

## Qualidade microbiológica do requeijão cremoso comercializado na região metropolitana do Recife – PE

### RESUMO

*A crescente preocupação da população em relação a rapidez e praticidade no preparo de alimentos devido ao ritmo de vida imposto nos tempos atuais, proporcionou a aquisição de novos hábitos alimentares. Entre os produtos alimentícios que apresentam praticidade para o consumidor está inserido o requeijão, produto tipicamente brasileiro. Por se tratar de um produto de origem animal, o requeijão está sujeito a veicular microrganismo patogênico para o homem, principalmente quando produzido e processado sob condições higiênico-sanitárias inadequadas. A pesquisa objetivou-se avaliar a qualidade de amostras de requeijão tipo cremoso, comercializados na região metropolitana do Recife – PE. As análises microbiológicas foram constituídas de contagem de bolores e leveduras, coliformes fecais e de *Staphylococcus spp.* Verificaram-se contagens de bolores e leveduras  $<10$  a  $3,4 \times 10^3$  UFC/g. Todas as amostras apresentaram Número Mais Provável (NMP) de coliformes fecais dentro dos padrões estabelecidos na legislação pertinente, e os *Staphylococcus spp* apresentaram variação de  $< 10$  a  $2,2 \times 10^4$  UFC/ g. A temperatura aferida nas gôndolas dos supermercados apresentou-se conforme o estabelecido pela legislação.*

**PALAVRAS - CHAVES:** Requeijão, qualidade, microrganismos.

### 1. INTRODUÇÃO

Os avanços tecnológicos na área de alimentos, juntamente com a urbanização ocorrida no Brasil, levaram a um aumento do consumo de produtos industrializados (ÁLVARES et al., 2005). Concomitantemente, existe uma elevada preocupação do consumidor no que diz respeito à segurança alimentar dos produtos disponíveis no comércio, o que tem contribuído para o aumento do consumo daqueles que apresente uma excelente qualidade.

A qualidade do leite é um dos principais fatores para o sucesso na produção de laticínios. Trata-se de um produto que deve ser proveniente de rebanhos de comprovada sanidade, com boa alimentação e manejo, oriundo de fazendas com instalações zootécnicas apropriadas, o que confere ao leite a capacidade de conservação no transporte até à plataforma da usina de beneficiamento (LOURENÇO et al., 2002).

O requeijão é um produto tipicamente brasileiro, fabricado praticamente em todo o território nacional, com algumas variações de tecnologia e características de região para região, sendo classificado de acordo com a sua consistência em comum, cremoso, do norte e do sertão ou crioulo (MUNCK et al., 1984).

Segundo Garruti et al., (2004), trata-se de um tipo de queijo fundido cremoso, obtido por fusão de uma massa de coalhada dessorada e lavada, obtida por coagulação ácida e/ou enzimática do leite, com adição de creme de leite e/ou manteiga e/ou gordura anidra de leite e/ou *butter oil*. A tecnologia dos queijos fundidos surgiu no início do século XX, como uma necessidade de se deter os processos microbianos e enzimáticos de queijos suíços e alemães, de forma a viabilizar a exportação para países de clima quente.

De acordo com Behrmer (1999), o leite, matéria-prima utilizada na fabricação do requeijão, embora apresente enorme riqueza nutritiva, sendo considerado o alimento mais completo, constitui-se um excelente meio de cultura para a proliferação de microrganismos, incluindo os patogênicos.

Dentre os fatores extrínsecos que interferem no crescimento bacteriano, destaca-se a temperatura. Assim como as temperaturas mais altas podem ser utilizadas para reduzir os níveis de contaminação microbiológica a níveis considerados seguros, as temperaturas mais baixas também inibem o metabolismo de muitos microrganismos patogênicos, mas sem que o resfriamento possa ser considerado um processo bactericida, e sim um retardador do crescimento bacteriano (MACÊDO et al., 2000).

Góes et al. (2004), relataram que as falhas na refrigeração causam perdas irreparáveis para os alimentos, sendo estas perdas cumulativas e irreversíveis. Provocam a diminuição da vida útil e das propriedades do produto, tais como sabor, textura, odor e cor.

