

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO RIO GRANDE DO SUL
UNIDADE CRUZ ALTA
BACHARELADO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS**

EDUARDA TATIÉLI DE SOUZA MONTEIRO

**AVALIAÇÃO DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE QUEIJOS COLONIAIS
COMERCIALIZADOS NO MUNICÍPIO DE IJUÍ-RS**

Trabalho de Conclusão de Curso

CRUZ ALTA

2023

EDUARDA TATIÉLI DE SOUZA MONTEIRO

**AVALIAÇÃO DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE QUEIJOS COLONIAIS
COMERCIALIZADOS NO MUNICÍPIO DE IJUÍ-RS**

Trabalho de Conclusão de curso, apresentado como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Ciência e Tecnologia de Alimentos pela Universidade Estadual do Rio Grande do Sul.

Orientador: Prof. Dr. Gilvane Souza de Matos

Coorientadora: Prof^a. Dr^a. Juliana de Mello Silva

CRUZ ALTA

2023

Catálogo de Publicação na Fonte

M775a Monteiro, Eduarda Tatiéli de Souza.
Avaliação da qualidade microbiológica de queijos coloniais comercializados no município de Ijuí-RS / Eduarda Tatiéli de Souza Monteiro. – Cruz Alta, 2023.
36 f.

Orientador: Prof. Dr. Gilvane Souza de Matos.
Coorientadora: Profa. Dra. Juliana de Mello Silva.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) – Universidade Estadual do Rio Grande do Sul, Curso de Bacharelado em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Unidade em Cruz Alta, 2023.

1. Análise Microbiológica. 2. Coliformes. 3. Queijo colonial. I. Matos, Gilvane Souza de. II. Silva, Juliana de Mello. III. Título.

Ficha catalográfica elaborada por Carina Lima CRB 10/1905

EDUARDA TATIÉLI DE SOUZA MONTEIRO

**AVALIAÇÃO DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE QUEIJOS COLONIAIS
COMERCIALIZADOS NO MUNICÍPIO DE IJUÍ-RS**

Trabalho de Conclusão de curso, apresentado como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Ciência e Tecnologia de Alimentos pela Universidade Estadual do Rio Grande do Sul.

Orientador: Prof. Dr. Gilvane Souza de Matos

Coorientadora: Profa. Dra. Juliana de Mello Silva

Aprovada em: 15/12/2023.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Gilvane Souza de Matos (Orientador)
Universidade Estadual do Rio Grande do Sul – UERGS

Prof. Dr. Paulo Afonso Carvalho
Universidade Estadual do Rio Grande do Sul – UERGS

Prof. Dr. Vilmar Antonio Boff
Universidade Estadual do Rio Grande do Sul - UERGS

**CRUZ ALTA
2023**

AGRADECIMENTOS

A Deus, sem ele nada, nunca seria possível.

Ao meu esposo Bruno Moura, pela paciência, incentivo e dedicação ao nosso lar, para que assim eu pudesse me dedicar a este trabalho.

À Universidade Estadual do Rio Grande do Sul, Unidade de Cruz Alta, pela oportunidade de realizar este curso de formação.

Ao laboratório da universidade, onde foram realizadas as análises das amostras, para que esse trabalho fosse concluído com sucesso.

Ao meu orientador, Orientador: Prof. Dr. Gilvane Souza de Matos, pela paciência e auxílio, para que eu pudesse concluir este trabalho.

Aos meus pais pelo apoio e incentivo, para que eu pudesse concluir esta jornada.

RESUMO

A análise microbiológica em alimentos possibilita a identificação da presença de microrganismos, sendo de maior preocupação os causadores de doenças. O queijo é um alimento consumido com muita frequência mundialmente, observando-se, nas diversas cidades brasileiras, o hábito do consumo de queijos coloniais artesanais. O presente trabalho teve como objetivo avaliar a qualidade microbiológica em amostras de queijos coloniais para detectar a presença de microrganismos totais, assim como o nível de patogênicos do grupo dos coliformes. Foram avaliadas cinco amostras de queijos comercializados em feiras livres do Município de Ijuí, RS, sendo quatro amostras de queijo colonial artesanal, mais uma amostra de queijo colonial elaborado por laticínio regularizado e com selo de inspeção sanitária. A técnica de tubos múltiplos, denominada de número mais provável (NMP) foi utilizada para a avaliação de coliformes totais e termotolerantes. O resultado indicou que todas as amostras avaliadas apresentaram contaminação por coliformes, sendo que duas apresentaram valor acima do permitido pela legislação sendo consideradas impróprias para o consumo.

Palavras-chave: Análise Microbiológica. Coliformes. Queijo colonial.

ABSTRACT

Microbiological analysis of foods makes it possible to identify the presence of microorganisms, the ones that cause diseases being of greatest concern. Cheese is a food consumed very frequently worldwide, with the habit of consuming colonial cheeses being observed in several Brazilian cities. The present work aimed to evaluate the microbiological quality in samples of colonial cheeses to detect the presence of total microorganisms, as well as the level of pathogens from the coliform group. Five samples were evaluated, including four samples of artisanal colonial cheese, sold in open-air markets in the Municipality of Ijuí, RS, plus a sample of colonial cheese made by a regulated dairy and with a health inspection seal. The multiple tube technique, called most probable number (NMP), was used to evaluate total and thermotolerant coliforms. The result indicated that all samples evaluated showed contamination by coliforms, with two showing values above those allowed by legislation and considered unfit for consumption.

Keywords: Microbiological Analysis. Coliforms. Colonial cheese.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	8
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	10
2.1 LEITE	10
2.2 QUEIJO E OS TIPOS DE PROCESSOS	10
2.3 QUALIDADE HIGIÊNICO-SANITÁRIA DOS QUEIJOS.....	12
2.3.1 Fatores de risco para a contaminação do queijo	13
2.3.2 Maturação e armazenamento do queijo	14
2.4 MICRORGANISMOS PRESENTES NO QUEIJO	14
2.4.1 <i>Salmonellas</i>	15
2.4.2 <i>Staphylococcus aureus</i>	15
2.4.3 Coliformes Totais e Fecais	16
2.4.4 Parâmetros Microbiológicos para o Queijo Frescal	17
3 METODOLOGIA	18
3.1 COLETA DAS AMOSTRAS.....	18
3.2 – ANÁLISE SENSORIAL.....	18
3.3 – ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS.....	19
3.3.1 Preparo das amostras	19
3.3.2 Análise da carga microbiana total.....	19
3.3.3 Análise de Coliformes Totais e Termotolerantes	19
3.3.4 Análise de <i>Escherichia coli</i>	20
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	21
5 CONCLUSÃO	29
REFERÊNCIAS.....	30

1 INTRODUÇÃO

As análises de microrganismos em alimentos é uma ferramenta indispensável para a avaliação da qualidade de alimentos, visando a segurança dos consumidores e o adequado comércio de produtos alimentícios. Alimentos contaminados por microrganismos causam problemas de saúde como náuseas, vômitos, cefaleia, diarreia, entre outras, sendo que, elas causam impactos econômicos negativos, podendo vir a tornar-se casos de saúde pública e ainda causar prejuízos econômicos para os fabricantes e pequenos produtores.

