



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE NUTRIÇÃO**



RHAYANE IDALYNE CARVALHO

**ANÁLISE DAS CONDIÇÕES MICROBIOLÓGICAS DE QUEIJOS MINAS
FRESVAL VENDIDOS EM JOÃO PESSOA-PB**

João Pessoa - PB

2014

RHAYANE IDALYNE CARVALHO

**ANÁLISE DAS CONDIÇÕES MICROBIOLÓGICAS DE QUEIJOS MINAS
FRESVAL VENDIDOS EM JOÃO PESSOA-PB**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Departamento de
Nutrição da Universidade Federal da Paraíba, como requisito
obrigatório para obtenção do título de Bacharel em Nutrição
Orientadora: Prof.^aDr.^a Maria Lúcia da Conceição

João Pessoa - PB

2014

C331a Carvalho, Rhayane Idalyne.

Análise das condições microbiológicas de queijos minas frescal vendidos em João Pessoa-PB / Rhayane Idalyne Carvalho - - João Pessoa: [s.n.], 2014.
44f. : il.

Orientadora: Maria Lúcia da Conceição.
Monografia (Graduação) – UFPB/CCS.

1. Queijo Minas frescal. 2. Microbiologia. 3.
Contaminação - Alimentos.

RHAYANE IDALYNE CARVALHO

**ANÁLISE DAS CONDIÇÕES MICROBIOLÓGICAS DE QUEIJOS MINAS
FRESCAL VENDIDOS EM JOÃO PESSOA-PB**

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao Departamento de Nutrição da Universidade Federal da Paraíba, como requisito obrigatório para a obtenção do título de Bacharel em Nutrição, com linha específica em Microbiologia dos Alimentos.

APROVADO EM _____

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dr^a. Maria Lúcia da Conceição
Departamento de Nutrição/ CCS/UFPB
(Orientadora)

Msc. Isabella de Medeiros Barbosa
(Examinadora)

Msc. Jossana Pereira de Sousa
(Examinador)

*À Deus, por mais uma etapa vencida na
minha vida.*

*Aos meus pais, Severino André Carvalho e
Maria do Rosário de Fátima Carvalho.*

*Ao meu irmão, Severino André Carvalho
Segundo.*

*A minha amada avó, Iraci Cordeiro
Barbosa.*

Dedico

AGRADECIMENTOS

À Deus, por me ter proporcionado a sapiência necessária para que eu pudesse realizar todos as minhas pretensões acadêmicas.

Aos meus pais, sobretudo a minha mãe, Maria do Rosário de Fátima Carvalho, que sempre me apoiou e agiu como agente facilitadora, tentando realizar todos os meus anseios devido a sua bondade e amor perene.

À minha avó, Iraci Cordeiro Barbosa, por todas as palavras doces proferidas, por todas as orações intencionadas, e por todo orgulho a tudo pude conquistar ao longo dos anos.

As minhas amigas de caminhada acadêmica: Edjeise de Oliveira Cunha, Laís Carvalho, Ingrid Gianni, Flávia Mantovani e Vitória Ramalho. Sem vocês, a caminhada teria sido mais dificultosa.

A todos os amigos que conquistei no Laboratório de Microbiologia e Bioquímica dos Alimentos.

A minha amiga, Isadora Grego D'Andrea, por há nove anos ser tão presente e importante na minha vida.

Ao meu amado, Lucas Herculano Lima, por todo apoio, amor e companheirismo dedicados. Te amo!

A todos os meus professores, em especial José Pinto Siqueira, por ser meu primeiro incentivador à vida acadêmica.

A minha orientadora, Maria Lúcia da Conceição, por todos seus ensinamentos, incentivos e por toda confiança providos a mim. Muito obrigada.

A todos aqueles que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho, em especial ao meu amigo Janse Brasileiro.

“TUDO POSSO NAQUELE QUE ME FORTALECE”

FILIPENSES 4:13

RESUMO

CARVALHO, R. I. Análise das Condições Microbiológicas de Queijos Minas Frescal Vendidos em João Pessoa –PB. 2014. **Trabalho de Conclusão de Curso**. Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2014.

O queijo minas Frescal é um produto cuja conservação é limitada devido aos teores elevados de umidade (>55 %) e disponibilidade de nutrientes, como sais minerais e lactose. Essas condições, aliadas ao pH geralmente alto, favorecem a multiplicação de microrganismos contaminantes, sejam estes deteriorantes ou patogênicos, que apresentam ações deletérias sobre os queijos, alterando suas características sensoriais e representando risco à saúde pública. A legislação para este queijo é deficiente por não haver um regulamento técnico definido, por não dispor de informações precisas sobre a composição, a classificação, os requisitos de higiene, as normas de envasamento e a rotulagem, devido a isso, o estudo teve como objetivo realizar uma análise do comportamento microbiológico de queijo Minas Frescal dos produtos vendidos em João Pessoa-PB. As amostras de queijo minas Frescal foram adquiridas em supermercados distintos da Cidade de João Pessoa, sendo analisadas oito marcas, com 5 (cinco) repetições cada, de lotes diferentes, totalizando 40 amostras. As amostras de queijo Minas foram identificadas neste estudo pelas letras de A a H. Elas foram transportadas nas próprias embalagens, acondicionadas em caixa isotérmica, com gelo tipo retornável, ao Laboratório de Microbiologia e Bioquímica de Alimentos do Departamento de Nutrição CCS / UFPB, em condições assépticas. A metodologia utilizada foi de acordo com os procedimentos padrões específicos para bactérias aeróbias mesófilas e psicotróficas, coliformes totais e termotolerantes, bolores e leveduras, estafilococos coagulase positiva e *Salmonella* sp. A média da contagem em placas para minas frescal, por marca, oscilou no intervalo: mesófilas de $1,24 \pm 2,77$ a $7,01 \pm 0,57 \log_{10}$ UFC/g; psicotróficas, de $1,23 \pm 2,75$ a $7,43 \pm 0,41 \log_{10}$ UFC/g; Coliformes totais foram isolados em 27 amostras (67,5 %); bolores e leveduras de $1,42 \pm 3,17$ a $7,97 \pm 0,49 \log_{10}$ UFC/g; Estafilococos coagulase positiva de $2,87 \pm 2,87$ a $7,10 \pm 0,48 \log_{10}$ UFC/g. Com relação a pesquisa de *Salmonella* observou-se ausência nos queijo analisados nesse estudo. De acordo com os resultados obtidos neste estudo, pode-se concluir que a maioria das amostras de queijo minas estavam em desacordo com a Legislação vigente, podendo apresentar riscos a saúde do consumidor, pela presença de Estafilococos em contagens elevadas com grande possibilidade de produção de enterotoxinas. As contagens elevadas dos micro-organismos identificados (mesófilas, psicotróficas e coliformes totais) indicam que as condições higiênicas e sanitárias da produção foram insatisfatórias, havendo, assim, um comprometimento da qualidade final desses queijos.

PALAVRAS-CHAVE: Queijo Minas Frescal, microbiologia, contaminação.

