

## Microbiota do queijo colonial artesanal em diferentes condições de maturação

## Microbiota of artisanal colonial cheese under different ripening conditions

### RESUMO

Ana Paula Silva de Carvalho  
Seciliano Moreira  
[ana.seciliano@gmail.com](mailto:ana.seciliano@gmail.com)  
Universidade Tecnológica  
Federal do Paraná, Francisco  
Beltrão, Paraná, Brasil

Andréa Cátia Leal Badaró  
[andreabadaro@utfpr.edu.br](mailto:andreabadaro@utfpr.edu.br)  
Universidade Tecnológica  
Federal do Paraná, Francisco  
Beltrão, Paraná, Brasil

Fabiane Picinin de Castro  
Cislaghi  
[fabianecastro@utfpr.edu.br](mailto:fabianecastro@utfpr.edu.br)  
Universidade Tecnológica  
Federal do Paraná, Francisco  
Beltrão, Paraná, Brasil

Roberta Martins  
[martins.1996@alunos.utfpr.edu.br](mailto:martins.1996@alunos.utfpr.edu.br)  
Universidade Tecnológica  
Federal do Paraná, Francisco  
Beltrão, Paraná, Brasil

Janice Ruschel  
[janiceruschel@outlook.com](mailto:janiceruschel@outlook.com)  
Universidade Tecnológica  
Federal do Paraná, Francisco  
Beltrão, Paraná, Brasil

**Recebido:** 19 ago. 2020.

**Aprovado:** 01 out. 2020.

**Direito autoral:** Este trabalho está licenciado sob os termos da Licença Creative Commons-Atribuição 4.0 Internacional.



O queijo colonial artesanal é um tipo de queijo produzido com leite cru por pequenos produtores da agricultura familiar. Questões legais e higiênico-sanitárias devem ser levadas em consideração na produção de qualquer alimento, assim, o presente estudo teve como objetivo avaliar as contagens de coliformes termotolerantes e *Staphylococcus coagulase positiva* e presença de *Salmonella* spp. e *Listeria monocytogenes* em amostras de queijos coloniais artesanais produzidos pela agricultura familiar do Sudoeste do Paraná, em períodos de inverno (maturado sob refrigeração e temperatura ambiente) e de verão, afim de auxiliar na definição das melhores condições de maturação. Observou-se ausência de *Salmonella* spp. e de *Listeria* em todas amostras de queijo analisadas, porém as contagens de estafilococos e coliformes apresentaram-se acima do limite preconizado pela legislação nas diferentes condições experimentais, demonstrando a necessidade de mais estudos sobre as melhores condições de maturação destes queijos visando um produto de qualidade e seguro ao consumidor.

**PALAVRAS-CHAVE:** Maturação de queijos. Agricultura familiar. Alimento seguro.

### ABSTRACT

Artisanal colonial cheese is a type of cheese produced with raw milk by small producers of family farming. Legal and hygienic-sanitary issues must be taken into account in the production of any food, thus, the present study aimed to evaluate the counts of thermotolerant coliforms and positive coagulase *Staphylococcus* and the presence of *Salmonella* spp. and *Listeria monocytogenes* in samples of artisanal colonial cheeses produced by family farming in the Southwest of Paraná, in winter (matured under refrigeration and room temperature) and summer, in order to help define the best ripening conditions. Absence of *Salmonella* spp. and *Listeria* in all analyzed cheese samples, however the *Staphylococcus* and coliform counts were above the limit recommended by the legislation in the different experimental conditions, demonstrating the need for further studies on the best maturation conditions of these cheeses for a quality product and consumer insurance.

**KEYWORDS:** Cheese maturation. Family farming. Food safety.



## INTRODUÇÃO

O desenvolvimento de muitas regiões brasileiras é através de produtos lácteos como o queijo colonial produzido de forma artesanal, por possuir um alto valor agregado e de fácil comercialização em feiras e em pequenos estabelecimentos comerciais (CORREIA e ASSIS, 2017).

Os queijos artesanais são fabricados a partir de leite cru o que resulta numa preocupação na oferta de um produto inócuo (livre de patógenos e deteriorantes) ao consumidor e de acordo com a legislação brasileira (BRASIL, 2017) os queijos fabricados a partir de leite cru devem ser maturados a temperatura superior de 5°C no tempo mínimo de 60 dias, até podem ser comercializados antes do tempo preconizado pela legislação desde que, sejam realizados estudos científicos que comprovem que o queijo esteja inócuo e apto para consumo.