Segundo Moreno et al. (2002), a presença de vários tipos de microrganismos no requeijão, seja por contaminação das matérias-primas ou por falhas durante o processamento, originam vários tipos de deteriorações, com prejuízos sensíveis para sua qualidade. Por isso, existe uma crescente preocupação com a melhoria da qualidade de produtos e serviços alimentícios pelas instituições públicas e privadas, o que tem levado estas ao desenvolvimento e utilização de inúmeros sistemas e programas de qualidade (DRESCH e JONG, 2002).

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), através da Resolução – CNNPA nº. 12, de 02 de janeiro de 2001, estabeleceu padrões microbiológicos para diversos alimentos, sendo os limites de tolerância adotados para amostra indicativa de requeijão, de  $10^2$  para coliformes/g 30°C, de 10 coliformes/g 45°C e de  $10^3$  estafilococos coagulase positiva/g.

A ocorrência de números elevados de coliformes indica processamento inadequado ou recontaminação pós-processamento, sendo proveniente da matéria-prima, equipamentos sujos, manipulação sem cuidados higiênicos ou proliferação microbiana devido a condições favoráveis de armazenamento que permitem a multiplicação de microrganismos patogênicos ou toxigênicos (ROSSI et al., 2005).

Silva et al. (2002), relataram que a presença de *Staphylococcus* spp. em alimentos representa um enorme risco de gastroenterite alimentar, devido a produção de toxinas termoestáveis capazes de suportar temperaturas de até 100°C durante 30 minutos, sem apreciável perda de sua atividade.

Segundo Souza e Silva (2004), quando os estafilococos estão presentes em números consideráveis em ambientes de produção de alimentos, representam perigo potencial a saúde pública, devido a possibilidade de produção da toxina estafilocócica, o que pode indicar um padrão questionável, principalmente quanto ao processo de manipulação dos alimentos.

Sena (2000) relatou que, embora *Staphylococcus* coagulase positiva seja o mais envolvido em surtos de intoxicação alimentar, algumas espécies de *Staphylococcus* coagulase negativa podem também ser a causa de surtos de toxinfecção ou gastroenterites. Boari et al. (2003), também citaram que colônias atípicas, desprovidas de halo, não são submetidas à testes bioquímicos confirmativos, porém estas colônias podem corresponder a cepas de estafilococos potencialmente produtoras de enterotoxinas.

O requeijão apresenta um alto valor nutricional, devido ao seu teor de proteínas, lipídeos, carboidratos e sais minerais, o que propicia um meio apto ao desenvolvimento de microrganismos, dentre os quais se destacam os fungos (bolores e leveduras), que podem causar vários graus de deterioração no alimento (CHAGAS e SANTOS, 2001).

Segundo Beloti et al. (2001), bolores e leveduras são importantes indicadores de eficiência de práticas de sanitização de equipamentos e utensílios durante a produção e beneficiamento de alimentos. Conforme relatado por Chagas e Santos (2001), os fungos podem, ainda, representar um grave perigo a saúde humana, já que possuem capacidade de produzir micotoxinas, que são metabólitos tóxicos que podem causar reações alérgicas ou infecções.

Diante do exposto e, dada à importância do controle microbiológico deste produto, objetivou-se avaliar a qualidade de amostras de requeijões tipo cremoso comercializados em diversos pontos na região metropolitana do Recife – PE.

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

### **Amostras**

As amostras de requeijão cremoso foram adquiridas em diversos pontos de comercialização na região metropolitana do Recife – PE, onde eram mantidas sob refrigeração nas gôndolas de exposição de derivados lácteos. No momento da coleta, aferiu-se a temperatura das gôndolas e após a verificação, as amostras foram adquiridas e transportadas ao local das análises em caixas isotérmicas com gelo reciclável.

Foram analisadas oito marcas comerciais de requeijão com três repetições, envasadas tanto em copos de vidro como em embalagens plásticas. Em seguida, identificaram-se as amostras e suas respectivas marcas com letras de A a H.

Das oito marcas, apenas uma apresentava registro no Serviço de Inspeção Estadual (SIE), enquanto as demais apresentavam o registro no Serviço de Inspeção Federal (SIF).