ABSTRACT

The Minas Frescal is a product whose conservation is limited due to high moisture content (> 55%) and availability of nutrients such as minerals and lactose. These conditions, combined with the generally high pH favoring the multiplication of contaminating microorganisms, whether pathogenic or spoilage, which have deleterious actions on the cheese, changing their sensory characteristics and represent a risk to public health. The legislation for this cheese is deficient for not having a more defined technical regulation, not to have more precise information regarding the composition, classification, hygiene requirements, standards of bottling and labeling, due to this, the study aimed at making a behavior analysis of microbiological mining Frescal cheese, in particular the products sold in João Pessoa-PB. Samples of Minas Frescal cheese were acquired at different supermarkets City of Joao Pessoa, totaling eight brands and 40 different lots of samples. Samples of white cheese were identified in this study by the letters A through H. The samples were transported in suitable containers, packed in isothermal box with ice returnable type, the Laboratory of Microbiology and Biochemistry, Department of Food Nutrition CCS / UFPB in satisfactory sanitary conditions. The methodology used was in accordance with the procedures specified standards for aerobic mesophilic and psychrotrophic bacteria, total coliforms and fecal coliforms, yeasts and molds, coagulase positive staphylococci, Salmonella sp. The average plate count for frescal, by brand, fluctuated in the range: the mesophilic $1,24 \pm 2,77^a$ the $7,01 \pm 0,57^a$; psicotrophic of the $1,23 \pm 2,75^a$ $7,43 \pm 0,41^a$; Coliform bacteria were isolated in 27 samples (67.5%); molds and yeasts $1,42 \pm 3,17^c$ the $7,97 \pm 0,49^a$; Coagulase positive staphylococci $2,87 \pm 2,87^a$ the $7,10 \pm 0,48^a$. Regarding the Salmonella observed absence cheese analyzed in this study. According to the results found in this study, we can conclude that most of the samples of cheese mines were at odds with current legislation, which may present a risk to consumer health, the presence of staphylococci in high scores with great possibility of producing enterotoxins. High counts of microorganisms identified (mesophilic, psicotrophic coliforms) indicate that hygiene and sanitary conditions of production were unsatisfactory. Thus, there is a commitment on the final quality of these cheeses.

Keywords: Minas Frescal cheese, microbiology, contamination.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – Esquema de fabricação do queijo Minas Frescal.....	19
FIGURA 2 – Distribuição de positividade de coliformes totais em amostras de queijo Minas Frescal.....	29

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - Procedência das amostras de queijo Minas Frescal.....	25
TABELA 2 - Contagem Padrão em Placas de bactérias aeróbias Mesófilas em amostras de queijo Minas Frescal comercializados em João Pessoa –PB.....	26
TABELA 3 - Contagem em placas de Psicotróficas em amostras de queijo Minas Frescal comercializadas em João Pessoa – PB.....	27
TABELA 4 - Enumeração de Coliformes totais e termotolerante em amostras de queijo Minas Frescal comercializados em João Pessoa – PB.....	28
TABELA 5 - Contagem em placas de Bolores e Leveduras em amostras de queijo minas Frescal comercializados João Pessoa – PB.....	30
TABELA 6 - Contagem de Estafilococos coagulase positiva em amostras de queijo Minas Frescal comercializados em João Pessoa – PB.....	31

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	13
2.1 PRODUÇÃO DO LEITE NO BRASIL	13
2.2 LEITE E DERIVADOS	15
2.3 PRODUÇÃO DO QUEIJO MINAS FRESCAL	17
2.4 MICROBIOTA INDICADORA E PATOGÊNICA NO LEITE E DERIVADOS.....	19
3 OBJETIVOS	21
3.1 OBJETIVO GERAL	21
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	22
4 METODOLOGIA	22
4.1 AMOSTRAGEM	22
4.2 CONTROLE MICROBIOLÓGICO DAS AMOSTRAS DE QUEIJO MINAS FRESCAL.....	22
4.2.1 Preparo das diluições decimais.....	22
4.2.2 Contagem em placas de bactérias aeróbias mesófilas e psicotróficas.....	23
4.2.3 Enumeração de coliformes totais e termotolerantes.....	23
4.2.4 Contagem em placas de bolores e leveduras.....	24
4.2.5 Contagem em placa de estafilococos coagulase positiva.....	24
4.2.6 Pesquisa de <i>Salmonella</i> sp.....	24
4.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	25
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	25
5.1 CONTROLE MICROBIOLÓGICO DAS AMOSTRAS DE QUEIJO MINAS.....	25
5.1.1 Contagem em placas de bactérias aeróbias mesófilas.....	25
5.1.2 Contagem em placas de bactérias psicotróficas.....	27
5.1.3 Enumeração dos coliformes totais e termotolerantes	28
5.1.4 Contagem em placas de bolores e leveduras	30
5.1.5 Contagem em placas de estafilococos coagulase positiva	31

5.1.6 Pesquisa de <i>Salmonella</i> sp	33
6 CONCLUSÃO.....	34
REFERÊNCIAS.....	35

1 INTRODUÇÃO

Os queijos são alimentos de alto valor nutricional, ricos em proteínas, lipídeos, carboidratos, cálcio, fósforo, zinco, iodo, selênio e vitaminas (A, D e complexo B). Existe mundialmente mais de 1.000 tipos de queijos, considerando a espécie de animal o qual o leite é proveniente e os diferentes processos de produção, conferindo assim diferentes formas, texturas, sabores e aromas (PERRY, 2004; SPREER, 1991). Além disso, constitui uma das formas mais práticas, saborosas e saudáveis de se consumir as propriedades do leite, assim como é a forma mais simples e segura de preservá-lo. Pode se apresentar como fresco (pronto para o consumo logo após a fabricação) ou maturado (submetido a um processo de cura), sólido ou cremoso, de massa crua, cozida, semi-cozida, filada ou processada (ROBERT, 2007).

Dentre os queijos mais populares no Brasil, destaca-se o queijo Minas Frescal, sendo produzido a partir da coagulação do leite pela ação do coalho e de bactérias lácticas existentes ou adicionadas no leite. Trata-se de um produto largamente consumido, de fabricação simples, rápida comercialização e de menor custo comparado aos demais queijos. Caracteriza-se como um produto altamente perecível, com uma porcentagem de umidade acima de 55 %, com nutrientes suficientes para o desenvolvimento de qualquer espécie microbiana (SANGALETTI, 2007). É uma variedade fresca, para consumo imediato e de curta durabilidade (FURTADO, 2005). É classificado como o terceiro mais consumido, representando nove por cento da produção nacional, perdendo apenas para os queijos Mussarela, 33 % e o Prato, 24 % (MARCHIORI, 2004).

De acordo com Brasil (1996) e Campos et al. (2006) o queijo Minas frescal é classificado como um queijo macio, semigordo (25,0 - 44,9 %), rico em cálcio, fósforo e vitamina A. Apresenta também reduzida porcentagem de cloreto de sódio (1,4 - 1,6 %), pH levemente ácido (5,1 - 5,6) e elevada umidade (> 55,0 %), consistência suave, cor esbranquiçada, formato cilíndrico, aroma suave e característico, com vida útil de até 15 dias sob refrigeração (BRASIL, 1996; GONZALEZ et al., 2000; HOFFMANN; SILVA; VINTURIM, 2002). Essas características não só podem influenciar na vida útil do produto como também na qualidade microbiológica, diminuindo a qualidade para o consumidor. Em consequência, nos últimos anos, tem aumentado os cuidados e preocupações referentes à qualidade microbiológica dos alimentos, a exemplo, dos queijos frescos, principalmente para atenderem às exigências do mercado de

consumidores mais conscientes e dos órgãos de fiscalização, com o intuito de evitar problemas de saúde pública.