A diversidade microbiana é indispensável pela responsabilidade em manter as características do queijo que são exclusivas de cada região. Se destacam na microbiota do queijo colonial artesanal as Bactérias Ácido-Láticas (BAL's) que são desejáveis e importantes na questão sensorial do produto, e as bactérias indesejáveis que são representadas pelas bactérias indicadoras de qualidade sanitária e patogênicas como o grupo de Estafilococos coagulase positiva, coliformes termotolerantes, *Salmonella* spp. e *Listeria monocytogenes* (MARTINS et al., 2018).

A população microbiana no queijo colonial artesanal depende de fatores como o clima, a qualidade da matéria-prima e principalmente do processo higiênico sanitário em que é produzido e a sua caracterização é imprescindível para o melhoramento na fabricação de queijo principalmente no controle de qualidade desde a ordenha até a fabricação do produto final, a fim de oferecer ao consumidor um alimento seguro (JOHNSON, 2018).

Portanto, estudos sobre a microbiota desses queijos, fabricados a partir do leite cru, são de extrema importância a fim de identificar e caracterizar as populações microbianas para garantir o aprimoramento das características do queijo, principalmente nas questões sensoriais e ligadas à segurança deste produto. O objetivo deste estudo foi determinar o perfil da microbiota de queijo colonial artesanal do Sudoeste do Paraná durante o período de 10 semanas a fim de auxiliar a determinação do período mínimo de maturação destes queijos para que sejam considerados seguros do ponto de vista microbiológico.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram coletadas 90 amostras de queijos de 3 diferentes queijarias da região Sudoeste do Paraná, definidas aleatoriamente, sendo 30 queijos de cada queijaria, que foram produzidos artesanalmente em uma única batelada. No Laboratório de Leite e Derivados da UTFPR-FB foram conduzidos 2 tipos de maturação, quando 45 queijos foram mantidos sob refrigeração, em geladeira tipo doméstica, e a outros 45 foram mantidos em armário metálico fechado e protegido por tela milimétrica, onde as amostras de queijo permaneceram maturando em temperatura ambiente, sendo esta etapa foi caracterizada como Experimento de Inverno.

O Experimento de Verão foi realizado também em 3 queijarias da região, porém e a maturação de todas amostras ocorreu nos próprios laticínios produtores, sendo trazidas ao laboratório, semanalmente, 2 amostras de queijos de cada queijaria.

As avaliações microbiológicas iniciaram 7 dias após a produção dos queijos, considerada 1ª semana, e depois nos dias 14, 21, 28, 37, 44, 59 e 64, equivalendo a 10 semanas de maturação, e utilizando-se as metodologias oficiais descritas na IN nº 62/2003 (BRASIL, 2003), para as análises de número mais provável de coliformes totais e termotolerantes, contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva, presença de *Salmonella* spp. e *Listeria monocytogenes*.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na pesquisa de *Salmonella* spp., tanto no experimento de inverno quanto de verão, foram isoladas apenas 3 cepas suspeitas e após testes bioquímicos e sorológicos obteve-se o resultado de ausência de *Salmonella* spp. em 25g de amostra, o que demonstra conformidade em relação ao padrão da legislação em vigor (BRASIL, 2001). A presença de *Salmonella* no queijo colonial artesanal poderia indicar contaminação por falhas nas boas práticas de fabricação (BPF).

Quanto a pesquisa de *Listeria*, todos resultados foram negativos para a presença de *Listeria monocytogenes*, indicando conformidade com a legislação vigente para queijos, que preconiza ausência desta espécie em 25 g do produto (BRASIL, 2001). *Listeria monocytogenes* é um patógeno que indica a falhas de limpeza principalmente de equipamentos, contaminação cruzada, ou ainda a entrada de animais no local (FRANCO e LANDGRAF, 2008).

Na análise de Estafilococos, no experimento de inverno, os resultados da primeira semana de maturação apresentaram contagens para queijaria A:  $1,4 \times 10^6$  UFC.g<sup>-1</sup>, queijaria B:  $4,4 \times 10^3$  UFC.g<sup>-1</sup> e queijaria C:  $4,5 \times 10^5$  UFC.g<sup>-1</sup>. No experimento de verão as contagens da 1ª semana foram  $3,9 \times 10^5$ ,  $4 \times 10^5$  e  $8,7 \times 10^4$  UFC.g<sup>-1</sup>, respectivamente. Os resultados das demais semanas estão na Tabela 1.

