

OCORRÊNCIA DE PIGMENTAÇÃO AZUL EM QUEIJO MINAS FRESCAL CAUSADA POR *PSEUDOMONAS*

Aline Moura Freire¹
Marceline do Carmo Toledo Silveira²
Ana Luiza Silva Carvalho³
Laryssa Freitas Ribeiro⁴

RESUMO

Neste estudo de caso mencionou-se a ocorrência de pigmentação azul em Queijo Minas Frescal com pH próximo a neutralidade e ausência de vácuo de uma indústria de Laticínios em Minas Gerais. O problema foi ocasionado por bactérias do grupo *Pseudomonas*. Foi verificado que o problema tende a se manifestar em épocas de seca e temperaturas mais baixas. Análises de amostras do processo indicaram presença de *Pseudomonas* inicialmente na água antes do tratamento, na Salmoura, no Leite Pasteurizado, nas blocoformas e no produto pronto. Diversas ações tomadas em conjunto (aumento do teor de cloro livre na água de abastecimento, manutenção do pasteurizador, pasteurização mais constante das salmouras e reforço da higienização dos utensílios e do ambiente da fábrica) permitiram o controle do problema que causa prejuízos a indústrias processadoras deste tipo de produto.

Palavras-chave: Microrganismos, Qualidade microbiológica do alimento; Contaminação em Queijo Fresco;

ABSTRACT

In this case study, the occurrence of blue pigmentation in Minas Frescal Cheese with pH close to neutrality and absence of vacuum was mentioned in a dairy industry in Minas Gerais. The problem was caused by bacteria of the *Pseudomonas* group. It was found that the problem tends to manifest itself in times of drought and lower temperatures. Analysis of process samples indicated the presence of *Pseudomonas* initially in the water before treatment, in the Brine, in the Pasteurized Milk, in the blocks and in the finished product. Several actions taken together (increase in the free chlorine content in the supply water, maintenance of the pasteurizer, more constant pasteurization of the brines and reinforcement of the hygiene of the utensils and of the factory environment) allowed the control of the problem that causes damages to the processing industries of this product type.

Keywords: Microorganisms, Microbiological quality of food; Contamination in Fresh Cheese;

- 1 Graduada do Curso de Pós-Graduação em Gestão da Qualidade e Higiene e Tecnologia de Leite e Derivados do Ifope Educacional, graduada em Tecnologia em Laticínios e Ciência e Tecnologia de Alimentos pelo IF Sudeste MG Campus Rio Pomba, CRQ-MG 2202783, alinemfreire@yahoo.com.br
- 2 graduada em Ciência e Tecnologia de Laticínios pelo IF Sudeste MG Campus Rio Pomba, marcelinesilveira09@gmail.com;
- 3 Graduada em Zootecnia pela Universidade Federal de São João Del Rei - UFSJ. Mestre em produção animal pela Universidade dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri - UFVJM. Pós graduada em Pecuária Leiteira pela Rehagro, analuiza.ciadoleite@gmail.com;
- 4 Professora orientadora, médica veterinária, mestre e doutora em Medicina Veterinária pela Universidade Estadual Paulista (UNESP), campus de Jaboticabal, SP. Atualmente professora do curso de Medicina Veterinária do Centro Universitário Mário Palmério (UNIFUCAMP) e médica veterinária do Consórcio Intermunicipal RIDES, Monte Carmelo, MG, laryssaribeiro84@gmail.com

INTRODUÇÃO

As bactérias *Pseudomonas* são bastonetes Gram-negativos, móveis devido à presença de flagelo, polar, aeróbios restritos e não formadores de esporos. As *Pseudomonas* são predominantes entre os psicotróficos encontrados no leite, sendo as espécies *Pseudomonas fluorescens* e *Pseudomonas putida* as mais frequentemente isoladas (MONTANHINI, 2021).

Em leite e derivados lácteos, esse grupo de bactérias é responsável por deteriorações, geralmente atribuída a produção de enzimas lipolíticas e proteolíticas. Um outro tipo de deterioração, que tem sido também relacionada à contaminação por cepas de *Pseudomonas* é o surgimento de uma pigmentação azul em queijos frescos (FURTADO, 2020).

Dentro da indústria, profissionais são desafiados em seus controles com o surgimento deste tipo de coloração em queijos frescos de alta umidade, pH próximo a neutralidade e acondicionados em embalagens sem vácuo. Diversos estudos foram desenvolvidos com o intuito de detectar os agentes causadores deste problema, que em alguns casos, foi relatado por alguns autores como descoloração em queijos frescos.

Estudos sobre os microrganismos relacionados à coloração azulada de queijos frescos delimitaram esta ocorrência ao grupo P. *Fluorescens* (OLMO; CALZADA; NUÑEZ, 2018).