No contexto dos queijos frescais, está inserido o queijo Minas Frescal, produzido artesanalmente, apresenta elevado teor de umidade, e, por conseguinte, pode ser classificado como um produto perecível, que associado com ampla manipulação, somatizam situações que contribuem para níveis elevados de contaminações, multiplicação e possivelmente sobrevivência de uma biota heterogênea, podendo incluir as bactérias patogênicas capazes de causar intoxicações e/ou infecções alimentares nos seres humanos (CÂMARA et al., (2002).

O aspecto higiene é encarado com tal rigor que, para se conhecer a existência de possíveis deficiências higiênicas no processamento, as quais implicariam em contaminações, se direciona as atenções para grupos de micro-organismos, desde aqueles considerados indicadores, como também para os patogênicos que encontram no alimento um meio propício para o desenvolvimento e até mesmo a liberação de substâncias tóxicas (FRANCO et al.,1992).

Os principais bio-indicadores de contaminação em queijos, incluem as bactérias do grupo coliformes, bactérias patogênicas como *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* e, ainda, leveduras e alguns bolores (PINTO et al., 2011). A presença desses micro-organismos no alimento está relacionada à má qualidade da matéria-prima e adoção de técnicas higiênicas inadequadas, que comprometem a segurança do produto final (TIMM et al., 2004).

A análise microbiológica do queijo Minas Frescal constitui uma forma de verificar as suas condições de higiene, bem como de avaliar se o alimento está apropriado ou não para o consumo, estabelecendo assim uma análise do risco potencial para os consumidores (SALOTTI et al., 2006).

Por tanto, tendo-se conhecimento do elevado consumo desse tipo de queijo, de suas características de processamento e dos fatores intrínsecos que favorecem a proliferação de uma ampla variedade de micro-organismos, este fato associado à deficiência de trabalhos técnico-científicos sobre a qualidade microbiológica desse produto, constituiu motivadores à realização desse estudo, que teve como objetivo avaliar o comportamento microbiológico de queijos Minas Frescal, vendidos na cidade de João Pessoa – PB.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 PRODUÇÃO DE LEITE NO BRASIL

O Brasil é tradicionalmente um grande produtor de leite. A atividade que começou com características extrativistas, já ocupa posição de destaque no cenário econômico nacional, sendo, atualmente, um dos principais agronegócios do Brasil (EISLER, 2010).

De acordo com o artigo 475 do RIISPOA "entende-se por leite, sem outra especificação, o produto oriundo da ordenha completa, e ininterrupta, em condições de higiene, de vacas sadias, bem alimentadas e descansadas. O leite de outros animais deve denominar-se segundo a espécie de que proceda." É um alimento de grande importância na alimentação humana, devido ao seu elevado valor nutritivo, pois é fonte de proteínas, lipídios, carboidratos, minerais e vitaminas, o leite torna-se também um excelente meio para o crescimento de vários grupos de microrganismos desejáveis e indesejáveis (SOUZA et al., 1995). A durabilidade do leite é limitada pela presença e multiplicação de microrganismos que causam modificações físico-químicas no mesmo.

Em 2008, o Brasil produziu 27, 5 bilhões de litros de leite, gerando renda de R\$ 17 bilhões, que corresponde a 10% do valor gerado pela agropecuária brasileira e 76,0 % do valor gerado pela pecuária (IBGE, 2010). Em 2010 a produção mundial de leite foi de 695,7 bilhões de litros, dos quais o Brasil contribuiu com 4,42% ou 30,7 bilhões de litros. Entre 2000 e 2010 a produção cresceu em média 4,40 % ao ano, a segunda maior taxa anual de crescimento do mundo. O primeiro lugar foi da China, com 17,61% (VILELA, 2011). Por outro lado o Brasil se destacou também como o país onde grande quantidade de fazendas abandonou a atividade leiteira. Neste período, em média, 3,2% dos produtores de leite migraram para outras atividades agropecuárias. Entre os maiores produtores mundiais é o primeiro em crescimento na quantidade de vacas por fazenda, com 5,3% por ano e o primeiro em crescimento relativo da produção por estabelecimento. Em produção por vaca é o quarto com maior crescimento indicando que a tecnologia de produção vem evoluindo rapidamente, sobretudo na questão da genética, nutrição e *manejo*. Os dados apontam o Brasil como um país promissor para o crescimento na tecnologia e produção de leite (VILELA, 2011).

A cadeia produtiva do leite é considerada um dos segmentos mais importantes do agronegócio brasileiro, o que envolve diversos agentes em variados níveis: na

produção, na industrialização e na comercialização. Assim, há o desenvolvimento através de empregos, impostos e produção de outros alimentos, onde participa como insumo essencial. Os elos da cadeia leiteira demandam grande quantidade de insumos diretamente relacionados com a atividade, o que movimenta a economia de outras áreas como a atividade canavieira (açúcar), de energia elétrica, de embalagens, de equipamentos industriais, entre outras (CÔNSOLI e NEVES, 2006).

As características mais enfatizadas pelos serviços de controle leiteiro, no Brasil, são a produção e o teor de gordura do leite, pois os sistemas de pagamento desse alimento levam em consideração o volume e o conteúdo de gordura. Na Holanda, Dinamarca, Polônia e Suíça, desde o início da década de 80, o maior destaque é dado para a proteína, usada nos sistemas de pagamento do produto. O teor de proteína e a qualidade do leite são importantes para os produtores de queijo, pois são determinantes da qualidade e do rendimento do produto (CORRÊA, 2010).

A região Sul tem se destacado pelo aumento da produção de leite, que cresceu 45% nos últimos cinco anos (3,1 bilhões de litros de leite). O incremento da produção de leite no Nordeste e Centro Oeste foi de 28% (1 bilhão de litros de leite) e na Região Sudeste, 16% (1,5 bilhão de litros de leite). O Norte do País praticamente manteve o mesmo volume, com uma pequena redução (1%) entre 2006 a 2011 (ZOCCAL et al., 2013).

O Cariri paraibano apresenta-se como uma das regiões mais secas do estado, os solos são pedregosos com reduzida capacidade de retenção hídrica, o índice pluviométrico baixo, altas temperaturas e taxa de insolação anual elevada, com a vegetação rala (caatinga tipo arbustivo-arbórea aberta), sendo considerada como uma região de elevada fragilidade e vulnerabilidade (LUCENA e PACHECO, 2011). A vulnerabilidade da atividade agrícola às condições climáticas do semiárido tem apontado a caprinocultura de leite como sendo uma das principais alternativas econômicas geradoras de renda e de fixação do homem ao campo (SOUZA et al., 2011).

A Paraíba, por meio de incentivos governamentais, desponta como o maior produtor de leite de cabra do país, com uma produção média de meio milhão de litros/mês, produzida por criadores agregados em 22 associações rurais, na região do Cariri paraibano (IBGE, 2007). Mas com o aumento da população rural e redução do tamanho das propriedades a caprinocultura leiteira vem sofrendo transformações estruturais em seus sistemas tradicionais de manejo forçada pela intensificação da produção cada vez maior (SOUZA et al., 2011).