Para a elaboração e comercialização de queijos coloniais é de extrema importância que se realize a análise microbiológica, para que se tenha a garantia da boa qualidade do produto. O queijo possui um alto teor de proteína e gordura, além de conter vitaminas e minerais, sendo considerado um produto altamente perecível. O queijo também pode apresentar-se como uma ótima fonte de renda para pequenos produtores da agroindústria brasileira, porém seu processo de fabricação necessita de cuidados por apresentar alto risco de contaminações.

A boa qualidade do queijo depende da qualidade da matéria-prima e das Boas Práticas de Fabricação (BPF), que são cuidados com a higiene no momento do preparo do produto, com higiene do manuseador e demais etapas que incluem o armazenamento correto e condições de transporte até o cliente final, lembrando que mesmo após o seu preparo estar completo, o queijo artesanal pode ser contaminado (PODESTA, 2015).

A qualidade do leite está associada à carga microbiana inicial presente no produto, e quanto maior o número de contaminantes e a temperatura de estocagem, menor será o tempo de conservação deste produto (SILVEIRA, CARVALHO e TEIXEIRA, 1998). O leite produzido no Brasil apresenta, de maneira geral, altas contagens de microrganismos, demonstrando com isto que há deficiências na higiene de coleta e armazenamento do mesmo (CERQUEIRA et al., 1994).

Dentre os principais microrganismos contaminantes de queijos e leites destacam-se os coliformes termotolerantes, *Staphylococcus* spp., bolores e leveduras, *Salmonella* spp. *Escherichia coli* e *Listeria monocytogenes*. As bactérias

do grupo coliforme são consideradas como os principais agentes causadores de contaminação associados à deterioração de queijos, causando fermentações anormais e estufamento precoce dos produtos (OLIVEIRA et al., 1998; ALMEIDA e FRANCO, 2003).

O presente trabalho teve como objetivo geral avaliar as amostras de queijos coloniais comercializadas no município de Ijuí-RS, para detectar a presença de microrganismos totais e de patogênicos, tendo em vista a segurança alimentar. Para a avaliação da qualidade microbiológica foram analisadas seis amostras de queijos, verificando-se a carga total de microrganismos presentes, assim como presença e o nível de coliformes totais e coliformes termotolerantes.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 LEITE

O leite é uma secreção produzida pelas glândulas mamárias de mamíferos, possui coloração esbranquiçada, cheiro característico e gosto adocicado. Sua composição consiste em água e elementos sólidos, sendo eles: lipídeos, proteínas, carboidratos, sais minerais e vitaminas (BRITO et al, 2021).

Segundo o Ministério da Agricultura, o leite é o produto oriundo da ordenha completa, ininterrupta e em boas condições de higiene, de vacas sadias, bem alimentadas e descansadas (JUNIOR e CARRADA, 2009). Fonte de proteínas, gordura, carboidratos, minerais e vitaminas, indispensável para o desenvolvimento tanto de animais, como o humano. Por ser um dos primeiros alimentos consumidos, o leite e seus derivados possuem um consumo regular em todas as fases da vida humana (BRITO et al, 2021).

O leite é estéril, porém no momento da ordenha animal, ele já está sujeito a contaminação. Portanto, todos os fatores de processo de ordenha, armazenamento do leite, recipiente, temperatura, local e transporte do mesmo são de suma importância para manter a qualidade do alimento e para que não haja contaminação do mesmo por microrganismos. A contaminação microbiana prejudica a qualidade do leite, interfere na industrialização, reduz o tempo de prateleira do leite fluido e derivados lácteos e pode colocar em risco a saúde do consumidor (BRITO et al, 1998).

Existem muitos agentes causadores de doenças infecciosas que podem ser transmitidas ao homem pelo leite. Os patógenos mais importantes atualmente são: *Salmonella sp.*, *Escherichia coli* patogênica, *Listeria monocytogenes*, *Campylobacter jejuni*, *Yersinia enterocolitica* e *Staphylococcus aureus*. Lembrando que a maioria desses patógenos são destruídos no momento de pasteurização do leite, porém também existe a possibilidade de contaminação do leite após a pasteurização, mas esse fato já ocorre com bem menos frequência (BRITO et al, 2021).

2.2 QUEIJO E OS TIPOS DE PROCESSOS

O queijo é um dos principais derivados do leite, sendo fresco, maturado ou processado, produzido a partir da extração do soro do leite, ou através de leite

reconstituído. Fatores como o tempo de maturação é que determinam a classificação dos queijos e suas texturas (FEITOSA et al, 2003).

Indicado por nutricionistas, o queijo é um concentrado proteico gorduroso, embora o teor de gordura possa ser variável, de acordo com o tipo de queijo. Além de ser um alimento rico em proteínas e de alto valor calórico, também é uma fonte de vitamina A e minerais, como cálcio e fósforo. O queijo é considerado um alimento como fonte de proteína, de fácil acesso a todas as classes sociais, podendo ser consumido individualmente, ou acompanhado de um pão ou em receitas culinárias (SILVA, 2005).

Os queijos frescos são aqueles que, logo após a coagulação e a retirada do soro, estão prontos para consumo. No caso do queijo fresco, a fração proteica é coagulada a partir de leite fluido pasteurizado, adicionando-se sal, estando imediatamente pronto para o consumo. São exemplos de queijos frescos o de minas frescal, e o queijo de coalho. Estes tipos de queijos apresentam cor branca, sendo que os queijos amarelados normalmente passam por um período de maturação (PERRY, 2004).

Por ser um processo artesanal, o queijo frescal é muito manipulado, o que aumenta o risco de contaminação em todos os seus processos, até a embalagem. São alimentos altamente nutritivos, o que favorece o crescimento de microrganismos patogênicos. São exemplos: *Salmonella* spp., *Escherichia coli*, *Campylobacter* spp., *Listeria* spp., *Bacillus cereus*, *Brucella* spp. e *Staphylococcus aureus*. Esses patógenos são associados a surtos de infecções e intoxicações alimentares nos quais produtos lácteos, em especial, os queijos frescos são destaque (MARTINS, 2018).