Tabela 1 – Contagens de Estafilococos em amostras de queijos coloniais artesanais, produzidos no inverno e no verão maturados em diferentes condições.

Queijarias	Experimento de inverno						Experimento de verão			
	Refrigerado			Ambiente			Maturação na queijaria			
	A	B	C	A	B	C	A	B	C	
Semanas	2ª	$1,8 \times 10^8$	$< 10^3$	$4,3 \times 10^6$	$1,6 \times 10^7$	$1,0 \times 10^4$	$4,0 \times 10^6$	$8,4 \times 10^6$	$9,1 \times 10^6$	$4,3 \times 10^4$
	3ª	$1,1 \times 10^8$	$< 10^3$	$2,3 \times 10^6$	$3,8 \times 10^5$	$1,0 \times 10^4$	$6,0 \times 10^6$	$2,2 \times 10^7$	$8,3 \times 10^5$	$7,3 \times 10^4$
	4ª	$1,4 \times 10^6$	$1,8 \times 10^3$	$3,9 \times 10^6$	$1,7 \times 10^5$	$5,8 \times 10^3$	$8,8 \times 10^7$	$2,6 \times 10^7$	$4,3 \times 10^6$	$5,4 \times 10^4$
	5ª	$7,9 \times 10^5$	$1,7 \times 10^3$	$3,0 \times 10^6$	$2,1 \times 10^5$	$1,5 \times 10^4$	$1,5 \times 10^6$	$5,6 \times 10^6$	$1,0 \times 10^6$	$7,0 \times 10^4$
	6ª	$3,6 \times 10^5$	$2,0 \times 10^3$	$1,0 \times 10^6$	$7,0 \times 10^4$	$1,0 \times 10^6$	$2,6 \times 10^4$	$8,1 \times 10^6$	$1,7 \times 10^7$	$8,1 \times 10^3$
	8ª	$9,5 \times 10^4$	$3,2 \times 10^3$	$3,9 \times 10^5$	$1,4 \times 10^7$	$1,0 \times 10^7$	$4,4 \times 10^5$	$1,4 \times 10^7$	$4,9 \times 10^6$	$2,4 \times 10^4$
	10ª	$2,3 \times 10^4$	<b><math>7,0 \times 10^2</math></b>	$5,7 \times 10^5$	$1,3 \times 10^6$	$8,8 \times 10^6$	$1,0 \times 10^5$	$2,9 \times 10^7$	$4,2 \times 10^6$	$8,2 \times 10^3$

Valores representados em unidades formadoras de colônias por grama de amostra (UFC.g<sup>-1</sup>).

Fonte: Autoria própria (2020).

Observou-se elevadas contagens de *Estafilococos coagulase positiva*, com alguns casos até mesmo de elevação das contagens anteriores, o que pode indicar que as condições higiênicas durante a maturação não permitiram a redução das contagens à níveis adequados para se considerar este alimento seguro.

Somente a amostra da queijaria B do experimento de inverno, maturada em ambiente refrigerado, apresentou na 10ª semana de maturação, contagens que indicariam produto próprio para consumo humano, segundo os padrões microbiológicos vigentes.

Segundo os limites estabelecidos pela Resolução de Diretoria Colegiada da Anvisa – RDC nº 12 de 12/01/2001, queijos com umidade de até 46% apresentam tolerância de  $10^3$  UFC.g<sup>-1</sup> para a contagem de *Estafilococos coagulase positiva* (BRASIL, 2001).

Entre o grupo *Estafilococos coagulase positiva* se destaca a espécie *Staphylococcus aureus*, bactéria patogênica responsável por desencadear intoxicação de origem alimentar pela capacidade de produzir enterotoxinas (AHMED et al., 2019). A contaminação por *Staphylococcus aureus* em queijos artesanais coloniais está associada à produção com leite cru ou por falhas com relação à higiene no momento da produção e manipulação do produto, uma vez que este agente é normalmente encontrado nas vias respiratórias, mãos e pele dos manipuladores, o que pode causar contaminação no produto (FRANCO e LANDGRAF, 2008).

As contagens iniciais de coliformes termotolerantes no experimento de inverno foram de  $3,8 \times 10^5$  NMP. g<sup>-1</sup> na amostra da queijaria A,  $1,4 \times 10^5$  NMP. g<sup>-1</sup> na amostra da queijaria B e  $2,9 \times 10^4$  NMP.g<sup>-1</sup> na amostra da queijaria C. Já no experimento realizado no verão, as contagens iniciais foram  $3,6 \times 10^4$ ,  $4,6 \times 10^6$  e  $7,4 \times 10^3$  NMP.g<sup>-1</sup> para as 3 queijarias, respectivamente.