2.2 LEITE E DERIVADOS

O leite é um excelente alimento por ser composto de uma mistura de vários nutrientes essenciais para a alimentação humana, como: água, proteínas, carboidratos, lipídios, minerais e vitaminas, que juntos, promovem a manutenção da vida (LIMA, 2004). Com relação ao conteúdo vitamínico destacam-se as vitaminas A, riboflavina (B₂), cianocobalamina (B₁₂), sendo deficiente nas vitaminas C e D e nas demais do complexo B (LOBATO, 2007).

O leite líquido inteiro é submetido a um processo de higienização e calor (UHT), no qual se utilizam temperaturas elevadas que leva o leite homogeneizado, o qual o tratamento mecânico reduziu ao mínimo os diâmetros das esferas de gordura, a uma temperatura de 130 a 150 °C, durante dois a quatro segundos, forma com que é disponibilizada ao consumidor. Este alimento pode ser vendido modificado em seu conteúdo de gordura, denominando-se leite semidesnatado ou leite desnatado, sendo essa informação presente na embalagem. Utiliza-se o rótulo *Longa Vida* e podem ser adicionados aditivos estabilizantes, como: sais de mono, di ou trifosfato separado ou em combinação em quantidades que não ultrapassem 0,1 g/100 mL, expresso em P₂O₅. Esse produto pode ser produzido em diversas formas: leite modificado, leite reconstituído, leite condensado, leite em pó, leite ácido e acidificado, leite ácido-alcoólico (SALINAS, 2002).

A procura do consumidor brasileiro por produtos mais saudáveis, inovadores, seguros e de prática utilização, aliada à consolidação dos produtos no mercado, contribuíram para o crescimento da indústria de bebidas lácteas, fazendo com que estas ganhassem popularidade (LIMA, 2002).

O termo “bebida láctea” tem sentido amplo e pode englobar uma série de produtos fabricados com soro e leite. É o produto lácteo resultante da mistura do leite e soro de leite adicionado ou não de produto(s) alimentício(s) ou substância alimentícia, gordura vegetal, leite(s) fermentado(s), fermentos lácteos selecionados e outros produtos lácteos (BRASIL, 2004). A sua produção adicionada de soro de queijo ganhou o mercado consumidor, devido à quantidade de cálcio, a qualidade das proteínas, a presença dos componentes bioativos e das bactérias probióticas que são importantíssimos para a saúde (FERREIRA, 2002; SANTOS et al., 2001; USDEC, 2002).

O iogurte é um produto lácteo fresco, obtido pela fermentação do leite com cultivos pró-simbióticos das bactérias *Streptococcus termophilus* e *Lactobacillus bulgaricus*. Surgiu no Oriente e depois entre os gregos e romanos. Esse alimento, que hoje faz parte do cotidiano da maioria das pessoas, rapidamente se difundiu, conquistando uma posição privilegiada nas dietas alimentares dos mais diversos povos (CIRIBELI e CASTRO, 2011; SILVA; FILHO, 2013).

Para os autores, o iogurte é um produto de fácil digestão e é benéfico à flora intestinal, principalmente o natural. As proteínas do leite são pré-digeridas por ação das bactérias lácticas, produtoras do ácido láctico, que permitem uma melhor digestão e que permite a dissolução do cálcio presente no iogurte, facilitando a sua assimilação pelo organismo. Além disso, a acidez do iogurte confere uma proteção natural contra as infecções, causando a inibição de diferentes tipos de bactérias patogênicas no produto (NIELSEN, 2002)

Outra forma de utilização do leite e de seus componentes é mediante a produção de queijos, sendo este bastante nutritivo e consumido, o que atende os anseios do paladar do consumidor. Na elaboração do queijo, é necessária a aquisição de leites de excelente qualidade, a fim de que as contaminações bacterianas não sejam capazes de alterar processos fermentativos ou de provocar o aparecimento de sabores estranhos que causam modificações nas características organolépticas em detrimento de sua qualidade (SALINAS, 2002).

Quimicamente, é uma mistura de caseína, gordura láctea e outros componentes do leite que se separa das matérias-primas por técnicas adequadas. Este processo de separação é favorecido adicionando-se enzimas, acidificando e/ou por aquecimento (JENSEN e KROGER, 2000; SPREER, 1991).

A classificação dos queijos baseia-se em características decorrentes do tipo de leite utilizado, do tipo de coagulação, da consistência da massa, do teor de gordura, do tipo de casca, do tempo de cura, entre outros (PERRY, 2004).

Dentre as grandes variedades de queijo, destaca-se o queijo Minas Frescal. Considerado o único genuinamente nacional, originário do estado de Minas Gerais, sendo um produto de grande aceitação no mercado, considerado o terceiro mais produzido no Brasil (NOGUEIRA et al., 2005). É uma variedade não maturada, para o consumo imediato e de curta durabilidade no mercado (FURTADO, 1999).

Em 2004 o Brasil produziu cerca de 470.000 toneladas de queijos. Destes, aproximadamente 29.000 toneladas corresponderam à produção da variedade Minas Frescal, sendo assim um dos queijos mais produzido no país (EMBRAPA, 2010).

2.3 PRODUÇÃO DO QUEIJO MINAS FRESCAL

Produzido de leite de vaca, é caracterizado por sua massa branca, consistência mole, textura fechada com algumas olhaduras irregulares, sabor suave a levemente ácido (BRASIL, 1997; NASCIMENTO et al., 2008; RIBEIRO et al., 2009). Possui elaboração simples e alto rendimento de fabricação, o que atrai o interesse de indústrias de pequeno, médio e grande porte (BRIGIDO et al., 2004). Segundo Furtado (2005), o rendimento médio da fabricação do queijo Minas Frescal é bastante variável, em função da grande variação no seu teor de umidade. Em média, o rendimento é de 6,0 a 6,5 litros de leite por quilograma de queijo.

Segundo a Portaria nº 352/97 do Ministério da Agricultura e do Abastecimento (BRASIL, 1997), pela Resolução MERCOSUL nº 145/96 (BRASIL, 1996), o queijo Minas Frescal é um queijo fresco obtido por coagulação enzimática do leite com coalho e/ou outras enzimas coagulantes apropriadas, complementada ou não com ação de bactérias lácticas específicas na forma de uma massa coalhada, dessorada, não prensada, salgada e não maturada. É classificado como queijo semigordo de alta umidade a ser consumido fresco, de consistência branda e macia, com ou sem olhaduras mecânicas, de cor esbranquiçada, de sabor suave a levemente ácido, sem ou com crosta fina, de forma cilíndrica e com peso de 0,3 a 5 Kg.

A composição recomendada pela (ABIQ, 2007) para o rótulo do queijo Minas Frescal é de 40 % (mínimo) de gordura no extrato seco (GES), 16g de lipídeos/ 100g; 2g de carboidrato/100g; 18g de proteína/100g; 225 kcal/ 100g. Contudo não é um produto padronizado e há variações. Rosa (2004) verificou em queijo Minas Frescal 62,5 % de umidade, 20, 5 % de gordura, 1,4 % de sal, acidez 0,28 % e pH de 6,40.