O sabor do queijo é considerado mais rico e intenso em queijos quando produzidos com leite cru. Esse fato se deve principalmente à existência de uma grande microbiota nativa, geralmente presente em queijos feitos com leite cru, o que não é observado em queijos obtidos a partir do leite pasteurizado. Sua consistência é macia, cor esbranquiçada, com sabor suave ou levemente ácido, odor suave característico e geralmente não possui crosta ou apresenta uma crosta fina (MONTEL et al., 2014).

Os queijos maturados são adicionados de culturas lácticas, também chamadas de fermento, que são bactérias específicas para dar determinado aroma ou sabor ao leite. Cada uma dessas culturas precisa de uma determinada temperatura e umidade

para crescer e, também, de um tempo que pode ir de 20 dias a alguns meses ou até anos para darem o sabor específico do queijo. Quanto mais maturado, mais forte é o sabor do queijo (PERRY, 2004).

O queijo processado é um queijo com processamento térmico, obtido por trituração, mistura, fusão e emulsão por meio de calor e agentes emulsionantes de uma ou mais variedades de queijo, e ou especiarias, condimentos ou outras substâncias alimentícias na qual o queijo constitui o ingrediente lácteo principal, como matéria-prima preponderante na base láctea (BRASIL, 1997).

2.3 QUALIDADE HIGIÊNICO-SANITÁRIA DOS QUEIJOS

Os produtos lácteos, especialmente o leite cru, e em menor extensão os queijos, são vias de transmissão de diversos patógenos. Pelo fato de não passar por nenhum processo de pasteurização ou fermentação, os queijos elaborados a partir de leite cru tem sido responsáveis por surtos de toxinfecções enterohemorrágicas e enteroinvasivas (GERMANO e GERMANO, 2001).

Os queijos podem conter microrganismos desejáveis e indesejáveis. Os desejáveis irão contribuir para dar características típicas inerente ao produto, como sabor e aroma. Dentre os microrganismos desejáveis e não patogênicos temos as Bactérias ácido-lácticas (BAL) dos gêneros *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc* e *Enterococcus*. Também são considerados desejáveis os microrganismos secundários que incluem as BAL não iniciadoras, como espécies mesofílicas dos gêneros *Pediococcus* e *Lactobacillus*, e outros microrganismos a exemplo de *Micrococcus*, *Brevibacterium*, bactérias propiônicas, bactérias corineformes, bolores e leveduras (RESENDE, 2010).

A má qualidade microbiológica dos queijos coloniais está associada a muitas causas, como a qualidade de matéria-prima insatisfatória, que é motivado pela sanidade do rebanho e higiene no momento da ordenha do leite, uso de leite não pasteurizado, tratamento térmico inadequado, falta de higiene dos equipamentos, manipulação, armazenamento e a conservação inadequadas. A consequência é a presença de microrganismos indesejáveis gerando um produto inadequado ao consumo. Os coliformes fecais, *Staphylococcus sp.*, bolores e leveduras, estão entre

os microrganismos que predominam nas contaminações indesejadas em queijos (PINTO et al, 2011).

Para fabricar um queijo de qualidade, que seja seguro para o consumidor, é necessário tomar uma série de cuidados como a correta higienização da queijaria e do manipulador, já que geralmente as contaminações dos queijos ocorre por contato com mãos ou utensílios não higienizados. Portanto deve-se desenvolver os trabalhos com o máximo de higiene para evitar contaminações e adotar as Boas Práticas de Fabricação (SILVA JR., 2014).

Segundo a Embrapa (MACHADO, 2015), as Boas Práticas de Fabricação representam uma importante ferramenta da qualidade para o alcance de níveis adequados de segurança dos alimentos. Sua adoção é um requisito da legislação vigente, devendo ser aplicadas desde a recepção da matéria-prima, processamento, até a expedição de produtos. As normas tratam de diversos aspectos do processo produtivo do alimento, envolvendo a qualidade da matéria-prima, os ingredientes, a seleção de fornecedores, à qualidade da água, instalações industriais; controle de pessoal e do processo produtivo, incluindo registros de procedimentos e documentação necessária para a rastreabilidade.

2.3.1 Fatores de risco para a contaminação do queijo

Para o preparo do queijo, a matéria-prima deve ser obtida em condições higiênico-sanitárias ideais e deve ser conservada em local apropriado até o seu beneficiamento. As instalações e equipamentos devem ser higienizados corretamente, além de se ter comprovada a saúde dos manipuladores (MARTINS, 2018).

Alguns cuidados podem aplicados no momento da fabricação dos queijos artesanias, no sentido de evitar o crescimento de contaminantes, como a adição do fermento endógeno, popularmente chamado de pingo. Este ingrediente deve ser rico em bactérias lácticas e outros microrganismos não patogênicos, direcionando a fermentação para a obtenção de um produto seguro e também com características sensoriais desejadas. Outros processos que ajudam no controle da microbiota indesejável são a maturação e adição de cloreto de sódio na massa do queijo (DORES e FERREIRA, 2012).

É importante destacar que também há a possibilidade de contaminação dos queijos após o processo de elaboração. Esta contaminação pode ocorrer durante os processos de embalagem, transporte e exposição no local de comercialização. Toda etapa que envolve manipulação pode favorecer a contaminação do queijo (MARTINS, 2018).

2.3.2 Maturação e armazenamento do queijo

O processo de maturação é uma etapa importante, pois é nesse momento que se desenvolve o sabor e o aroma característico do queijo artesanal. Isso acontece devido as reações bioquímicas que ocorrem nesse período, essas transformações são responsáveis também pela redução da microbiota contaminante (DORES, 2007).

Durante a maturação ocorre a redução da quantidade de água e, por consequência, aumenta a concentração de sal. Nesta etapa também ocorre a formação de ácido lático pelas bactérias desejáveis, o que contribui para a preservação do produto final (PAULA, CARVALHO e FURTADO; 2009).

O ambiente onde ocorrerá a maturação dos queijos deve possuir um controle de temperatura, pois não pode ser muito quente e não pode possuir muita umidade. As paredes e pisos devem ser lisas e laváveis, assim como as prateleiras devem ser limpas e desinfetadas com frequência. O local não pode possuir portas e janelas, pois elas possibilitam a corrente de ar e o queijo seca rapidamente por fora. Para remover as sujidades e fungos que possam se formar na sua casca, os queijos devem ser lavados com água, sempre que necessário (LUZ et al., 2011).

2.4 MICRORGANISMOS PRESENTES NO QUEIJO

Os principais microrganismos de preocupação para saúde pública em relação ao queijo fresco são: *Salmonella* spp, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Brucella* spp., *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* e *Campylobacter* sp. esses são alguns exemplos de microrganismos patogênicos que estão relacionados a surtos de toxinfecções alimentares envolvendo o consumo de queijo produzido com leite cru (SANTOS, 2010).