No decorrer da maturação do experimento de inverno, algumas amostras apresentaram resultados maiores em relação a microbiota inicial (Tabela 2). No entanto, nas amostras da queijaria B que foram maturadas em temperatura ambiente, já na 4ª semana de maturação, apresentaram contagens abaixo de  $5 \times 10^3$  NMP.g<sup>-1</sup>, que é o limite estabelecido pela legislação vigente (BRASIL, 2001).

Já os resultados do experimento de verão, com os queijos maturados nas próprias queijarias, apresentaram valores que atendiam os padrões para este agente, já na 2ª semana para amostras da queijaria C, na 5ª semana para amostras da queijaria A e na 10ª semana para amostras da queijaria B.

A presença de Coliformes termotolerantes em alimentos é indicador de que o mesmo foi produzido com falhas nos controles dos processos, uma vez que este grupo de bactérias é normalmente indicadora de contaminação por fezes de animais e humanos, e que patógenos de origem fecal podem estar presente nesse alimento, como algumas cepas de *Escherichia coli* enteropatogênicas (FRANCO e LANDGRAF, 2008).

Tabela 2 – Número mais provável de coliformes termotolerantes em amostras de queijos coloniais artesanais, produzidos no inverno e no verão maturados em diferentes condições.

Queijarias	Experimento de inverno						Experimento de verão		
	Refrigerado			Ambiente			Maturação na queijaria		
Semanas	A	B	C	A	B	C	A	B	C
2ª	3,0x10 <sup>5</sup>	1,5x10 <sup>5</sup>	1,5x10 <sup>5</sup>	2,3x10 <sup>6</sup>	1,5x10 <sup>5</sup>	3,6x10 <sup>4</sup>	3,6x10 <sup>5</sup>	9,3x10 <sup>6</sup>	3,6x10 <sup>3</sup>
3ª	36x10 <sup>6</sup>	3,9x10 <sup>7</sup>	3,6x10 <sup>3</sup>	4,4x10 <sup>4</sup>	2,6x10 <sup>5</sup>	7,4x10 <sup>5</sup>	9,2x10 <sup>5</sup>	9,2x10 <sup>5</sup>	1,5x10 <sup>2</sup>
4ª	7,2x10 <sup>5</sup>	1,5x10 <sup>5</sup>	3,6x10 <sup>3</sup>	2,1x10 <sup>5</sup>	2,1x10 <sup>3</sup>	9,2x10 <sup>3</sup>	2,0x10 <sup>6</sup>	4,3x10 <sup>5</sup>	2,9x10 <sup>1</sup>
5ª	3,6x10 <sup>5</sup>	3,6x10 <sup>5</sup>	4,3x10 <sup>5</sup>	4,3x10 <sup>5</sup>	9,2x10 <sup>4</sup>	9,3x10 <sup>4</sup>	3,0x10 <sup>1</sup>	2,3x10 <sup>5</sup>	7,4x10 <sup>0</sup>
6ª	3,6x10 <sup>4</sup>	2,3x10 <sup>4</sup>	9,3x10 <sup>3</sup>	1,1x10 <sup>6</sup>	4,6x10 <sup>2</sup>	9,3x10 <sup>5</sup>	3,0x10 <sup>1</sup>	9,3x10 <sup>4</sup>	9,2x10 <sup>0</sup>
8ª	9,2x10 <sup>3</sup>	1,2x10 <sup>4</sup>	2,4x10 <sup>4</sup>	2,8x10 <sup>6</sup>	2,3x10 <sup>1</sup>	7,5x10 <sup>3</sup>	3,6x10 <sup>1</sup>	4,3x10 <sup>4</sup>	3,6x10 <sup>0</sup>
10ª	4,3x10 <sup>3</sup>	2,4x10 <sup>3</sup>	3,6x10 <sup>2</sup>	4,6x10 <sup>6</sup>	9,3x10 <sup>1</sup>	2,4x10 <sup>4</sup>	3,0x10 <sup>1</sup>	3,8x10 <sup>3</sup>	3,0x10 <sup>1</sup>

Valores representados em número mais provável por grama de amostra (NMP.g<sup>-1</sup>).

Fonte: Autoria própria (2020).

