

## **Análise de microrganismos aeróbios mesófilos e psicrotróficos em queijos artesanais com selo ARTE comercializados em lojas virtuais.**

**Autores: Maria Laura Rosa Sinhorelli<sup>1</sup>, Luciano Menezes Ferreira<sup>2</sup>**

**Colaboradores: Isabella Katlen Ribeiro Silva<sup>3</sup>,**

**Lívia dos Santos Coelho<sup>4</sup>**

**<sup>1,2,3,4</sup>Centro Universitário Barão de Mauá**

**<sup>1</sup>[mlrsinhorelli@hotmail.com](mailto:mlrsinhorelli@hotmail.com) – Medicina Veterinária, <sup>2</sup>[luciano.ferreira@baraodemaua.br](mailto:luciano.ferreira@baraodemaua.br)**

### **Resumo**

As Boas Práticas de Fabricação (BPF) são atitudes que devem ser seguidas com objetivo de segurança e qualidade do produto. Sendo assim, o Selo ARTE traz aos consumidores um produto artesanal de qualidade e torna seu comércio legal. Portanto, este estudo teve como objetivo a análise microbiológica de queijos artesanais com Selo ARTE comercializados em lojas virtuais por meio da pesquisa e quantificação de microrganismos aeróbios mesófilos e psicrotróficos.

### **Introdução**

Ao passar dos anos, os queijos produzidos de forma artesanal vêm ganhando atenção dos consumidores em conjunto com a exigência em adquirir um produto de boa qualidade. A Lei n° 13.680, de 14 de junho de 2018, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA, institui a criação do Selo ARTE para que produtores artesanais sejam certificados de que o produto que confeccionam possui qualidade higiênico-sanitária adequada e possibilite a comercialização em todo território nacional. Para que sejam distribuídos, passam por rigorosa avaliação microbiológica juntamente da aplicação das boas práticas de fabricação (BPF) para que a multiplicação de microrganismos patogênicos seja diminuída, visando a segurança do alimento para o consumidor (SANTANA *et al.*, 2001). As alterações sensoriais do produto são causadas pelos microrganismos aeróbios psicrotróficos, que se desenvolvem no processo de resfriamento do produto, produzindo enzimas degradantes de lipídios e proteínas (BERSOT *et al.*, 2010). À vista disso, indicam a deterioração do produto e, conseqüente, diminuição do tempo de prateleira, mesmo após tratamentos como pasteurização ou ultra pasteurização (PINTO; MARTINS; VANETTI, 2006).

### **Objetivo**

Este trabalho teve como objetivo pesquisar a qualidade microbiológica dos queijos artesanais com Selo ARTE comercializados em lojas virtuais por meio da análise de microrganismos aeróbios mesófilos e psicrotróficos.

### **Materiais e Métodos**

Foram utilizadas para análise microbiológica 15 amostras de queijos artesanais com Selo ARTE, adquiridos em lojas virtuais, produzidos no estado de Minas Gerais e Santa Catarina. Ao chegarem em Ribeirão Preto por meio de transportadora, ainda em suas embalagens comerciais originais fechadas dentro de caixa isotérmica, foram identificadas de acordo com o peso e aferida a temperatura quando foram entregues. Em seguida as amostras foram encaminhadas ao Laboratório de Microbiologia do Centro Universitário Barão de Mauá para análise durante os meses de junho e julho de 2022.

### **Preparo das diluições e amostras**

Para a preparação das amostras e diluições seriadas foram seguidas as recomendações do Manual de Métodos e Análise Microbiológica de Alimentos e Água (SILVA *et al.*, 2021). Assim que as amostras chegaram ao laboratório foi feita a avaliação visual e mensuração da temperatura de cada uma delas, e antes da abertura, as embalagens foram desinfetadas com um algodão embebido em álcool 70%. Logo depois, próximo ao bico de Bunsen, foram retirados 25g de queijo com o auxílio de pinças e bisturis previamente esterilizados, transferidos para Erlenmeyers contendo 225 mL de solução salina peptonada a 0,1%, correspondendo a diluição  $10^{-1}$ . A diluição  $10^{-2}$  foi atingida pela transferência de 1 mL da diluição  $10^{-1}$  para tubo de ensaio contendo 9 mL de diluente. As diluições subsequentes foram obtidas da mesma forma até atingir a diluição  $10^{-6}$  (SILVA *et al.*, 2021).