No Brasil, indústrias de laticínios vêm relatando cada vez mais a ocorrência dessa deterioração em queijo Minas Frescal, mas, devido à falta de informações científicas nacionais a respeito dela, muitas pessoas acabam erroneamente associando-a a resíduos químicos nos produtos finais. Em 2021, pela primeira vez no Brasil, cepas de *Pseudomonas* que causam descoloração azul em queijos Minas frescal foram investigadas e identificadas, incluindo *Pseudomonas carnis* (RODRIGUES *et al.*, 2021).

O controle deste defeito em Queijo Minas Frescal é de extrema importância, pois o problema ocasiona muitos prejuízos financeiros às indústrias pelo retorno de produtos e impacto negativo na marca.

Este trabalho tem por objetivo relatar a ocorrência da coloração azul em queijo Minas Frescal em uma indústria de laticínios na Zona da Mata de Minas Gerais e as ações utilizadas na busca do controle e prevenção do problema afim de auxiliar eventuais indústrias que possam apresentar o mesmo problema.

MATERIAL E MÉTODOS

Caracterização do problema

Em um Laticínios da Zona da Mata Mineira houve ocorrência de coloração azul em queijos Minas Frescal, com umidade acima de 55%, pH próximo a neutralidade, acondicionado em embalagem plástica fechada com fita adesiva, sem vácuo (Figura 1), que foram devolvidos ao laticínio.

Figura 1 Peças de queijo Minas Frescal apresentando a descoloração azul, devolvidas ao laticínio.



Fonte: Do autor

Buscando solucionar o problema, a equipe do controle de qualidade da empresa contatou outros profissionais com experiência na área: supervisores de produção, queijeiros, técnicos e até mesmo professores universitários. Observou-se que nos últimos anos os casos ocorreram de maneira espaçada, principalmente em períodos de seca e temperaturas mais baixas.

Foram coletadas amostras da Água de Abastecimento não tratada e tratada (cloração); do leite pasteurizado para fabricação do Queijo Minas Frescal; Salmoura dos diferentes tanques; Swab dos equipamentos higienizados utilizados na produção dos Queijos (lira, agitador e garfo de inox); Swabs das formas higienizadas utilizadas no processo de fabricação e também do produto final. As amostras foram encaminhadas para o Laboratório de Ciência de Alimentos da Universidade Federal de Lavras (UFLA) para serem analisadas.

As amostragens foram realizadas em duas partes, sendo a primeira (1º lote) inicialmente para um primeiro diagnóstico do espalhamento de *Pseudomonas* spp. dentro da fábrica. Após os primeiros resultados, foram tomadas algumas ações corretivas como o aumento da cloração da água de abastecimento e foram enviadas novas amostras (lote 2) de

OCORRÊNCIA DE PIGMENTAÇÃO AZUL EM QUEIJO MINAS

alguns pontos que foram considerados críticos bem com de produtos prontos que apresentaram o defeito.

Preparo das amostras

Swabs

Os swabs recebidos foram imersos em 10 mL de água peptonada 0,1% (m/v) e homogeneizados em agitador tipo vórtex por 1 min. Após o despreendimento das células dos swabs, alíquotas de 1 mL foram transferidas para tubos contendo 9 mL de água peptonada 0,1% (m/v), realizando-se diluições seriadas.

Queijos Minas Frescal

Os queijos foram retirados de suas embalagens dentro da câmara de fluxo laminar e acondicionados em placas de Petri esterilizadas. Com auxílio de faca esterilizada, cada queijo foi picado e seus pedaços misturados. Alíquotas de 25g de cada queijo foram pesadas e transferidas para 225mL de solução de citrato de sódio 2% (m/v) e homogeneizadas em homogeneizador tipo stomacher (490 golpes/min) por 3 min. Em seguida foram realizadas diluições seriadas em tubos contendo 9mL de água peptonada 0,1% (m/v).

Salmoura

Alíquotas de 1mL de cada amostra de salmoura recebida foram transferidas para tubos contendo 9 mL de água peptonada 0,1% (m/v) e utilizadas.

Água

Após o recebimento das amostras de água, a elas foram adicionados solução de tiosulfato de sódio (10% m/v), na proporção de 1mL de solução para cada 100mL de água, com o objetivo de neutralizar o cloro.

Análises microbiológicas

Quantificação de microrganismos aeróbios psicrotróficos

Alíquotas de 0,1 mL das diluições adequadas de cada amostra (queijo, água antes do reforço da cloração e depois, swabs e leite pasteurizado) foram inoculadas na superfície de ágar triptona de soja (TSA) e espalhadas com auxílio de alça de drigalski. As placas foram incubadas a 7°C por 7 a 10 dias. O experimento foi realizado em triplicata.