### **Análises microbiológicas**

As análises foram realizadas no Laboratório de Inspeção de Carne e Leite (LICAL), do Departamento de Medicina Veterinária, da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), constando de determinação do Número Mais Provável (NMP) de coliformes totais e termotolerantes, contagem de *Staphylococcus* spp. e de bolores e leveduras.

### **Determinação do NMP de coliformes totais e termotolerantes**

Procedeu-se a partir de uma alíquota de 25g da amostra de requeijão diluída em 225mL de água peptonada 0,1% (diluição  $10^{-1}$ ), seguindo-se o método citado em Silva et al., (1997). Foram realizadas diluições subseqüentes ( $10^{-2}$  e  $10^{-3}$ ) em água peptonada a 0,1% e em seguida transferidas de forma asséptica para tubos contendo Caldo Verde Brilhante Bile Lactose (BGBL), em três séries de três tubos. Posteriormente, estes tubos foram incubados em estufa a 35 – 37°C por 48 h, quando se procedeu a leitura, que foi realizada pela verificação de turvação e presença de gás no tubo de Durham. Os tubos que apresentaram positividade foram repicados para tubos contendo Caldo *Escherichia coli* e Caldo Triptona, e ambos foram incubados em banho-maria, sob agitação, a  $44,5 \pm 0,2^\circ\text{C}$  por 48 h. A positividade para coliformes termotolerantes foi obtida a partir da observação de turvação e da produção de gás em tubo de Durham no Caldo *Escherichia coli* e pela formação do anel avermelhado após a adição do reativo de Kovac's, no Caldo Triptona.

### Contagem de *Staphylococcus* spp.

A contagem de *Staphylococcus* spp. foi realizada seguindo-se o método citado em Silva et al. (1997), que consistiu em diluir 25g da amostra em 225 mL de água peptonada 0,1%, a partir desta diluição de  $10^{-1}$  procedeu-se diluições subseqüentes de  $10^{-2}$  e  $10^{-3}$ . Alíquotas de 0,1 mL de cada diluição foram distribuídas em placas de Petri contendo Ágar Baird-Parker (BP), em duplicata e incubadas a 37°C por 48 h.

### Contagem de bolores e leveduras

Ao meio de cultivo Sabouraud – 4% Glucose Agar foi adicionado o antibiótico sulfato de gentamicina, objetivando-se a inibição do desenvolvimento bacteriano. Em seguida foram misturados 1 mL de cada diluição sucessiva ( $10^{-1}$  a  $10^{-3}$ ) das amostras e em seguida incubadas a uma temperatura de  $25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  durante 3 a 5 dias (SILVA et al.,1997).

## 3. RESULTADOS e DISCUSSÃO

A temperatura aferida nas gôndolas dos supermercados, apresentadas na Figura 1, apresentaram-se conforme o discriminado no rótulo do produto, ou seja, estavam mantidas a temperaturas inferiores a 10°C, como recomendado pelo fabricante e exigido na legislação.

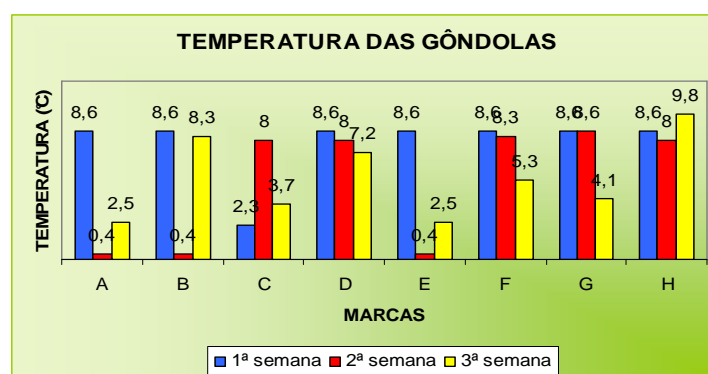


FIGURA 1. Temperaturas aferidas nas gôndolas dos supermercados.