### **Contagem de microrganismos aeróbios mesófilos e psicrotróficos**

Foi utilizado 1 mL de cada diluição ( $10^{-1}$  a  $10^{-6}$ ) depositada no fundo de Placas de Petri esterilizadas, em quadruplicata, sendo uma duplicata para os mesófilos e a outra para os psicrotróficos. Em seguida, foram adicionados 15 a 17 mL de Ágar Padrão para Contagem (PCA) fundido e resfriado a temperatura em torno de 45 °C. Após a homogeneização e solidificação do ágar em temperatura ambiente, duas placas foram

incubadas e invertidas a 35 °C por período de 48 horas para a contagem das colônias de mesófilos, e as outras duas incubadas e invertidas a 10 °C por período de 10 dias para a contagem das colônias de psicotróficos (SILVA *et al.*, 2021). As contagens foram realizadas em contador de colônias em placas com 25 a 250 colônias, segundo a técnica padrão. Após a contagem, o número de colônias foi multiplicado pela diluição correspondente e o resultado expresso em Unidades Formadoras de Colônias por grama de amostra (UFC/g). No entanto, para as placas com contagens acima da diluição máxima utilizada neste estudo ( $10^{-6}$ ), foram utilizadas as regras de contagens estimadas de colônias descritas no Manual de Métodos e Análise de Alimentos e Água (SILVA *et al.*, 2021).

## Resultados e Discussão

No presente estudo foi feita a análise de 15 amostras de queijos artesanais com Selo ARTE comercializados em lojas virtuais em junho e julho de 2022, com base na Contagem Padrão em Placas (CPPs) de microrganismos aeróbios mesófilos e psicotróficos. É importante ressaltar que, na chegada das amostras em Ribeirão Preto – SP, as amostras estavam em suas embalagens originais, porém armazenadas em caixa isotérmica sem gelo reciclável ou qualquer outra forma de resfriamento, com temperaturas variando de 19.9 a 24.8 °C. Acerca da temperatura de queijo Minas artesanal, por exemplo, a Portaria nº 2.049, de 7 de abril de 2021, do Instituto Mineiro de Agropecuária, estabelece que se deve submeter os queijos dessa categoria a temperaturas inferiores a 10°C (MINAS GERAIS, 2021). Inclusive, era a recomendação descrita no rótulo dos queijos analisados nesta pesquisa. O controle de temperatura é uma medida importante para fins de redução da velocidade de multiplicação de alguns patógenos, os produtores devem, inclusive, seguir as boas práticas de fabricação, mas o armazenamento e o transporte inadequados podem torná-los inseguros, podendo resultar em problemas de saúde pública e aumento no número de unidades formadoras de colônias por grama de queijo (VINHA *et al.*, 2016). Para comparar os resultados desta pesquisa com o preconizado pela legislação, foi consultada a Instrução Normativa nº 60, de 23 de dezembro de 2019, da Diretoria Colegiada da Agência Nacional de Vigilância Sanitária, publicada no Diário Oficial da União. No entanto, as CPPs dos microrganismos aeróbios mesófilos e psicotróficos não foram contemplados, nem mesmo para queijos artesanais com Selo ARTE. A publicação da Instrução Normativa nº 67 do MAPA, de 10 de dezembro de 2019, estabeleceu as exigências para a outorga do Selo ARTE (BRASIL, 2019). Contudo, ainda há poucos produtos disponíveis à venda com essa certificação, inclusive, atualmente não foram encontradas publicações científicas sobre a

análise microbiológica de queijos artesanais com Selo ARTE. Entretanto, é relevante a pesquisa desses microrganismos por indicarem defeitos no processo de produção, armazenamento e/ou distribuição (BERSOT *et al.*, 2010). Sendo assim, na Tabela 1 é possível observar a variação nas contagens de mesófilos de <10 UFC/g (est.) a  $6,5 \times 10^9$  UFC/g (est.) de queijo obtidas nesta pesquisa. Já os psicotróficos variaram de <10 UFC/g (est.) a  $6,6 \times 10^6$  UFC/g (est.) de queijo.