O Ministério da Agricultura, em março de 2004, por meio da Instrução Normativa nº 44 (BRASIL, 2004), corrigiu a classificação da umidade, considerando o Minas Frescal como queijo semigordo (de 25 a 44 % de gordura no extrato seco) de muito alta umidade (não inferior a 55 %).

A tecnologia de fabricação de queijo, no geral, compreende a coagulação do leite pela adição de fermento lácteo ou ácido láctico ou pelo coalho enzimático, corte

dessoragem, prensagem da massa, salga úmida e embalagem (MADRID, 1994; ROBINSON, 1994). No processo tradicional de fabricação do Minas Frescal, a coagulação da caseína se dá com uso de coalho, em 30 – 40 min a 35 – 37 °C quando se usa fermento ou 40 – 42 °C quando não usa o fermento. Segue-se o corte, a dessoragem e a enformagem.

A salga pode ser feita com salmoura a 20 % a 10 – 12 °C. Este tipo de queijo não sofre processo de cura (CAMPOS, 2001). Segundo a Resolução RDC nº145/96 do MAPA - Brasil, (1996a), o queijo Minas Frescal deve ser acondicionado a temperaturas não superiores a oito graus Centígrados e embalado em embalagens plásticas ou acondicionado em embalagens bromatologicamente aptas. A Figura 1 ilustra a tecnologia de fabricação do queijo Minas Frescal.

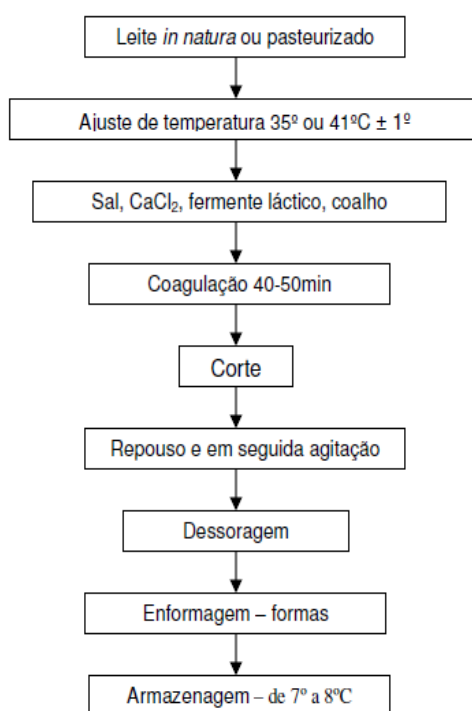


Figura 1 - Esquema de fabricação de queijo Minas frescal

Fonte: Sangaletti et al. (2007)

2.4 MICROBIOTA INDICADORA E PATOGÊNICA NO LEITE E DERIVADOS

O leite é o mais nobre dos produtos de origem animal, notadamente pelo elevado valor nutricional para crianças e adultos, bem como seus derivados que, igualmente, se

constituem em iguarias de alto valor nutritivo, e fonte de renda para os diferentes segmentos da cadeia produtiva do leite (RIBEIRO, 2005).

As condições de obtenção da matéria-prima, do processamento e do armazenamento, podem comprometer as características organolépticas do produto, bem como torna-los impróprios para o consumo, em virtude de contaminação por micro-organismos responsáveis por toxi-infecções alimentares (FREO e REOLON, 2006). Uma vez que os micro-organismos desenvolvem-se nos alimentos podem causar sua deterioração, prejudicando os valores nutritivos e organolépticos. Muitas vezes é fácil verificar pela aparência se um alimento está ou não deteriorado (FRANCO; LANGRAF, 1999).

As infecções e intoxicações alimentares estão se tornando cada vez mais comuns em todo o mundo. Tais problemas de saúde pública e o crescimento microbiano em alimentos podem ser minimizados pela escolha cuidadosa das matérias-primas, produção correta, e armazenagem adequada. O controle da carga microbiológica e a determinação do tipo de micro-organismo em particular são de extrema importância para laticínios (IRKIN, 2010).

Em 1999, foi sancionada a Instrução Normativa 007 (IN 007) pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), com o propósito de regulamentar a produção de leite orgânico no Brasil, assegurar a qualidade do produto, garantir competitividade de mercado para os produtos de origem animal e vegetal, bem como nortear as exigências para o credenciamento das propriedades e Instituições certificadoras (BRASIL, 1999).

No mesmo contexto, foi sancionada a Instrução Normativa 62 / 2011 - MAPA, que promoveu várias modificações quanto às exigências da produção de leite em animais domésticos, com vistas a melhorar e assegurar as condições nutricionais e de inocuidade do produto e derivados, procurando adequar gradativamente à produção nacional, com base na qualidade e demandas de mercado (BRASIL, 2011).

Os queijos de massa mole, de pH alto e umidade elevada permitem o desenvolvimento de micro-organismos (VARNAN; SUTHERLAND, 1994). Muitas bactérias contaminantes utilizam a lactose produzindo ácido láctico entre outros subprodutos. Também podem produzir toxinas causando toxi-infecções (FOX et al., 2000).

As características próprias deste queijo inclui pH acima de 5,0, baixo conteúdo de sal (1,4 – 1,6 %) e ausência de conservantes - favorecem reações bioquímicas e

microbiológicas que afetam a qualidade (CARVALHO et al., 2007; SOUZA et al., 2008; NASCIMENTO et al., 2008). No entanto, este queijo não foi um produto muito bem definido quanto às suas propriedades físicas e químicas por não terem sido consolidada uma padronização do queijo e pela diversidade de processos de fabricação (ABIQ, 2011; FURTADO e LOURENÇO-NETO, 1994).

Staphylococcus aureus é considerado o terceiro mais importante causador de doenças no mundo entre as doenças transmitidas por alimentos notificadas (ACCO et al., 2003; BOEREMA et al., 2006; BORGES et al., 2008; BRASIL, 1996; BRASIL, 2006). As bactérias do gênero *Staphylococcus* pertencem à família *Micrococcaceae* e apresentam-se como cocos Gram-positivos. São anaeróbias facultativas, capazes de crescer em condições de aerobiose, quando há a produção da catalase. Apresentam temperatura de crescimento em torno de 7 a 47,8 °C. A produção das enterotoxinas ocorre entre 10 e 46 °C, com faixa ótima entre 40 e 45 °C. A mesma cresce em pH na faixa de 4 a 9,8, com a variação ótima entre 6 e 7 (FRANCO e LANDGRAF, 2008).

Considerando a atividade de água (A_w), os estafilococos são únicos em sua capacidade de multiplicar-se em valores inferiores aos normalmente considerados mínimos para as bactérias não halófilas. São tolerantes a concentrações de 10 a 20 % de cloreto de sódio, em que o valor mínimo de A_w considerado é de 0,83 (PORTOCARRERO, 2002; FERREIRA, 2003). Desta forma, o fato de um alimento ser manipulado, já indica uma provável contaminação pelos micro-organismos deste gênero (SANT'ANA e AZEREDO, 2005).

O gênero *Salmonella* possui ampla distribuição no ambiente e tem sido isolado em alimentos de origem animal e derivados, constituindo um problema para agroindústria e a saúde pública (CERESER et al., 2011). Além dos coliformes totais e termotolerantes, a quantificação da população de bactérias aeróbias mesófilas, psicrotróficas e de bolores e leveduras representam uma ferramenta útil para indicar as condições de qualidade higiênico-sanitária da produção e comercialização de ricota (FRANCO e LANDGRAF, 2008).