Todas as amostras apresentaram Número Mais Provável (NMP) de coliformes totais e termotolerantes dentro dos padrões estabelecidos na legislação pertinente. Resultados semelhantes foram encontrados por Lourenço et al. (2002), ao realizarem análises microbiológicas em três tipos de requeijão de leite de búfala, cujos resultados variaram de < 3 a 240 NMP/ g.

Conforme apresentado na Figura 2, a contagem de *Staphylococcus* spp. variou de < 10 a  $2,2 \times 10^4$  UFC/ g, sendo as amostras E, F e G, as que apresentaram maior contagem. Foram contadas todas as colônias típicas e atípicas, e não apenas as coagulase positiva, visto que, de acordo com Sena (2000), estes microrganismos são capazes de produzir toxinas independentemente de serem coagulase positiva ou não.

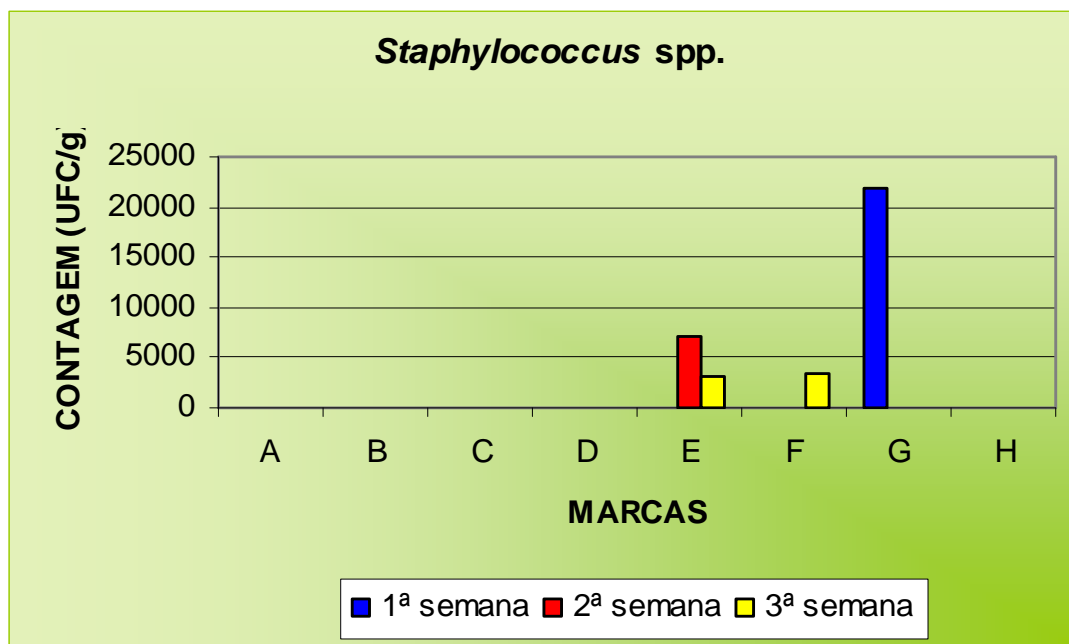


FIGURA 2. Contagem de *Staphylococcus* spp. em requeijão cremoso comercializado na região metropolitana do Recife-PE.

A presença de enterotoxinas estafilocócicas no leite e nos produtos lácteos tem sido constatada em diversos estudos. Rosec et al. (1997), analisando queijos elaborados com leite cru, observaram a presença de toxina do tipo C em 73,7% das 61 amostras analisadas. Masud et al. (1993), ao examinar 48 linhagens enterotoxigênicas de *S. aureus*, isoladas de produtos lácteos, observaram que pelo menos 16 delas produziram mais de um tipo de enterotoxina. A enterotoxina mais comumente encontrada foi a do tipo A, seguida pelo tipo B, D e C.

Os resultados da contagem de bolores e leveduras foram variáveis, desde  $<10$  a  $3,4 \times 10^3$  UFC/g, sendo as amostras da marca E as que apresentaram maiores contagens, conforme apresentado na Figura 3.