2.4.1 *Salmonellas*

As *Salmonellas* são bastonetes gram-negativos, não formadores de esporos, sendo a maioria da espécie móvel. Elas multiplicam-se entre 7°C e 49,5°C, sendo 37°C a temperatura ideal para seu desenvolvimento. As infecções provocadas pelas bactérias do gênero *Salmonella*, família *Enterobacteriaceae*, são consideradas como as mais importantes causas de doenças transmitidas por alimentos, sendo de alta mortalidade, morbidade (GERMANO e GERMANO, 2001).

A contaminação ocorre através da infecção cruzada entre a matéria-prima contaminada, através das mãos, equipamentos, utensílios e bancadas de manipulação, por consequência de falta de higiene e da falta de Boas Práticas de Fabricação (SILVA JR., 2014).

A manifestação clínica aguda apresenta cólicas abdominais, náuseas, vômitos, diarreia, calafrios, febre, cefaleia, desidratação, fezes com sangue e exaustão. O seu período de incubação é de 8 a 22 horas e o quadro clínico pode persistir por 1 a 2 dias após o início dos sintomas, tendo a recuperação total em 3 a 4 dias do início da infecção (SILVA JR., 2014).

2.4.2 *Staphylococcus aureus*

Os microrganismos patogênicos, como espécies de *Staphylococcus*, podem ser encontrados em laticínios, uma vez que este grupo de bactérias está presente na pele e trato respiratório do manipulador de alimentos. Eles são responsáveis por sérias intoxicações alimentares, devido às toxinas que formam durante as fases de processamento e armazenamento dos produtos (PERRY, 2004).

As bactérias do gênero *Staphylococcus* estão naturalmente presentes na pele das membranas mucosas, no trato respiratório e do intestino do homem. Este é um grupo de bactérias mais resistentes a substâncias químicas, dentre todas as bactérias patogênicas não formadoras de esporos. Os *Staphylococcus* são bactérias gram-positivas, anaeróbicas facultativas e apresentam reação positiva para produção da enzima catalase. Este, no entanto, é um microrganismo que não resiste ao calor, sendo facilmente destruído na pasteurização do leite, por exemplo (SILVA et al., 2010).

A contaminação de alimentos por bactérias do gênero *Staphylococcus* ocorre por ação do manipulador, ao tocar nos alimentos preparados, por tossir e espirrar ou, utilizar panos para o contato com os alimentos. Quando esta bactéria infecta os consumidores, o início dos sintomas é geralmente rápido, de natureza aguda e ocorre pela ingestão de alimentos inicialmente contaminados com a bactéria (FRANCO e LANDGRAF, 2003).

Estas bactérias multiplicam-se entre 7°C e 48°C, sendo 37°C a temperatura ideal para o seu desenvolvimento. Ele é considerado como um dos mais frequentes causadores de surtos de toxinfecção, devido ao importante papel desempenhado pelos manipuladores. A contaminação do alimento pode ocorrer durante as diferentes etapas de processamento, desde a manipulação das matérias-primas até o contato com o alimento já elaborado (GERMANO e GERMANO, 2001).

2.4.3 Coliformes Totais e Fecais

No grupo de Coliformes Totais encontram-se a *Escherichia coli*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Serratia* e *Klebsiella*. Sua presença em alimentos ocorre através das fezes do homem e animais, contaminação dos vegetais, solo e águas residuais (JAY, 2005).

Os Coliformes Fecais são praticamente caracterizados pela bactéria ***Escherichia coli***, uma enterobactéria gram-negativa, catalase-positiva e oxidase-negativa, não esporogênica (GERMANO e GERMANO, 2001). A via de transmissão se dá pelas práticas insatisfatórias de higiene, contaminação de origem fecal e água contaminada com despejos de esgoto, ou por qualquer alimento exposto a contaminação fecal, seja através da água de preparo ou dos manipuladores infectados, que são capazes de veicular a *E. coli*.

Os sintomas das infecções causadas por *E.coli* tem período médio de incubação de 36 horas (17 a 72 horas) e caracteriza-se por diarreia aquosa com grande quantidade de muco, náuseas, dores abdominais, vômitos, cefaleia, febre e arrepios. A remissão dos sintomas dá-se, em 24 horas mais pode ocorrer entre 6 horas e 3 dias (FRANCO e LANDGRAF, 2003).

Existem seis principais grupos patogênicos de *E. coli* que afetam o intestino dos seres humanos: *E. coli* produtora de toxina Shiga (STEC), também chamada *E. coli* produtora de verotoxinas (VTEC); *E. coli* enterohemorrágica (EHEC), sendo a sepa

patogênica mais importante em termos de infecções por queijos produzidos com leite cru; *E. coli* enteropatogênica (EPEC); *E. coli* enterotoxigênica (ETEC); *E. coli* enteroagregativa (EAEC); *E. coli* enteroinvasiva (EIEC); e *E. coli* de aderência difusa (DAEC) (FARROKH et al., 2013).

A contaminação do queijo pode ocorrer de várias formas, inclusive pode ser consequência das matérias-primas contaminadas. A contaminação após o preparo também é possível, por este motivo, ele deve ser armazenado a uma temperatura inferior a 8°C durante seu processo de estocagem assim como nos locais de venda (COSTA et al., 2019).

As bactérias têm a capacidade de alterar o seu material genético, através de elementos genéticos móveis como plasmídeos e bacteriófagos, conseguindo adaptar-se a novos ambientes, contribuindo esta característica para o aparecimento de bactérias patogênicas intestinais mais agressivas e que se tornam resistente aos antimicrobianos já existentes, causando surtos de doenças em humanos (FDA, 2016).

2.4.4 Parâmetros Microbiológicos para o Queijo Frescal

A qualidade microbiológica do queijo frescal é estabelecida pela Portaria Nº 146 de 07 de março de 1996 do Ministério da Agricultura do Abastecimento e da Reforma Agrária (BRASIL, 1996). A tabela 1 apresenta os parâmetros permitidos para inspeção de agentes patógenos nos queijos frescal.

Tabela 1 - Padrões Microbiológicos para queijo minas frescal

Parâmetros Microbiológicos	Critérios de Inspeção
Coliformes a 30°C/g	n=5 c=2 m=5.000 M=10.000
Coliformes a 45°C/g	n=5 c=2 m=1.000 M=5.000
Estafilococos coagulase positiva/g	n=5 c=2 m=100 M=1.000
<i>Salmonella</i> spp/25g	n=5 c=0 m=0
<i>Listeria monocytogenes</i> /25g	n=5 c=0 m=0

Plano de Amostragem (n; c; m; M), onde, n: corresponde ao número de unidades a serem colhidas aleatoriamente de um mesmo lote e analisadas individualmente; c: corresponde o número máximo aceitável de unidades de amostras com contagens entre os limites de m e M; m: é o limite que, em um plano de três classes, separa o lote aceitável do inaceitável; M: é o limite que, em um plano de duas classes, separa o lote aceitável do inaceitável. Fonte Portaria Nº 146 de 07 de março de 1996 do Ministério da Agricultura do Abastecimento e da Reforma Agrária (BRASIL, 1996).