Os cuidados com a qualidade microbiológica foram mais requisitados a partir da entrada do Brasil no Mercosul, as exigências do Código de Defesa do Consumidor e a globalização. Os órgãos de fiscalização tem o intuito de evitar problemas de saúde pública, e apesar disso somente algumas empresas estão implantando sistemas mais eficazes de controle de qualidade do tipo APPCC (Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle) e Boas Práticas de Fabricação. Nas demais, o controle ainda é principiante ou quase

inexistente, cabendo aos órgãos de fiscalização a exigência de melhores condições higiênico-sanitárias desses produtos (RIBEIRO et al., 2005).

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Analisar as condições microbiológicas do queijo Minas Frescal vendidas em João Pessoa – PB.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Verificar a procedência dos queijos Minas Frescal, bem como seu limite de vida útil;
- Realizar a contagem dos micro-organismos indicadores (bactérias aeróbias mesófilas e psicrotróficas, bolores e leveduras, coliformes totais e termotolerantes);
- Identificar e isolar as bactérias patogênicas (Estafilococos coagulase positiva e *Salmonella* sp.).

4 METODOLOGIA

O trabalho consistiu em um estudo experimental com abordagem quantitativa, que foi realizado no Laboratório de Microbiologia e Bioquímica de Alimentos do Departamento de Nutrição do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Paraíba, no período de agosto de 2013 a julho de 2014.

4.1 AMOSTRAGEM

As amostras de queijo Minas Frescal foram adquiridas em supermercados da cidade de João Pessoa, de oito marcas, com 5 (cinco) repetições cada, de lotes diferentes, totalizando 40 amostras, que foram identificadas neste estudo pelas letras de **A** a **H**. Após a aquisição, as amostras foram transportadas em suas próprias embalagens,

acondicionadas em caixa isotérmica, com gelo tipo retornável, ao Laboratório de Microbiologia e Bioquímica de Alimentos do Departamento de Nutrição do Centro de Ciências da Saúde / UFPB, onde foram armazenadas provisoriamente a 4 °C para posteriormente serem submetidas à avaliação microbiológica.

4.2 CONTROLE MICROBIOLÓGICO DAS AMOSTRAS DE QUEIJO MINAS

4.2.1 Preparo das diluições decimais seriadas

As amostras mantidas a 4 °C foram deixadas em repouso a temperatura ambiente, para atingir a temperatura de 25 °C, momento no qual, realizou-se o quarteramento da amostra na própria embalagem, selecionando-se duas partes opostas, em seguida procedeu-se a maceração em condições asépticas,. Foram pesados 25 g de cada amostra em balança semi-analítica (Marte, Brasil) e diluídas em 225 mL de água de peptona tamponada (Himédia, Índia) 0,1 %, correspondendo à diluição 10^{-1} . A partir dessa suspensão, foram obtidas as diluições decimais subsequentes até a 10^{-7} (APHA, 2001).

As contagens das bactérias aeróbias mesófila, psicotróficas, bolores e leveduras e de Estafilococos foram realizadas pela técnica da microgota, por subdivisão de placas em quadrantes (quatro) contendo ágar específico, possibilitando a semeadura de um inoculo reduzido (SILVA et al., 2007).

4.2.2 Contagem em placas de bactérias aeróbias mesófilas e psicotróficas

Para contagem das bactérias aeróbias mesófilas e psicotróficas, empregou-se a técnica da microgota, onde placas contendo o meio Plate Count Agar (Himédia, Índia) foram divididas em quadrantes e semeadas com 10µL das diluições, em triplicata. As placas foram deixadas em repouso, para a completa absorção do inóculo pelo meio e, em seguida realizou-se a incubação em estufa bacteriológica a 35(±2 °C) por 48 horas para as mesófilas e 7 °C por 10 dias para a contagem das bactérias psicotróficas.

4.2.3 Enumeração dos coliformes totais e termotolerantes

Os coliformes totais e termotolerantes foram avaliados utilizando a técnica do Número Mais Provável (NMP). Utilizou-se o Caldo Lactose Bile Verde Brilhante (CLBVB, Himédia, Índia), em série de três tubos para confirmação dos coliformes totais incubados a 35(±2 °C) por 48 horas. Considerou-se como positivo, os tubos que apresentassem turvação e produção de gás. Dos tubos positivos inoculou-se uma alça de 10 µL para tubos contendo Caldo EC (Himédia, Índia) seguido de incubação a 45 °C por 24 horas, em banho-maria. Após este período observando-se a presença ou não de turbidez e produção de gás, confirmando a presença dos coliformes termotolerantes (VANDERZANT; SPLITTOESSER, 1992). A quantificação dos coliformes foi realizada com o auxílio da Tabela do NMP emitida pela Instrução Normativa nº 62 / 2003 (BRASIL, 2003).

4.2.4 Contagem em placas de bolores e leveduras

A contagem dos bolores e leveduras foi determinada pela técnica da microgota, como descrito em 4.2.2, pela semeadura de 10µL de cada diluição na superfície de placas contendo Agar Sabouraud (Himédia, Índia), em triplicata e incubação a 25-28 °C em B.O.D (Demanda Bioquímica de Oxigênio) durante três a cinco dias.

4.2.5 Contagem em placas de estafilococos coagulase positiva

A contagem de estafilococos coagulase positiva também foi realizada através da técnica da microgota, como descrito em 4.2.2, usando-se um inóculo de 10µL de cada diluição, em duplicata, na superfície do Agar Vogel Johnson (Himédia, Índia), adicionado da solução de telurito de potássio (VETEC, Brasil) 1 %, seguido de incubação a 35(±2 °C) durante 48 horas. Após esse período de incubação, observaram-se as colônias típicas (negra, côncavas, lustrosas com halo amarelo) que foram isoladas e confirmadas pelo teste da coagulase, catalase, DNASE e utilização do manitol.

4.2.6 Pesquisa de *Salmonella sp.* – MÉTODO CONVENCIONAL

Esta pesquisa foi conduzida pela metodologia convencional, que envolveu a etapa de pré-enriquecimento em água de peptona-tamponada 0,1 % com incubação a 35(±2 °C) por 24 horas. Para a etapa de enriquecimento foi transferido 1mL do caldo de pré-enriquecido após incubação para tubos contendo caldo Tetracionato e Caldo Rappaport-Vassiliadis, incubados a 35(±2 °C) por 24 horas. A etapa subsequente correspondeu ao plaqueamento seletivo, em que foram usados os meios Desoxicolato Lisina Xilose Agar (XLD), Hektoen Enteric Agar e Bismuto Sulfito Agar, todos incubados a 35(±2 °C) por 24 horas. As colônias típicas de *Salmonella* em cada um dos meios utilizados foram isoladas em número de três em meio Triple Sugar Iron (TSI) e Lisin Iron Agar (LIA) simultaneamente incubados a 35(±2 °C) por 24 horas (VANDERZANT; SPLITTOESSER, 1992).