**Tabela 1 - Contagem de microrganismos aeróbios mesófilos e psicotróficos, por meio da Contagem Padrão em Placas, de queijos artesanais com Selo ARTE comercializados em lojas virtuais, em junho e julho de 2022.**

Amostras	Mesófilos (UFC/g est.)	Psicotróficos (UFC/g est.)	Temperatura (°C)
1	$5,2 \times 10^7$	<10	20.1
2	$2,7 \times 10^7$	<10	19.9
3	$2,1 \times 10^7$	<10	20.0
4	$8,5 \times 10^7$	<10	21.2
5	$>6,5 \times 10^9$	$6,5 \times 10^6$	20.7
6	$>6,5 \times 10^9$	$6,5 \times 10^6$	21.3
7	$7,3 \times 10^8$	$6,6 \times 10^6$	23.6
8	$3,4 \times 10^8$	$3,1 \times 10^4$	23.2
9	$2,1 \times 10^8$	$3,5 \times 10^4$	23.9
10	<10	<10	23.8
11	$1,4 \times 10^8$	$2,3 \times 10^6$	23.8
12	$1,4 \times 10^8$	$5,5 \times 10^6$	24.2
13	<10	<10	24.8
14	$3,8 \times 10^7$	$3,2 \times 10^6$	24.3
15	$5,9 \times 10^7$	$1,7 \times 10^6$	24.7

Fonte: Dados da pesquisa, 2022.

Para comparação dos resultados deste estudo, foram utilizados trabalhos com diferentes tipos de queijos, porém todos sem Selo ARTE. Em uma pesquisa realizada acerca da qualidade microbiológica do queijo tipo Minas Padrão, por exemplo, foram analisadas 30 amostras procedentes de diferentes supermercados de São Luís, no Maranhão. Foram obtidas contagens de microrganismos aeróbios mesófilos de <10 UFC/g até  $1 \times 10^8$  UFC/g de queijo, e os psicotróficos variaram de  $8,3 \times 10^3$  UFC/g a  $1,2 \times 10^8$  UFC/g de queijo (MELO; ALVES; COSTA, 2009).

Depois de analisar os dados da presente pesquisa e compará-los aos resultados dos autores acima, conforme Bersot *et al.* (2009), torna-se evidente que as condições higiênicas-sanitárias eram precárias, sendo requerida a inspeção pelas autoridades competentes, tanto nas indústrias de fabricação quanto na distribuição.

Em outra pesquisa foram coletadas três amostras de queijo curado ralado, provenientes de um ponto de venda do mercado do porto, localizado em Cuiabá, no Mato Grosso, sendo possível a observação de contagens de microrganismos mesófilos de  $3,4 \times 10^5$  UFC/g a  $1,2 \times 10^6$  UFC/g de queijo e, para os psicotróficos, contagens que variaram de  $1,9 \times 10^2$  UFC/g a  $10,3 \times 10^4$  UFC/g de queijo (LEITE *et al.*, 2020).

Visto que a maioria das amostras analisadas na presente pesquisa apresentou contagens acima de  $10^6$  UFC/g (86,67% e 46,67% para mesófilos e psicotróficos, respectivamente), observa-se que os resultados foram superiores aos encontrados na literatura. Então, mesmo não estando os

valores estabelecidos em legislação, a pesquisa desses microrganismos é importante, pois as deficiências no armazenamento, na distribuição ou no processamento promovem o aumento dos microrganismos aeróbios mesófilos e psicrotróficos, diminuindo a qualidade dos queijos (MARIOTO *et al.*, 2020).