3 METODOLOGIA

Neste trabalho foram analisadas 05 amostras de queijos coloniais, obtidos em feiras livres e supermercado no município de Ijuí RS.

Realizaram-se análises microbiológicas em triplicata, sendo as amostras submetidas a contagem padrão e à técnica do Número Mais Provável (NMP). Estas análises buscam avaliar a carga microbiana total e o nível de contaminação por bactérias do grupo dos coliformes. As análises realizadas seguiram a metodologia determinada pela Instrução Normativa nº 62/2003 (BRASIL, 2003) do Ministério da Agricultura e Pecuária e Abastecimento (MAPA).

As análises foram realizadas no Laboratório de Alimentos da Universidade Estadual do Rio Grande do Sul (UERGS), unidade de Cruz Alta/RS.

3.1 COLETA DAS AMOSTRAS

As amostras coletadas foram acondicionadas em embalagens de plásticos estéreis e, codificadas separadamente como Q1, Q2, Q3, Q4 para os queijos coloniais e, I5 para queijo com a inspeção sanitária, adquirido em supermercado. Em seguida as amostras foram acondicionadas em caixas isotérmicas com gelo, para conservação da qualidade microbiológica, mantidas sob refrigeração com temperatura média de 4°C durante o transporte para o laboratório.

As amostras foram submetidas à análises sensorial e microbiológicas.

3.2 – ANÁLISE SENSORIAL

As amostras de queijos foram avaliadas quanto aos aspectos visuais e organolépticos de cor, odor e sabor. Também foram observados e comparados entre as amostras, a presença de olhaduras, acidez e aspecto visual. Desta maneira, buscou-se obter mais informações em relação aos queijos analisados.

3.3 – ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS

As análises microbiológicas compreendem a avaliação da carga microbiana total e de bactérias do grupo dos coliformes.

3.3.1 Preparo das amostras

Foram pesados, de forma asséptica, 25 gramas de cada amostra de queijo. Logo após, as amostras colocadas em um recipiente contendo 225mL de água peptonada a 0,1%(m/v), sendo homogeneizadas para obter-se a diluição de 10^{-1} . Esta amostra diluída foi utilizada para os testes de carga microbiana total e bactérias do grupo dos coliformes.

3.3.2 Análise da carga microbiana total

Para a avaliação da carga microbiana total, para cada amostra foi utilizada uma alíquota de 1mL da solução que contém a amostra de queijo coletado, diluída em água peptonada a 0,1%(m/v) (diluição 10^{-1}).

A partir desta diluição, realizou-se outras duas diluições (10^{-2} e 10^{-3}), misturando-se 1mL da amostra em 9mL de solução salina peptonada 0,1% e homogeneizando-se por aproximadamente 60 segundos. Na sequência, verteu-se 1mL de cada amostra e cada diluição em placas de Petry contendo 15 ml de Ágar Padrão para Contagem (PCA). Essas placas foram incubadas a 35°C por 48 horas para posterior contagem das colônias, sendo o resultado calculado e expresso em unidades formadoras de colônia por grama de queijo (UFC/g).

3.3.3 Análise de Coliformes Totais e Termotolerantes

A pesquisa de coliformes nos alimentos é utilizada como indicador das condições higiênico sanitárias do ambiente onde foi produzido e do indivíduo que manipulou o alimento.

Para ser realizada a determinação de coliformes totais e termotolerantes foi empregada à técnica do número mais provável (NMP).

Foram selecionadas 3 diluições adequadas da amostra e transferidos 1mL para tubos contendo caldo lauril sulfato triptose (LST) que continham tubos de Duhran invertidos. Essa técnica baseia-se em teste presuntivo.

Após a incubação a 35°C, por 48 horas, dos tubos positivos que apresentaram turvação e produção de gás, é utilizada a técnica de teste confirmativo, onde foi transferida uma alçada para cada um dos dois tubos contendo caldo verde brilhante bile incubado a 35°C, por 48 horas, para verificar a presença de coliformes totais. E outro contendo caldo E.C incubado a 45°C, por 24 horas, em banho maria, para detecção de coliformes termotolerantes (SILVA, 2017).

No grupo de Coliformes Totais estão a *Escherichia coli*, *Enterobacter*, *Citrobacter* e *Klebsiella*. Já no grupo de Coliformes Fecais encontramos a *Escherichia coli*.

3.3.4 Análise de *Escherichia coli*.

Dos tubos positivos para o meio E.C. alíquotas 1mL das diluições foram semeadas em placas de Petri contendo meio de cultura ágar eosina azul de metileno (EMB) e posteriormente incubadas de 35 a 37°C por 24 horas para contagem de *Escherichia coli*. Esse meio é uma prova bioquímica para controle positivo da bactéria (SCHER et al, 2018).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A elaboração de queijo é de tradição familiar, que vem sendo repassada de geração para geração e traz consigo uma grande problemática, principalmente pela utilização do leite cru como matéria prima. A falta de pasteurização estabelece uma possibilidade da presença de bactérias indesejáveis no alimento, colocando em risco a saúde dos consumidores. Este é um problema de saúde pública que está presente em diversas cidades no Brasil e que está associado a este tipo de queijo.

Como é uma exigência legal, os laticínios regularizados realizam a prévia pasteurização do leite. Para a elaboração de um queijo com aparência e aroma semelhantes ao queijo colonial artesanal são adicionados fermentos específicos. Neste sentido, obtém-se um produto seguro, denominando-se de queijo “tipo colonial”.

Para a avaliação da qualidade microbiológica dos queijos avaliados neste trabalho optou-se por obter amostras em comércios populares, com indicativo de produção artesanal. Uma amostra foi adquirida em um supermercado, sentido de se obter um queijo elaborado por laticínio regularizado e, possivelmente atendendo os padrões de higiene e qualidade exigidos pela legislação.

Inicialmente as amostras de queijos foram encaminhadas ao laboratório onde foram conduzidas as análises de aparência, padrão sensorial e microbiológicas.

A amostra Q1 foi adquirida em um mercado de bairro na cidade de Ijuí-RS. O queijo estava embalado em saco plástico transparente sem rotulagem ou informações nutricionais, data de fabricação ou lista de ingredientes. O queijo (figura 1) apresentava casca levemente pastosa, cor amarelo claro, olhaduras presentes em grandes quantidades, odor forte. Esta amostra posteriormente apresentou carga contaminante altíssima.