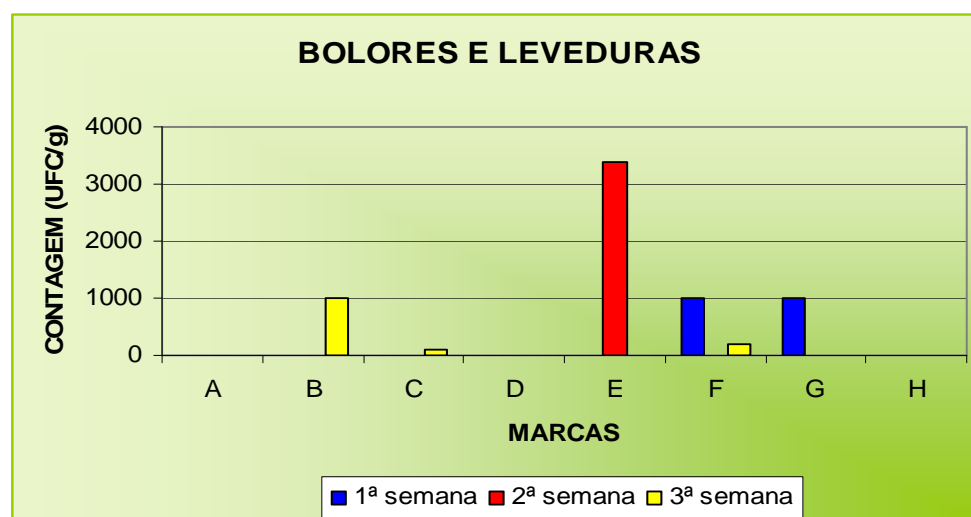


FIGURA 3. Contagem de bolores e leveduras em requeijão cremoso comercializado na região metropolitana do Recife-PE.

A contagem de bolores e leveduras não está estipulada na legislação em vigor, porém a presença desses agentes no produto pode levar à redução no tempo de vida de prateleira, modificando suas características organolépticas e, principalmente as leveduras, que podem provocar a fermentação com conseqüente elevação do pH, propiciando o desenvolvimento de bactérias, inclusive as patogênicas, além de levar o produto a deteriorar-se.

Beloti et al. (2001), citaram que os bolores e leveduras são muito importantes como indicadores de contaminação na cadeia produtiva do leite, podendo ser considerado como um fator de contaminação quando isolados de água residual nos utensílios e equipamentos.

#### 4. CONCLUSÕES

Os requeijões comercializados na grande Recife encontram-se aptos para o consumo com relação aos níveis de contaminação por coliformes se considerando a legislação pertinente. Quanto a contagem de *Staphylococcus* spp. algumas amostras, em sua minoria, encontravam-se com números superiores ao permitido. Alguns dos requeijões encontravam-se inadequados devido à presença de bolores e leveduras. A temperatura das gôndolas no momento da aferição estava dentro do preconizado pela legislação vigente e recomendação dos fabricantes.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA – ANVISA. **Resolução RDC nº 12**, de 2 de janeiro de 2001. Regulamento Técnico Sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos.

ÁLVARES, F.; ARAÚJO, W. M. C.; BORGIO, L. A.; BARROS, L. M. Informações nutricionais em rótulos de queijos industrializados. **Rev. Hig. Alim.** v. 19, p.25 – 33, 2005.

BEHRMER, M.L.A. Tecnologia do leite: leite, queijo, manteiga, caseína, iogurte, sorvetes e instalações: produção, industrialização e análise. São Paulo. **Nobel**, 1999.

BELOTI, V.; BARROS, M.A.F.; SANTANA, E.H.W.; PEREIRA, M.S.; MORAES, L.B.; GUSMÃO, V.V. Utilização de bolores e leveduras como indicadores de contaminação na cadeia produtiva de leite em propriedades da região de Londrina, Paraná. **XXI Congresso Brasileiro de Microbiologia**. Foz do Iguaçu-PR, p.377, 2001.

BOARI, C.A.; PICCOLI-VALE, R.H.; NASCIMENTO, A.R.; MARQUES, S.C.; ALCÂNTARA, E..M.C. Ocorrência de cepas de estafilococos coagulase positiva formadora de colônias atípicas em Agar Baird-Parker. **Rev. Hig. Alim.** v. 17, p.8, 2003.