4.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA

As contagens microbianas foram expressas na função exponencial e convertidas para logaritmo na base 10 de Unidade Formadora de Colônias (UFC). Os dados foram compilados em tabelas e apresentados como valores médios e desvio padrão. Uma análise de variância (ANOVA) foi desenvolvida e comparações de médias foram executadas por testes de múltipla Duncan (STEEL; TORRIE, 1980). As análises estatísticas foram realizadas com o programa estatístico Sigma Stat 3.1.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A procedência das amostras de queijo Minas Frescal (Tabela 1) avaliadas neste estudo foram oriundas de diferentes Estados brasileiros como mostra o quadro 1. Em observação ao prazo de validade expressos nos rótulos verificou-se que nas marcas D, E, F, G foi de 30 dias e nas marcas A, B,C, H de 60 dias.

Tabela 1 - Procedência das amostras de queijo Minas Frescal vendidos em João Pessoa - PB

Marca	Procedência	Nº Amostras	%
D	Paraíba – PB	01	12,5
A e F	Pernambuco-PE	02	25,0
B, C	Minas Gerais – MG	02	25,0
H	São Paulo – SP	01	12,5
E e G	Rio Grande do Norte - RN	02	25,0
		08	100,0

Fonte: Pesquisa direta (2013/2014)

5.1 CONTROLE MICROBIOLÓGICO DAS AMOSTRAS DE QUEIJO MINAS

5.1.1 Contagem em placas de bactérias aeróbias mesófilas

Na Tabela 2 estão apresentados os valores para contagem em placas de bactérias aeróbias mesófilas em amostras de queijo minas Frescal.

Tabela 2 – Contagem Padrão em Placas de bactérias aeróbias Mesófilas em amostras de queijo Minas Frescal vendidos em João Pessoa - PB

Amostra	Bactérias aeróbias mesófilas (\log_{10} UFC/g)					MÉDIA
	1	2	3	4	5	
A (n=5)	5,70	7,23	6,83	7,00	0,00	5,35±3,04 ^a
B (n=5)	0,00	6,44	0,00	5,50	6,50	3,68±3,39 ^a
C (n=5)	8,11	0,00	0,00	7,11	0,00	3,04±4,18 ^a
D (n=5)	6,30	7,64	6,53	7,22	7,37	7,01±0,57 ^a
E (n=5)	7,15	8,21	7,45	0,00	7,42	6,04±3,40 ^a
F (n=5)	7,54	0,0	7,87	6,20	0,0	4,32±3,99 ^a
G (n=5)	7,40	7,30	7,20	0,00	7,20	5,82±3,25 ^a
H (n=5)	0,00	6,20	0,00	0,00	0,00	1,24±2,77 ^a

*Letras iguais em uma mesma coluna indicam que não houve diferença significativa ($p > 0,05$).

Fonte: Pesquisa direta (2013/2014)

De acordo com os resultados da Tab.2, da totalidade de amostras de Minas Frescal analisadas, 26 demonstraram crescimento de bactérias aeróbias mesófilas (65,0 %).

A contagem em placas, por marca, variou nos intervalos: **A** (5,70 a 7,23 log₁₀UFC/g), **B**(5,50 a 6,50 log₁₀UFC/g), **C** (7,11 a 8,11 log₁₀UFC/g), **D** (6,3 a 7,64 log₁₀UFC/g), **E** (7,15 a 8,21 log₁₀UFC/g), **G** (7,20 a 7,40 log₁₀UFC/g) e **H** (6,20 a 6,20 log₁₀UFC/g). De acordo com as médias obtidas, foi possível verificar ainda que, das 40 amostras avaliadas, 14 (35,0%) apresentaram ausência desse grupo microbiano. Ainda observou-se que não houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre amostras de diferentes marcas.

Elevadas quantidades de mesófilos em alimentos, podem indicar que os queijos foram preparados com matérias-primas contaminadas, que o processamento foi insatisfatório do ponto de vista sanitário e ainda que os alimentos foram estocados em condições inadequadas de tempo e temperatura. Entretanto, a presença de elevados níveis de bactérias mesófilas não é usada para analisar as condições sanitárias de produtos lácteos fermentados, em cujo processamento são utilizados microrganismos (LEITE JÚNIOR *et al.*, 2000).

Segundo Reis *et al.* (2006), a contagem de bactérias aeróbias mesófilas é geralmente adotada para avaliar principalmente as condições higiênico-sanitárias da indústria. Com isso podemos suspeitar que os ambientes nos quais foram produzidos os queijos Minas Frescal, analisado nesta pesquisa, apresentavam condições higiênico-sanitárias insatisfatórias.

Scheid Filho *et al.* (2004), observaram valores superiores ao presente estudo, ao avaliarem a qualidade microbiológica do queijo colonial produzido no Município de Três Passos, região Noroeste do Rio Grande do Sul, observaram uma alta contagem de bactérias mesófilas aeróbias, em torno de 9,14 log₁₀UFC/g, o que segundo os autores, pode ser decorrente de condições precárias de higiene na produção, processamento e/ou manipulação do produto, assim como da falta de pasteurização e controle de qualidade da matéria-prima.

5.1.2 Contagem em placas de bactérias psicotróficas

A Tabela 3 representa as contagens de bactérias psicotróficas nas amostras de queijo Minas Frescal, nas diferentes marcas avaliadas.

Tabela 3 – Contagem em placas de psicotróficas em amostras de queijo Minas Frescal comercializadas em João Pessoa - PB

Amostra	Bactérias psicotróficas (log ₁₀ UFC/g)					MÉDIA
	1	2	3	4	5	
A (n=5)	7,35	6,95	7,40	0,00	7,30	5,80±3,24 ^a
B (n=5)	8,13	0,00	0,00	8,11	0,00	3,24±4,44 ^a
C (n=5)	8,55	0,00	0,00	0,00	8,44	3,39±4,65 ^a
D (n=5)	0,00	6,17	0,00	0,00	0,00	1,23±2,75 ^a
E (n=5)	6,45	0,00	8,20	6,60	0,00	4,25±3,94 ^a
F (n=5)	8,04	5,60	7,13	0,00	0,00	4,15±3,89 ^a
G (n=5)	8,13	7,11	7,14	7,30	7,48	7,43±0,41 ^a
H (n=5)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00±0,00 ^b

*Letras iguais em uma mesma coluna indicam que não houve diferença significativa (p> 0,05).

Fonte: Pesquisa direta (2013/2014)

De acordo com a Tabela 3, das 40 amostras analisadas, as bactérias psicotróficas foram isoladas em 20 dessas (50%). A Contagem Padrão em Placas (CPP), dessas bactérias, oscilou nos seguintes intervalos em cada marca: **A** (6,95 a 7,40 log₁₀UFC/g), **B** (8,11 a 8,13 log₁₀UFC/g), **C** (8,44 a 8,55 log₁₀UFC/g), **D** (6,17 a 6,17 log₁₀UFC/g), **E** (6,45 a 8,20 log₁₀UFC/g), **F** (5,60 a 8,04 log₁₀UFC/g), **G** (7,11 a 8,13 log₁₀UFC/g). A marca **H** foi a única na qual este micro-organismo não foi isolado.

Arcuri et al. (2008) menciona em sua pesquisa que as bactérias psicotróficas são aquelas capazes de se desenvolver em temperaturas abaixo de 7 °C, sendo os principais agentes de deterioração de leites refrigerados e seus derivados.