Presença/ausência de bactérias do gênero *Pseudomonas*

Após a quantificação de bactérias aeróbias psicrotróficas, cerca de 10 colônias de diferentes morfotipos de cada placa foram transferidas para caldo acetamida e caldo cetrimida, ambos os meios foram incubados a 37°C por 24h. após esse período os tubos foram

FREIRE, A. M.; SILVEIRA, M. C. T.; CARVALHO, A. L. S.; RIBEIRO, L. F.

expostos à luz UV (365 nm) em câmara escura e observada a presença de fluorescência. Os tubos fluorescentes foram considerados positivos para *Pseudomonas*.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Tabela 1 mostra as contagens de microrganismos aeróbios psicrotróficos encontradas nas amostras analisadas antes das medidas corretivas, bem como se foram positivas ou negativas para presença de *Pseudomonas* spp.

Tabela 1 Quantificação de microrganismos aeróbios psicrotróficos e detecção de *Pseudomonas* spp. nas amostras tomadas em diferentes pontos do laticínio antes de medidas corretivas.

Amostra	Nº de microrganismos aeróbio psicrotróficos	<i>Pseudomonas</i> *
Lote 1		
Salmoura frescal 1	1,13 x 10 ⁴ UFC/mL	++
Salmoura frescal 2	1,56 x 10 ⁴ UFC/mL	++
Salmoura frescal3	8,85 x 10 ⁴ UFC/mL	++
Água produção	4,7 x 10 ² UFC/mL	++
Água laboratório	1,5 x 10 ² UFC/mL	++
Água plataforma	7,5 x 10 ² UFC/mL	++
Swab forma 3kg (com queijo na câmara de secagem)	5,36 x 10 ⁴ UFC/forma	++
Swab bloco formas (frescal)	1,7 x 10 ² UFC/forma	++
Tubulação produção	< 10 UFC/cm ²	-
Swab bloco formas (frescal higienizada)	< 10 UFC/forma	-
Tubulação retorno pasteurizador	7,8 UFC/cm ²	-
Tubulação saída de leite pasteurizado	1,0 UFC/cm ²	-
Lote 2		
Salmoura frescal 2	8,1x10 ³ UFC/mL	++
Salmoura frescal 4	8,5 x 10 ³ UFC/mL	++
Água clorada	< 10 UFC/mL	-
Leite pasteurizado	6,4 x 10 ⁵ UFC/mL	++
Bloco forma 1	1,5 x 10 UFC/bloco (estimado)	-
Bloco forma 2	5,1 x 10 ⁴ UFC/bloco	++
Bloco forma 3	< 10 UFC/bloco	-
Queijo 1	> 10 ⁴ UFC/g	++
Queijo 2	> 10 ⁴ UFC/g	++
Queijo 3	> 10 ⁴ UFC/g	++

* ++ positivo para fluorescência em ambos os caldos acetamida e cetrimida; - ausência de fluorescência em ambos os caldos.

OCORRÊNCIA DE PIGMENTAÇÃO AZUL EM QUEIJO MINAS

Observa-se que, nas amostras provenientes do primeiro lote de amostragem (1º diagnóstico de contaminação dentro do laticínio) não houve fluorescência nos tubos de caldo acetamida e cetrimida das culturas provenientes das tubulações de produção, retorno pasteurizador e saída de leite pasteurizado. Também não foi detectada a presença de *Pseudomonas* spp em 1 dos swabs de bloco formas (frescal). Já na segunda amostragem (2º lote), não foi observada fluorescência nas culturas provenientes da água clorada e de dois swabs de bloco de formas (1 e 3).

Foi detectada presença de *Pseudomonas* ssp. na água de Abastecimento não Tratada proveniente de poço artesiano, no leite pasteurizado destinado a fabricação do Queijo, na Salmoura de salga do Queijo Minas Frescal e no produto pronto em ambas as amostragens.

Por causa da presença de *Pseudomonas* ssp. no leite pasteurizado, o pasteurizador foi aberto para verificação das placas, sendo que uma placa que apresentava microfuros foi trocada. Vale ressaltar que a pasteurização do leite é eficiente no controle de *Pseudomonas* no leite cru, mas falhas neste processo pode vir a permitir a entrada desta contaminação na fábrica de laticínios.

A concentração de cloro livre da água tratada foi aumentada (>1,2 ppm de cloro livre) como medida preventiva uma vez que a água não tratada e com concentração baixa de cloro apresentou presença de *Pseudomonas* ssp, o que reforça a necessidade de controle constante da eficiência do tratamento da água.

