Resultados das análises microbiológicas realizadas nas amostras do queijo de coalho.

Nº da amostra	Mesófilos (UFC/g)	Coliformes totais (NPM/g)	Coliformes termotolerantes (NMP/g)
1	$6,5*10^5$	>1100	>1100
2	$1,5*10^8$	>1100	150
3	$3,3*10^6$	>1100	>1100
4	$9,7*10^4$	>1100	>1100
5	$1,2*10^6$	>1100	21
6	$2,0*10^3$	3,6	<0,3
7	$6,0*10^5$	>1100	210
8	$7,5*10^4$	>1100	290
9	$1,5*10^6$	>1100	11
10	$1,3*10^5$	>1100	<0,3
11	$1,1*10^5$	>1100	<0,3
12	$6,0*10^4$	>1100	7,5

Contagens elevadas de coliformes termotolerantes podem também ser um indicativo da presença de microrganismos patogênicos. A contaminação de queijo por patógenos, é a mais preocupante, pois esses microrganismos são mais efetivos quando se trata de prejudicar a qualidade do alimento e a saúde do consumidor, pois são causadores de doenças transmitidas por alimentos (DTA).

Microrganismos do gênero *Salmonella, Staphylococcus* e *Listeria* quando presentes no alimento podem causar infecção alimentar. No período de 2000 a 2015 a *Salmonella spp* foi responsável por 14,4% das ocorrências, seguida por *Staphylococcus aureus*, com 7,7% das ocorrências (BRASIL, 2015). RUWER *et al.,* (2011), estudaram a causa de DTA por queijos na cidade de Manaus-AM e obtiveram resultados alarmantes sobre queijo de coalho. Mais de 50 surtos em um intervalo de 4 anos, sendo que os principais microrganismos associados foram os dos gêneros *Salmonella* e *Staphylococcus.* Trabalhos como esse mostram que a contaminação microbiológica de queijos pode tornar um problema de saúde pública.

As amostras com maior nível de contaminação por microrganismos do grupo coliformes foram a 1, 3 e 4, sendo a primeira industrializada e as demais produzidas artesanalmente. Normalmente espera-se que a maior contaminação microbiológica ocorra em queijos produzidos artesanalmente, pois é comum a utilização do leite cru.

Galoá { Este trabalho foi publicado utilizando o **Galoá** proceedings

Além disso, o processo produtivo pode ocorrer com deficiências em relação a aplicação das Boas Práticas de Fabricação por parte dos produtores. Porem este estudo não revelou esse cenário, a Tabela 3 mostra que produtos industrializados e artesanais apresentaram contaminação.
A amostra 6, artesanal e armazenada sob refrigeração, foi a que apresentou menor contaminação para microrganismos aeróbios mesofilos e coliformes. Esses resultados indicam matéria prima de qualidade, práticas de higiene adequadas, cuidado no armazenamento, tanto no transporte quanto na comercialização.
Dos microrganismos analisados, a RDC 12 de 2 de janeiro de 2001 limita a quantidade de coliformes termotolerantes, devendo estar abaixo de 1000 ou 10^3 UFC ou NMP/ g ou ml, desta maneira 75% das amostras analisadas estavam de acordo com a legislação (BRASIL, 2001).

CONCLUSÕES

A maioria das amostras coletadas não estava em sua embalagem original, mesmo sendo de procedência industrial. Pode-se constatar também que 33% das amostras não estavam armazenadas sob refrigeração, podendo acelerar as transformações químicas e o crescimento de microrganismos indesejáveis.
A contagem de microrganismos mesófilos variou de $2{,}0 \times 10^3$ a $1{,}5 \times 10^8$ UFC/g, os valores de NMP/g para coliformes termotolerantes variaram de <0,3 a >1100. Esses resultados indicam que o alimento possa estar deteriorando e também apresenta problemas relacionados às suas condições higiênicas sanitárias. Os resultados dos parâmetros físico-químicos mostraram o favorecimento ao crescimento principalmente de bactérias. Os resultados apontam que a maioria das amostras analisadas estava inadequada ao consumo.

REFERÊNCIAS

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001. Regulamento Técnico Sobre os Padrões Microbiológicos para Alimentos. Diário Oficial da República Federativa do Brasil. Brasília: 2001.
BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Instrução Normativa nº 30, de 26 de junho de 2001. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Manteiga da Terra ou Manteiga de Garrafa, Queijo de Coalho e Queijo de Manteiga. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília: 2001.
BRASIL. Ministério da saúde. SVS/SINAN. Doenças Transmitidas por Alimentos. Brasília, 2015. Disponível em: http://portalarquivos.saude.gov.br/images/pdf/2015/novembro/09/Apresenta----o-dados-gerais-DTA-2015.pdf. Acesso em: 25 de setembro de 2018.

Galoá { Este trabalho foi publicado utilizando o **Galoá** proceedings

CAVALCANTE, J.F.M. Sistema de apoio à decisão na produção de queijo coalho com segurança alimentar. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais: 2005.
COSTA, S.L. Avaliação do controle de qualidade do queijo de coalho em alimentos. Monografia (Aperfeiçoamento/Especialização em Gestão, Qualidade, Vigilância Sanitária *Alimentos*). Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Rio Grande do Norte: 2009.
DANTAS, D.S. Qualidade microbiológica de queijo de coalho comercializado no município de Patos, PB. Dissertação (Mestrado em Zootecnia). Universidade Federal de Campina Grande, Paraíba, 2012.
IAL. Instituto Adolfo Lutz. Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz. v. 1: Métodos químicos e físicos para análise de alimentos, 3 ed. São Paulo: IMESP, 1985.
JAY, J.M. Microbiologia de alimentos. 6 ed. Porto Alegre: Artmed, 2005.
MEDEIROS, R.S, GONCALVES, M.M.B.P, NETO, V.Q. Perfil físico-químico do queijo de coalho artesanal do sertão da Paraíba, Nordeste, Brasil. Disponível em: http://www.cstr.ufcg.edu.br/grad_cienc_bio/congressos_resumos/perfil_fisico_quimico_do_queijo_de_coalho.pdf. Acesso em: 25 de setembro de 2018.
MENEZES, S.S.M. Queijo de coalho: tradição cultural e estratégia de reprodução social na região nordeste. Revista de Geografia (UFPE). Pernambuco. v.28, n.1, 2011.
NASSU, R.T., MACEDO, B.A., LIMA, M.H. Queijo de coalho. Coleção Agroindústria familiar. Brasília: Embrapa. 2006.
RUWER, C.M., MOURA, J.F., GONCALVES, M.J.F. Surtos de doenças transmitidas por alimentos em Manaus, Amazonas (2005-2009): O problema do queijo coalho. Segurança Alimentar e Nutricional, v.18, n.2, 2011.
SILVA, N., JUNQUEIRA, V.C.A, SILVEIRA, N.F.A, TANIWAKI, M.H., SANTOS, R.F.S., GOMES, R.A.R. Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água. 4 ed. São Paulo: Varela, 2010.
SOUSA, A.Z.B, ABRANTES, M.R., SAKAMOTO, S.M., SILVA, J.B.A., LIMA, P.O., LIMA, R.N., ROCHA, M.O.C., PASSOS, Y.D.B. Aspectos físico-químicos e microbiológicos do queijo tipo coalho comercializado em estados do nordeste do Brasil, Arquivo do Instituto de Biologia, v.81, n.1, 2014.

Galoá { Este trabalho foi publicado utilizando o **Galoá** proceedings