É importante avaliar quanto tempo de maturação dos queijos artesanais produzidos com leite cru necessitam para reduzir as contagens microbianas a níveis seguros para atenderem aos quesitos de qualidade microbiológica que permita que sejam comercializados sem haver risco a saúde. Assim, queijos adequadamente maturados, além de serem sensorialmente mais agradáveis ao paladar, podem ser naturalmente menos contaminados e conseqüentemente mais seguros ao consumidor. Isso é devido a alterações que ocorrem no meio em que as bactérias se encontram, elevando a acidez devido a presença das bactérias lácteas e pela diminuição da atividade de água no queijo.

A definição do tempo de maturação ideal deste tipo de queijo é de extrema importância por viabilizar seu consumo, pois diminuiria o número que microrganismos presentes que poderiam ser patogênicos, e assim facilitar sua legalização perante os órgãos de inspeção sanitária.

## CONCLUSÃO

Os dados obtidos no presente estudo demonstraram ausência de *Salmonella* spp. e de *Listeria monocytogenes* em todas amostras de queijo analisadas nos diferentes tipos de maturação. No entanto, para as avaliações quanto as contagens de Estafilococos e Coliformes termotolerantes, observou-se contagens acima do limite preconizado pela legislação e que durante os levantamentos realizados durante as diferentes formas de maturação, estas contagens variaram consideravelmente, sendo que algumas amostras chegaram a níveis seguros em algumas semanas, e outras mesmo com as 10 semanas do experimento não foram suficientes para tornar as amostras aceitáveis pela legislação vigente.

Os queijos fabricados e maturados no período de inverno apresentaram qualidade microbiológica inferior aos fabricados e maturados no verão, porém independente de qual estação, os queijos coloniais artesanais devem esperar o tempo estipulado pela legislação para serem comercializados de forma inócua e apta ao consumo, livre de patógenos causadores de doenças graves.

Para a comercialização em tempo inferior ao preconizado pela legislação os fabricantes de queijo colonial artesanal deverão realizar maior controle do processo, monitorando desde a matéria-prima que será usada até o produto final.

Pode-se ainda concluir pela importância dessas análises, principalmente por colaborar com dados sobre as melhores condições e tempo de maturação dos queijos artesanais, para que se possa oferecer um produto seguro e de qualidade ao consumidor.

### AGRADECIMENTOS

As autoras agradecem ao CNPq, à Fundação Araucária, à Central Cresol-Baser e à UTFPR-FB pelo auxílio financeiro e pela concessão de bolsa aos estudantes pesquisadores, permitindo a execução do projeto. Agradecimento especial às Queijarias que forneceram as amostras e aceitaram maturar os queijos na etapa de verão.

### REFERÊNCIAS

AHMED, A. A., MAHARIK, N. M. S., VALERO, A. & KAMAL, S.M. Incidence of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* in milk and Egyptian artisanal. **Food Control**, v. 104, p. 20-27. 2019. Disponível em <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2019.04.017>. Acesso em: 01 set. 2020.

BRASIL, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução de Diretoria Colegiada - RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001. Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial** da República Federativa do Brasil. 2001.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Decreto nº 9.013, de 29 de março de 2017. Regulamento de Inspeção industrial e higiênico-sanitária de produtos de origem animal. **Diário Oficial** da República Federativa do Brasil. 2017.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 62, de 26 de agosto de 2003. Métodos microbiológicos para análises microbiológicas em produtos de origem animal. **Diário Oficial** da República Federativa do Brasil. 2003.

CORREIA, V. T. da V. & ASSIS, I. C. L. de. Queijos artesanais: revisão de literatura. **Nutritime**, v. 14, n. 06, p. 8001-8008. 2017. Disponível em <https://docplayer.com.br/64505026-Queijos-artesanais-revisao-de-literatura.html>. Acesso em: 01 set. 2020.

FRANCO, B. D. G. M. & LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. 1. ed. São Paulo: Editora Atheneu, 2008.

JOHNSON, M. E. A 100-Year Review: Cheese production and quality. **Journal of Dairy Science**, v. 100, n. 12, p. 9952-9965. 2017. Disponível em <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29153182>. Acesso em: 23 ago. 2020.

MARTINS, M. C. de F., FREITAS, R. de, DEUVAUX, J. C., ELLER, M. R., NERO, L. A. & CARVALHO, A. F. de. Bacterial diversity of artisanal cheese from the Amazonian region of Brazil during the dry and rainy seasons. **Food Research International**, v. 108, p. 295-300. 2018. Disponível em <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.03.060>. Acesso em: 23 ago. 2020.