Diante disso, é de suma importância garantir o controle e a manutenção de temperaturas de resfriamento dos queijos em compras realizadas em lojas virtuais, respeitando o limite máximo da temperatura estabelecida no rótulo da embalagem, o que não ocorreu em nenhuma amostra analisada nesta pesquisa, pois todas chegaram para análise em caixa isotérmica, porém sem nenhuma forma de resfriamento.

## Conclusão

Com base nos resultados obtidos, conclui-se que a maioria dos queijos analisados (86,67% e 46,67% para mesófilos e psicrotróficos, respectivamente) apresentou inadequada qualidade higiênica, visto que apresentaram contagens acima de 10<sup>6</sup> UFC/g. Diante disso, é necessário que haja mais pesquisas na área de qualidade microbiológica de queijos artesanais com Selo ARTE, que avaliem desde a obtenção da matéria prima até as condições de transporte ao consumidor, evitando riscos à saúde pública.

## Referências

- BERSOT, L. S. *et al.* Avaliação microbiológica e físico-química de leites UHT produzidos no Estado do Paraná – Brasil: evaluation of microbiological and physical-chemical quality of uht milk produced in the parana state: Brazil. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 31, n. 3, p. 645-651, 23 set. 2009. Disponível em: <https://www.redalyc.org/pdf/4457/445744097014.pdf>. Acesso em: 30 set. 2022.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 67, de 10 de dezembro de 2019c. Estabelece os requisitos para que os Estados e o Distrito Federal realizem a concessão do Selo Arte, aos produtos alimentícios de origem animal produzidos de forma artesanal. **Diário Oficial da União**, Brasília, 11 dez. 2019. Seção 1, p.34
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Lei nº 13.680, de 14 de junho de 2018. Altera a Lei nº 1.283, de 18 de dezembro de 1950, para dispor sobre o processo de fiscalização de produtos alimentícios de origem animal produzidos de forma artesanal. **Diário Oficial da União**, Brasília, 2018. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/producao-animal/seloarte/legislacao/LEIN13.680DE14DEJUNHODE2018.pdf/view>. Acesso em: 04 out. 2022.
- LEITE, J. N. *et al.* Análise microbiológica de queijo curado ralado comercializado no mercado do porto no município de Cuiabá-MT. **Brazilian Journal Of Development**, Curitiba, v. 6, n. 3, p. 10448-10460, mar. 2020. Disponível em: <https://brazilianjournals.com/ojs/index.php/BRJD/article/view/7396>. Acesso em: 27 out. 2022.
- MARIOTO, L. R. M. *et al.* Potencial deteriorante da microbiota mesófila, psicrotrófica, termodúrica e esporulada do leite cru. **Ciência Animal Brasileira / Brazilian Animal Science**, Goiânia, v. 21, n. 1, 2020. Disponível em: <https://revistas.ufg.br/vet/article/view/44034>. Acesso em: 30 set. 2022.
- MELO, A.C.M. de; ALVES, L.M.C.; COSTA, F.N. Avaliação da qualidade microbiológica do queijo tipo minas padrão comercializado na cidade de São Luis, MA. **Arquivos do Instituto Biológico.**, São Paulo, v. 76, n. 4, p. 547-551, dez. 2009. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/aib/a/pvJDYKxYmHDg5fTFwtzNPdd/?lang=pt&format=pdf>. Acesso em: 27 out. 2022.
- MINAS GERAIS. Governo do Estado de Minas Gerais. Portaria nº 2049, de 07 de abril de 2021. Estabelece o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Queijo Artesanal Mantiqueira de Minas. **Instituto Mineiro de Agropecuária**, Belo Horizonte, 07 abr., 2021. Disponível em: [http://ima.mg.gov.br/index.php?preview=1&option=com\\_dropfiles&format=&task=frontfile.download&catid=1739&id=18558&Itemid=100000000000](http://ima.mg.gov.br/index.php?preview=1&option=com_dropfiles&format=&task=frontfile.download&catid=1739&id=18558&Itemid=100000000000). Acesso em: 10 nov. 2022.
- PINTO, C. L. O.; MARTINS, M. L.; VANETTI, M. C. D. Qualidade microbiológica de leite cru refrigerado e isolamento de bactérias psicrotróficas proteolíticas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 26, n. 3, p. 645-651, set. 2006. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/cta/a/NY78bcMBbMyfzmjrcw4ByCv/?lang=pt&format=pdf>. Acesso em: 04 out. 2022.
- SANTANA, E. H. W. *et al.* Contaminação do leite em diferentes pontos do processo de produção: I. Microrganismos aeróbios mesófilos e psicrotróficos: milk contamination in different points of the process: i) aerobic mesophilic and psychrotrophics microorganisms. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 22, n. 2, p. 145-154, dez. 2001. Disponível em: [https://ojs.uel.br/revistas/uel/index.php/semagrarias/article/view/2043/pdf\\_200](https://ojs.uel.br/revistas/uel/index.php/semagrarias/article/view/2043/pdf_200). Acesso em: 30 set. 2022.
- SILVA, N. *et al.* **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água**. 4. ed. São Paulo: Livraria Varela, 2010. 632p. Disponível em: [https://issuu.com/editorablucher/docs/issuu\\_8cc4608f0c0cfd](https://issuu.com/editorablucher/docs/issuu_8cc4608f0c0cfd). Acesso em: 28 set. 2022.