A amostra Q2 foi adquirida em uma fruteira na cidade de Ijuí-RS. O queijo não estava embalado e, no momento da compra, foi colocado em sacola plástica simples. Como características sensoriais, este queijo (figura 2) apresentou casca normal, cor amarelo escuro, com poucas olhaduras, odor forte e característico.

Figura 1 – Amostra Q1. Queijo colonial, adquirido em mercado de um bairro na cidade de Ijuí-RS.



Fonte: Autora, 2022.

Figura 2 - Amostra Q2. Queijo colonial, adquirido em uma fruteira na cidade de Ijuí-RS.



Fonte: Autora, 2022.

A amostra Q3, foi adquirida em uma feira de produtores no centro da cidade de Ijuí-RS. O queijo estava embalado em saco plástico transparente sem informações nutricionais, data de fabricação ou lista de ingredientes. Este queijo (figura 3) apresentou casca fina, com poucas olhaduras pequenas, apresentando cor amarelo claro e odor característico.

Figura 3 - Amostra Q3. Queijo colonial, adquirido em uma feira de produtores rurais na cidade de Ijuí-RS.



Fonte: Autora, 2022.

A amostra Q4, foi adquirida em uma feira de produtos coloniais na cidade de Ijuí-RS. Neste caso foi necessário realizar um encomenda prévia pois o vendedor não possui estoque e somente fornece para o atendimento da prévia reserva que consumidores realizam. Este queijo estava embalado em plástico transparente simples, sem rótulo, informações nutricionais, data de fabricação ou validade. Na avaliação sensorial o queijo (figura 4) apresentou casca úmida, cor amarelo clara característica, algumas olhaduras e odor suave.

Figura 4 - Amostra Q4. Queijo colonial, adquirido em uma feira de produtos coloniais na cidade de Ijuí-RS.



Fonte: Autora, 2022.

A amostra I5 foi adquirida em uma feira de produtores rurais na cidade de Ijuí-RS. O queijo estava armazenado em refrigerador com portas fechadas, em um ambiente aparentemente limpo. O produto, no entanto, não estava embalado, apresentando um adesivo colado no próprio queijo com todas as informações nutricionais, ingredientes e com selo de inspeção. Na avaliação sensorial o queijo (figura 5) apresentou casca um pouco seca, cor amarelo escuro, olhaduras ausentes, com odor suave, aparência oleosa com indicativo de ser um queijo mais gorduroso.

Figura 5 - Amostra I5. Queijo colonial, adquirido em uma feira de produtores rurais na cidade de Ijuí-RS.



Fonte: Autora, 2022.

Para a avaliação da qualidade microbiológica em alimentos a metodologia de tubos múltiplos é uma técnica que apresenta uma estimativa da densidade de bactérias do grupo coliforme por número mais provável (NMP). De acordo com o número de tubos com resultado positivo ou negativo, realiza-se uma estimativa do grau de contaminação da amostra em análise.

A metodologia utilizada é recomendada oficialmente e seguiu os parâmetros de inspeção do Decreto nº44.864 de 01 de agosto de 2008, e a RDC nº12 de 2001 da ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) (BRASIL, 2001). Os queijos foram analisados quanto aos números de bactérias totais, coliformes totais e coliformes termotolerantes. Os resultados estão presentes a seguir, sendo resumidamente apresentados na tabela 2.

Tabela 2 – Resultados da avaliação da qualidade microbiológica de cinco amostras de queijos coloniais comercializados na cidade de Ijuí, RS

Amostra	Bactérias totais (UFC/g)	Coliformes totais (UFC/g)	Coliformes termotolerantes (UFC/g)
Q1	$3,84 \times 10^6$	Superior à $1,1 \times 10^5$	Superior à $1,1 \times 10^5$
Q2	$1,64 \times 10^7$	$1,5 \times 10^3$	$2,0 \times 10^2$
Q3	$2,81 \times 10^6$	Superior à $1,1 \times 10^5$	Superior à $1,1 \times 10^5$
Q4	$1,96 \times 10^5$	$4,3 \times 10^2$	3
I1	$4,85 \times 10^3$	$2,4 \times 10^3$	$7,5 \times 10^2$
Valor máximo permitido	Não há	$1,0 \times 10^4$	5×10^3

Q1, Q2, Q3 e Q4 = queijos coloniais de fabricação artesanal. I1 = queijo produzido por laticínio. UFC/g = unidade formadora de colônia por grama de queijo.

Fonte: Autora 2022.

A avaliação do número de bactérias totais indica a presença de microrganismos em geral, não necessariamente indicando a presença de contaminantes nos queijos, uma vez que os *Lactobacillus* e *Streptococcus* também são microrganismos esperados neste tipo de produto e não são patogênicos. Durante a contagem, em placas foi possível observar colônias de bactérias com morfologia diferente. Foram observadas colônias de tamanho grande e pequeno, indicando que pelo menos dois grupos bastante distintos de bactérias estavam presentes em uma mesma amostra.

A aplicação do teste do Número Mais Provável (NMP) evidenciou que as amostras Q1 e Q3 apresentaram alto grau de contaminação, sendo consideradas impróprias para o consumo humano. Os níveis de coliformes termotolerantes e totais apresentaram valores superiores ao permitido pela legislação.

As amostras Q2, Q4 e I1 foram consideradas próprias para o consumo, mesmo apresentando um pequeno grau de contaminação por bactérias indesejáveis.

Embora tenha apresentado um nível de contaminantes dentro do permitido, a amostra Q2 apresentou valores consideráveis de contaminantes, tanto de coliformes termotolerantes como de coliformes totais. Este resultado indica que as condições de higiene na elaboração do queijo estão próximas do desejado. Na avaliação sensorial, este tipo de queijo apresentou textura firme e aparência de ser um produto que passou por um processo de maturação. Segundo Cislighi e Badaró (2021), o processo de elaboração e maturação pode contribuir para reduzir a carga de contaminantes. Os

autores, no entanto, destacam que o processo de maturação não deve ser entendido como uma etapa que deve ser utilizada no sentido de reduzir a contaminação microbiológica dos queijos. Se a matéria-prima for de baixa qualidade, os padrões de qualidade não serão alcançados.

A amostra Q4 apresentou valores de coliformes termotolerantes e valores de coliformes totais dentro do permitido pela legislação. Embora tenha apresentado certo nível de contaminação, a qualidade microbiológica do queijo avaliado da amostra Q4 apresentou-se superior à do queijo da amostra Q2. Os níveis de coliformes termotolerantes (3 UFC/g) são considerados bastante baixos e, indicando um nível de higiene próximo ao satisfatório na elaboração do produto. Neste tipo de amostra, o crescimento em placa apresentou o crescimento de mais de um tipo de colônia, indicando que existem espécies diferentes de bactérias presentes na amostra.