Em 2010, defeitos de coloração azul em queijos *Mozarella* na Itália também foram associados a contaminação da água de processamento em algumas fábricas de laticínios. Além do tratamento da água foram implementados programas adequados de limpeza e desinfecção nas fábricas; pasteurização, inoculação de culturas protetoras e adição de lactoferrina bovina digerida com pepsina ao leite . Estas medidas se mostram eficientes no controle da coloração azul em queijos *Mozarella* causado por *Pseudomonas* (OLMO; CALZADA; NUÑEZ, 2018).

Uma vez que também apresentaram contaminação as salmouras do Queijo Minas Frescal passaram a ser tratadas com maior periodicidade (pasteurização semanal). A reutilização das salmouras na indústria de queijos representa motivo de preocupação, pois acarreta aumento de impurezas nesta solução, de modo a propiciar maior sobrevivência e/ou multiplicação de microrganismos diversos (LACHICA, 1971 citado por AMARAL et al., 1992). As salmouras de queijo Minas Frescal precisam de tratamento mais constante do que as salmouras dos demais queijos devido as características intrínsecas (pH neutro e alta umidade) deste tipo de queijo facilitam sua contaminação.

Para auxiliar de maneira adicional no controle desta contaminação a higienização ambiental de toda a fábrica foi reforçada. Passou-se a sanitizar paredes e chão da fábrica diariamente com solução a base de ácido peracético 0,3% por molhagem e a utilizar semanalmente uma fumaça de sanitização de ambiente a base de fenol. Um estudo na Itália mostrou que algumas cepas de *Pseudomonas fluorescens* podem persistir em ambiente de fabricação por muito tempo, sendo isoladas até depois de anos (CHIERICI, 2016). O que reforça a necessidade da sanitização ambiental constante em fábricas que processam derivados lácteos, principalmente queijos frescos.

Observou-se, também necessidade de uma atenção especial a higienização das blocoformas, pois resíduos de matéria orgânica podem diminuir a ação dos sanitizantes e possibilitar a formação de biofilmes, favorecendo a contaminação dos queijos. MONTANHINI, 2021 cita que entre outros fatores, falhas nos procedimentos de higienização podem favorecer o desenvolvimento de *Pseudomonas* em produtos lácteos, o que apresentou conformidade com a pesquisa do problema apresentado neste estudo.

A indústria passou a realizar com mais frequência análises para verificação das condições microbiológicas no processo: swabs para detectar ATP em superfícies com a finalidade de monitoramento e gestão de higiene com resultados rápidos que permitem que os usuários tomem uma ação corretiva imediata (Luminômetro 3M) e contagem total de bactérias em leite pasteurizado e salmouras.

CONCLUSÃO

Com esse estudo de caso, pudemos confirmar o quanto é importante o controle rigoroso de todas as etapas que envolvem o processo de fabricação do queijo Minas Frescal, pois suas características contribuem para a proliferação de microrganismos deteriorantes, resultando em desperdícios e desgaste para indústria processadora. As análises de controle microbiológico do processo são de grande importância para detecção dos pontos mais favoráveis a contaminação.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Estudos mais aprofundados sobre as condições em que as bactérias do grupo *Pseudomonas* ssp. desenvolvem o pigmento azul podem ajudar os Laticínios que enfrentam este defeito de origem microbiológica.

REFERÊNCIAS

OCORRÊNCIA DE PIGMENTAÇÃO AZUL EM QUEIJO MINAS

AMARAL, J. A. et al. Variação das características físico-químicas e microbiológicas das salmouras empregadas na salga de queijos tipo mussarela durante o período de sua utilização. **Revista de Saúde Pública**, 1992.

CHIERICI, M. **Investigation on the blue phenotype in pseudomonas species involved in blue discoloration defect of fresh cheese**. 2016.

FURTADO, M. M. **QUEM MANCHOU O MEU QUEIJO? Causas físico-químicas e microbiológicas de manchas**. 2020. Disponível em: <<https://www.inovaleite.com/manchas-em-queijos>> Acesso: 09/07/2022.

MONTANHINI, M. T. M.; *Pseudomonas* em queijos: causas e defeitos tecnológicos. **Milkpoint**, colunas: Maíke Tais Maziero Montanhini. Out/2021. Disponível em: <<https://www.milkpoint.com.br/colunas/maike-tais-maziero-montanhini/pseudomonas-em-queijos-causas-e-defeitos-tecnologicos-227532/>> Acesso: 10/08/2022.

OLMO, A. del; CALZADA, J.; NUÑEZ, M. The blue discoloration of fresh cheeses: A worldwide defect associated to specific contamination by *Pseudomonas fluorescens*. **Food Control**, v. 86, p. 359-366, 2018.

RODRIGUES, R. da S.; MACHADO, S.G.; CARVALHO, A. F de.; NERO, L. A. *Pseudomonas* sp. as the causative agent of anomalous blue discoloration in Brazilian fresh soft cheese (Minas Frescal). **International Dairy Journal**, v. 117, p. 105020, 2021.