VINHA, M. B. *et al.* Qualidade de queijos minas frescal produzidos e comercializados informalmente em agroindústrias familiares. **Revista Brasileira de Agropecuária Sustentável**, [S.l.], v. 6, n. 4, p. 51-60, dez. 2016. Disponível em:  
[https://www.researchgate.net/profile/Mariana-Vinha/publication/322577617\\_QUALIDADE\\_DE\\_QUEIJOS\\_MINAS\\_FRESCAL\\_PRODUZIDOS\\_E\\_COMERCIALIZADOS\\_INFORMALMENTE\\_EM\\_A\\_GROINDUSTRIAS\\_FAMILIARES\\_QUALITY\\_OF\\_MINES\\_FRESCAL\\_CHEESE\\_PRODUCED\\_AND\\_MARKETED\\_INFORMALLY\\_IN\\_FAMILY\\_AGROINDUSTRIES/links/5a60a1e945851517c7ad7b39/QUALIDADE-DE-QUEIJOS-MINAS-FRESCAL-PRODUZIDOS-E-COMERCIALIZADOS-INFORMALMENTE-EM-AGROINDUSTRIAS-FAMILIARES-QUALITY-OF-MINES-FRESCAL-CHEESE-PRODUCED-AND-MARKETED-INFORMALLY-IN-FAMILY-AGROINDUSTRIES.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Mariana-Vinha/publication/322577617_QUALIDADE_DE_QUEIJOS_MINAS_FRESCAL_PRODUZIDOS_E_COMERCIALIZADOS_INFORMALMENTE_EM_A_GROINDUSTRIAS_FAMILIARES_QUALITY_OF_MINES_FRESCAL_CHEESE_PRODUCED_AND_MARKETED_INFORMALLY_IN_FAMILY_AGROINDUSTRIES/links/5a60a1e945851517c7ad7b39/QUALIDADE-DE-QUEIJOS-MINAS-FRESCAL-PRODUZIDOS-E-COMERCIALIZADOS-INFORMALMENTE-EM-AGROINDUSTRIAS-FAMILIARES-QUALITY-OF-MINES-FRESCAL-CHEESE-PRODUCED-AND-MARKETED-INFORMALLY-IN-FAMILY-AGROINDUSTRIES.pdf). Acesso em: 10 nov. 2022.