A amostra I5, apresentou valores de coliformes termotolerantes e coliformes totais inferiores ao permitido pela legislação vigente, sendo assim considerada próprio para consumo humano. Por ser elaborado por laticínio regularizado, pressupõe-se que o queijo I5 foi elaborado com leite pasteurizado. Neste caso, seria esperado que esta amostra não poderia apresentar fermentação com gás, indicativo de presença de coliformes. Como a fermentação gasosa foi observada, pressupõe-se que houve contaminação após o processo de industrialização. Como o queijo não estava acondicionado em embalagem plástica ou de outro tipo, existe a possibilidade da contaminação ter ocorrido por contato com as mãos ou utensílios após a elaboração do produto.

Do total de cinco amostras de queijos avaliados neste trabalho, três foram consideradas aptas para o consumo, no entanto 100% apresentaram algum nível de contaminantes, tanto para a presença de coliformes totais como de coliformes termotolerantes

Dentre o grupo dos coliformes termotolerantes, as amostras foram posteriormente transferidas para meios de cultura específicos, confirmando a presença da bactéria *Escherichia coli*, portanto, uma contaminação de origem fecal. Este tipo de resultado indica falta de cuidados com higiene e que, em alguma etapa do processo, os queijos entraram em contato com contaminação de origem fecal.

Um alto nível de contaminação pode estar relacionado com má condição higiênica de ordenha, de conservação do leite, falta de pasteurização do leite, assim como nas condições de elaboração dos queijos, falta de higiene, ou algum outro detalhe que está passando despercebido e ocorrendo a contaminação dos queijos e assim colocando em risco a saúde dos consumidores.

Destaca-se que as Boas Práticas de Fabricação (BPF) são procedimentos já estabelecidos em lei, sendo obrigatórios para qualquer tipo de estabelecimento que elabore ou comercialize alimentos. As BPF têm o objetivo de proporcionar a elaboração de um alimento seguro.

Seria de suma importância que a vigilância sanitária local e os membros de comissão de inspeção municipal, realizassem visitas aos pequenos produtores rurais, para verificar as condições de higiene e preparo dos alimentos. Assim como promover cursos de capacitação, explicando as normas e regras que devem ser seguidas para que a produção de queijo seja realizada dentro das normas exigidas pela legislação vigente, para que o produto possa de ser consumido, e seja produzido com redução na carga de microrganismos patógenos.

5 CONCLUSÃO

Do total de cinco amostras de queijos avaliados neste trabalho, três foram consideradas aptas para o consumo, no entanto 100% apresentaram algum nível de contaminantes, tanto para a presença de coliformes totais como de coliformes termotolerantes. Este tipo de resultado indica que, em alguma etapa do processo, os queijos entraram em contato com contaminação de origem fecal. Em duas amostras a contaminação foi considerada muito alta e os queijos considerados impróprios para o consumo.

Para ocorrer a redução da contaminação do queijo colonial artesanal, devem ser seguidas normas de higiene como as Boas Práticas de Fabricações (BPF), as quais possuem como objetivo controlar a contaminação.

Ações permanentes de orientação e treinamento de manipuladores de alimentos são necessárias, no sentido de alcançar níveis adequados de higiene na elaboração de queijos coloniais. É importante que ocorram vistorias da vigilância sanitária nos locais onde esses queijos estão sendo produzidos para que não ocorra nenhum surto de intoxicação alimentar por consequência do consumo de queijos coloniais com alta carga de microrganismos patógenos.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, P. M. P.; FRANCO, R. M. Avaliação bacteriológica de queijo tipo minas frescal com pesquisa de patógenos importantes à saúde pública: *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* sp e coliformes fecais. **Revista Higiene Alimentar**, v. 17, n. 11, p. 79-85, 2003.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº 146, de 07 de março de 1996. **Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Queijos**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Brasília, DF, 1996.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Portaria nº 356, de 04 de setembro de 1997. **Regulamento técnico para fixação de identidade e qualidade de queijo processado ou fundido, processado ou pasteurizado**. Disponível em: <<https://www.defesa.agricultura.sp.gov.br/legislacoes/portaria-ma-356-de-04-09-1997,672.html>>. Acesso em 05/04/2023.

BRASIL. Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001. Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, n. 7-E, p. 46-53, seção I. 2001.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Abastecimento. Instrução Normativa nº 62, de 26 de agosto de 2003. Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água. **Diário Oficial da União**, seção I, p.14-51, Brasília, DF, 18 set. 2003

BRITO, J. R. F.; BRITO, M. A. V. P. **Qualidade Higiênica do Leite**. Folhetos Embrapa. n.62, documento 02, Setembro, 1998.

BRITO M. A.; BRITO J. R.; ARCURI E. F.; LANGE C. C.; SILVA M. R.; SOUZA G. N.; **Agronegócio do Leite, Composição**. Dezembro, 2021.

CERQUEIRA, M.M.O.P.; SOUZA, M.R.; RODRIGUES, R.; FONSECA, L.M.; RUBINICH, J.; QUINTÃES, I.A. Alguns parâmetros microbiológicos de leite cru colhido em estabelecimento industrial e de leite beneficiado comercializado em Belo Horizonte (MG). **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 46, n. 6, p. 713-721, Dec. 1994.

CISLAGHI, F.P.C; BADARÓ, A.C.L. Dilemas da produção de queijo colonial artesanal do sudoeste do Paraná. **Faz Ciência**, v. 23, n. 37, p. 108-124, 2021. Disponível em: <<https://e-revista.unioeste.br/index.php/fazciencia/article/download/27011/17204/101702#:~:text=Os%20microrganismos%20contaminantes%20mais%20prevalentes,brasileiros%20s%C3%A3o%20coliformes%20e%20Staphylococcus.>>. Acesso em: 05/06/2022.

COSTA, R.G.B.; MARTINS, M.F.; MENDONÇA, J.F.M.; BORGES, M.F. **Controle de qualidade em queijo minas padrão**. Embrapa. Brasília-DF, 2019. Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/206817/1/Livro-queijo-minas-2019.pdf>>. Acesso em: 05/06/2022.

DORES, M. T. Queijo Minas Artesanal da canastra maturado à temperatura ambiente e sob refrigeração. 2007, 91f. **Dissertação** (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2007.

DORES, M. T.; FERREIRA, C. L. L. F. Queijo Minas Artesanal, tradição centenária: ameaças e desafios. **Revista Brasileira de Agropecuária Sustentável (RBAS)**, v.2, n.2, p.26 – 34, dezembro, 2012.