CHAGAS, S.S.; SANTOS, J. Caracterização da microbiota fúngica presente em queijos artesanais comercializados na cidade de Pelotas-RS. **XXI Congresso Brasileiro de Microbiologia**. Foz do Iguaçu-PR, p.402, 2001.

DRESCH, R. R.; JONG, E. V. Implantação da análise de perigos e pontos críticos de controle na fabricação de queijos. **Rev. Hig. Alim.** v.16, p. 30 – 36, 2002.

GARRUTI, D.S.; BRITO, E.S.; BRAN, A.R.; HIROOKA, E. Y.; HOFFMANN, P. Qualidade microbiológica de queijos ralados de diversas marcas comerciais, obtidos do comércio varejista do município de São José do Rio Preto, SP. **Rev. Hig. Alim.** v. 18, n. 122, p. 62 – 66, 2004.

GÓES, J.A.W.; SILVA, A.V.; FRACALOSSO, L.M.; KUWANO, E.A. Condições de conservação de alimentos armazenados por refrigeração na cidade de Salvador, Bahia. **Rev. Hig. Alim.** v. 18, n. 125, p. 41 – 43, 2004.

LOURENÇO, L.F.H.; SOUSA, C.L.; SIMÃO NETO, M.; LOURENÇO JÚNIOR, J. B. Análise microbiológica do requeijão marajoara elaborado no Norte do Brasil. **Rev. Hig. Alim.** v. 16, p. 55-59, 2002.

MACÊDO, J. A. B.; AMORIM, J. M.; LIMA, D. C.; SILVA, P. M.; VAZ, U. P. Avaliação da temperatura de refrigeração nas gôndolas de exposição de derivados lácteos em supermercados da região de Juiz de Fora/MG. **Rev. Instituto de Laticínios Cândido Tostes.** v. 55, n. 315, p. 41 – 47, 2000.

MASUD, T.; ALI, A.M.; SHAH, M.A. Enterotoxigenicity of *Staphylococcus aureus* isolated from dairy products. **Aust J Dairy Technol**, n.48, p.30-32, 1993.

MORENO, I.; VIALTA, A.; VALLE, J.L.E. Microrganismos responsáveis pela principais deteriorizações do requeijão e outros queijos fundidos. **Rev. Industria de Laticínios.** n.41, p.72-75, 2002.

MUNCK, A.V.; CAMPOS, W.A. Requeijão: um produto brasileiro. **Rev. Informe agropecuário.** n. 115, p. 35-38, 1984.

ROSEC, J.P. et al. Enterotoxin production by staphylococci isolated from foods in France. **Int J Food Microbiol**, v.35, p.213-221, 1997.

ROSSI, D.A.; ZARDINI, F.; BARROS, J.J.C.; SANTOS, J.B.F. Coliformes termotolerantes e *Staphylococcus* coagulase positiva em pratos quentes servidos em restaurantes *self-services* de Uberlândia, MG. **Rev. Hig. Alim.** v. 19, n. 136, p. 90 – 95, 2005.

SENA, M. J. Perfil epidemiológico, resistência a antibióticos e aos conservantes nisina e sistema lactoperoxidase de *Staphylococcus* spp. isolados de queijos coalho comercializados em Recife-PE. 2000. 75 f. **Tese (Doutorado em Ciência Animal)** – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

SILVA, J.A.; AZERÊDO, G.A.D.; BARROS, C.M.R.; COSTA, E.L.; FALCÃO, M.M.S. Incidência de bactérias patogênicas em carne de frango refrigerada. **Rev. Hig. Alim.**, v.16, p.97-101, 2002.

SILVA, N; JUNQUEIRA, V.C.A.; SILVEIRA, N.F.A. **Manual de métodos de análise microbiológicas de alimentos.** São Paulo: Varela, 1997.

SOUZA, E.L.; SILVA, C.P. Qualidade sanitária de equipamentos, superfícies, água e mãos de manipuladores de alguns estabelecimentos que comercializam alimentos na cidade de João Pessoa, PB. **Rev.Hig. Alim.**, v.18,p.98-102, 2004.