FARROKH, C.; JORDAN, K.; GLASS, K.; OPPEGAARD, H.; RAYNAUD, S.; THEVENOT, D.; CONDRON, R.; REU, D.; GOVARIS, A.; HEGGUM, K.; HEYNDRIKX, M.; HUMMERJOHANN, J.; LINDSAY, D.; MISZCZYCHA, S.; MOUSSIEGT, S.; VERSTRAETE, K.; CERF, O. Review of Shiga-toxinproducing *Escherichia coli* (STEC) and their significance in dairy production. **Journal of Food Microbiology**, 162: 190-212. 2013.

FDA: U. S. Food & Drug Administration. Raw Milk Cheese Aged 60 Days. Microbiological Sampling Assignment, Summary Report. Center for Food Safety and Applied Nutrition. 2016. Disponível em: <<https://www.fda.gov/files/food/published/FY2014%E2%80%932016-Microbiological-Sampling-Assignment-Summary-Report--Raw-Milk-Cheese-Aged-60-Days.pdf>>. Acesso em 05/04/2023.

FEITOSA, T.; BORGES, M.F.; NASSU, R.T.; AZEVEDO, EH. F.; MUNIZ, C.R. Pesquisa de *Salmonella* sp., *Listeria* sp. e microrganismos indicadores higiênico-sanitários em queijos produzidos no estado do Rio Grande do Norte. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, dez. 2003. Disponível em:<<https://www.scielo.br/j/cta/a/mKTXBM5t9N6XXXpBZFz6sWw/>>. Acesso em 05/04/2023.

FRANCO, B.F.G. de M & LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Ed. Atheneu, 2005

GERMANO, M. I. S.; GERMANO, P. M. L. **Qualidade das matérias-primas, Higiene e Vigilância Sanitária de alimentos**. Livraria Varela, 2º ed., São Paulo, 2001.

JAY, J.M. **Microbiologia de alimentos**. 6 ed., Porto Alegre: Artmed. 2005. 711p.

JUNIOR, J. M. S.; CARRARA, D. K. **Leite, Ordenha mecânica de bovinos**. Coleção Senar, n.135, p.13. 2009.

LUZ, J. C. S. et al. **Queijo artesanal serrano: manual técnico para implantação de Boas Práticas de Fabricação**. Porto Alegre: EMATER – RS: ASCAR, 2011. 72p.

MACHADO, R.L.P; DUTRA, A.S.; PINTO, M.S.V. **Boas Práticas de Fabricação (BPF)**. Rio de Janeiro : Embrapa Agroindústria de Alimentos – Documentos 120, 2015. Disponível em: < <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/132846/1/DOC-120.pdf>>. Acesso em 05/04/2023.

MARTINS M. G.G. **Patógenos em queijos artesanais e os fatores de risco para sua ocorrência**. Trabalho de Conclusão, Curso de Especialização em Microbiologia. Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2018. Disponível em: <https://repositorio.ufmg.br/bitstream/1843/ICBB-BD9TZR/1/corre__o_monog_cd.pdf>. Acesso em 05/04/2023.

MONTEL, M.C. et al. Traditional cheeses: Rich and diverse microbiota with associated benefits. **International Journal of Food Microbiology**, v.177, p. 136-154, 2014.

OLIVEIRA, C.A.F.; MORENO, J.F.G.; MESTIERI, L.; GERMANO, P.M.L. Características físico-químicas e microbiológicas de queijos Minas Frescal e Mussarela, produzidos em algumas fábricas de laticínios do Estado de São Paulo. **Higiene Alimentar**, v.12, n.55, p.31-35, 1998.

PAULA, J. C. J.; CARVALHO A. F., FURTADO M. M.; Princípios básicos de fabricação de queijo: do histórico à salga. **Revista do Instituto Laticínio “Cândido Tostes”**, Mar/Jun, nº 367/368, 64: 19- 25, 2009.

PERRY, K. S. P. Queijos: aspectos químicos, bioquímicos e microbiológicos. **Química Nova**, Belo Horizonte – MG, v. 27, n.2, 293-300, 2004. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/qn/a/nrmhRjf7kXfPXszfrXmRh9m/?format=pdf&lang=pt>>. Acesso em 05/04/2023

PINTO F. S. G.; SOUZA M.; SALING S.; MOURA A.C. Qualidade microbiológica de queijo Minas Frescal comercializados no município de Santa Helena, PR, Brasil. **Revista Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.78, n.2, p.191-198, abr./jun., 2011.

PODESTA Marcelo. **Ideias de negócios: Como montar uma fábrica de queijo artesanal**. Sebrae, agosto 2015. Disponível em:<https://bibliotecas.sebrae.com.br/chronus/ARQUIVOS_CHRONUS/IDEIAS_DE_NEGOCIO/PDFS/244.pdf>. Acesso em 05/04/2023.

RESENDE, M. F. S. Queijo Minas Artesanal da Serra da Canastra: influência da altitude e do nível de cadastramento das queijarias nas características físico-químicas e microbiológicas. 2010, 72f. **Dissertação (Mestrado em ciência animal)** Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2010.

SANTOS, A.S. Queijo minas artesanal da microrregião do Serro-MG: efeito da sazonalidade sobre a microbiota do leite cru e comportamento microbiológico durante a maturação. 2010. 68 f. **Dissertação - Mestrado em Produção Animal** - Faculdade de Ciências Agrárias, Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina, 2010.

SCHER D.D; LIMA A.P.F; FIGUEIRA P.T; HOSCHEID J. Ocorrências de *Escherichia coli* e *Staphylococcus sp.* em queijos do tipo Minas Frescal comercializados em feiras livres e supermercados no oeste do Paraná. REBRAPA, **Brazilian Journal of Food Research**. Campo Mourão, v. 9 n. 4, p. 105-120, out./dez. 2018.

SILVA Fernando T. **Queijo minas frescal**. Embrapa Informações Tecnológicas. Brasília DF, 2005. Disponível em:<<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/116395/1/00076200.pdf>>. Acesso em: 05/04/2023.

SILVA, N. et al. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água**. 4. ed. São Paulo: Livraria Varela, 2010. 632p.

SILVA JR, E. A. da. **Manual de Controle Higiênico Sanitário em Serviços de Alimentação**. 7.ed. São Paulo: Varela Editora, 2014.

SILVA, N. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água**. 5a ed Ed. Blucher, São Paulo, 2017.

SILVEIRA, I.A.; CARVALHO; E.P.; TEIXEIRA, D. Influência de Microrganismos Psicotróficos Sobre a Qualidade do Leite Refrigerado: uma revisão. **Revista Higiene Alimentar**. V.12(55), p, 21-27, São Paulo, 1998.