Roos et al. (2005) ao realizarem a avaliação microbiológica de queijo colonial produzido na cidade de Três Passos – RS verificaram que os resultados das contagens de psicotróficos oscilaram entre 6,7 x 10⁶ e 2,8 x 10⁹ UFC/g (6,82 e 9,44 log₁₀UFC/g), estando elevados em relação aos encontrados.

Almeida Filho et al. (2002) observaram o perfil microbiológico do queijo tipo Minas Frescal, de produção artesanal e inspecionada, comercializado no município de Cuiabá – MT, obtendo contagem média de 3,7 x 10⁴ UFC/g (4,57 log₁₀UFC/g). Esse resultado corrobora com o observado neste estudo.

Scheid Filho et al. (2004) avaliaram queijos tipo colonial provenientes de diferentes estabelecimentos e detectaram contagens de bactérias psicrotróficas no intervalo de $1,4 \times 10^7$ ($7,14 \log_{10} \text{UFC/g}$) a $2,7 \times 10^9 \text{UFC/g}$ ($9,43 \log_{10} \text{UFC/g}$), valores superiores aos encontrados nos queijos Minas analisadas neste estudo. A contagem elevada desse micro-organismo pode ser atribuída ao mau acondicionamento em temperaturas inapropriadas para esse tipo de queijo, pois é de altíssima umidade.

5.1.3 Enumeração dos coliformes totais e termotolerantes

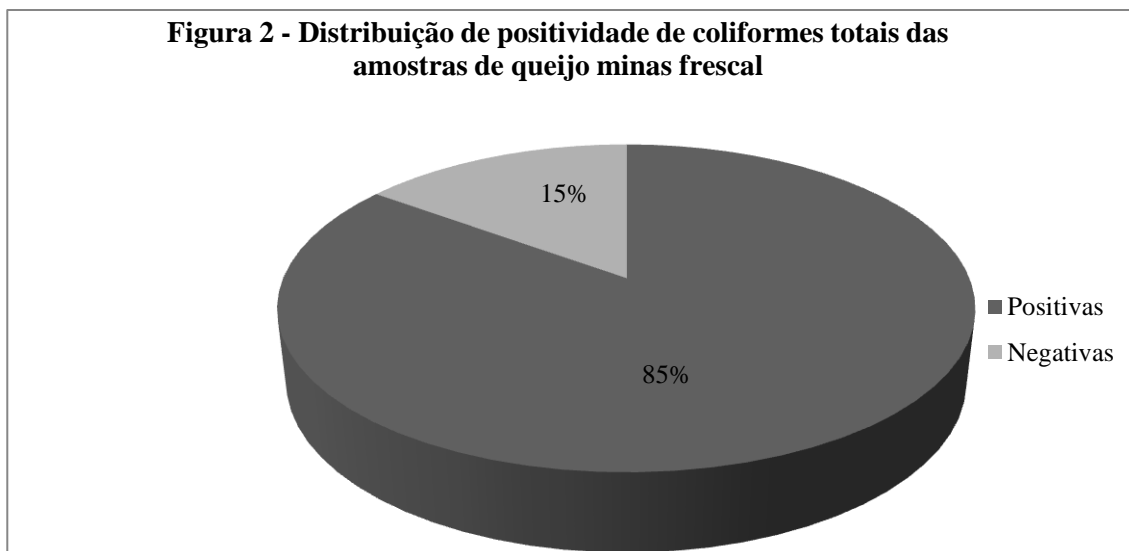
A Tabela 4 representam a enumeração dos coliformes totais e termotolerantes em amostras de queijo Minas Frescal.

Tabela 4 – Enumeração de Coliformes totais e termotolerante em amostras de queijo Minas Frescal comercializados em João Pessoa - PB

Amostra	Coliformes (NMP/g)		Amostra	Coliformes (NMP/g)	
	Totais	Termotolerantes		Termotolerantes	Fecais
A (n=5)	$>1,1 \times 10^3$	$< 3,0$	E (2/5)	$>11 \times 10^3$ $>1,1 \times 10^3$	$< 3,0$
B (n=5)	$>1,1 \times 10^3$	$< 3,0$	F (2/5)	93 240	$< 3,0$
C (3/5)	93 a $>1,1 \times 10^3$	$< 3,0$	G	$>1,1 \times 10^3$ $>1,1 \times 10^3$ $>1,1 \times 10^3$ 210 240	$< 3,0$
D (1/5)	$>1,1 \times 10^3$ $>1,1 \times 10^3$ $1,1 \times 10^3$ 9,0	$< 3,0$	H	(n=5) Ausentes	$< 3,0$

Fonte: Pesquisa direta (2013/2014)

De acordo com a Tabela 4, dentre as 40 amostras de queijo Minas analisadas, 21 (52,5 %) estavam contaminadas, apresentando valores de $>1100 \text{ NMP/g}$ para coliformes totais. Entretanto, nenhuma destas apresentou contaminação por coliformes termotolerantes. Ainda da totalidade de queijo Minas, em 13 amostras (32,5 %) foram observadas ausência ($<3,0 \text{ NMP/g}$) para coliformes totais. A representatividade de amostras com qualidade satisfatória quanto a presença dos coliformes totais está pautada na Figura 2.



Fonte: Pesquisa direta (2013/2014)

Apesar de não estar estabelecido limite máximo de coliformes totais pelos órgãos competentes, Thatcher e Clark (1973) e Guerreiro (1984), citam que estes microrganismos são considerados indicadores de qualidade sanitária e, segundo Thatcher e Clark (1973), é permitida sua presença nos alimentos, mas, quando em números elevados, os tornam de grande risco para o consumidor (MENDES *et al.*, 1999).

A presença de coliformes termotolerantes nos alimentos indica que houve falhas no processamento do produto. Isso quer dizer que a matéria-prima pode estar contaminada, utensílios e equipamentos utilizados na fabricação do produto podem estar mal higienizados, bem como pode estar havendo falta de higiene por parte dos manipuladores do produto (GARCIA-CRUZ *et al.*, 1994).

O padrão permitido pela ANVISA, conforme Resolução – RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001, para coliformes fecais é de $5,0 \times 10^2$ NMP/g para os queijos de coalho e minas frescal. Para o queijo colonial a portaria 001 de 28/01/1987, do Ministério da Saúde estabelece valores máximos de coliformes fecais (NMP) de 10^2 /g.

Em análise realizada por Hoffmann *et al.* (2002) verificaram que todas as amostras de queijo minas apresentaram contagens variando de >1100 NMP/g para coliformes totais e uma variação de 3 a 210 NMP/g para coliformes termotolerantes.

Zaffari; Melo e Costa (2007) avaliaram queijos artesanais e demonstraram que todas as amostras apresentaram contagem de coliformes totais entre 3,18 e $> 6 \log_{10}$ UFC/g. Das 80 amostras de queijo, 18 apresentaram contagens de coliformes totais

superiores a $6 \log_{10}$ UFC/g na última diluição, impossibilitando o isolamento de colônias para confirmação de coliformes termotolerantes.

5.1.4 Contagem em placas de bolores e leveduras

A Tabela 5 expõem os valores obtidos para as contagens de bolores e leveduras nas amostras de queijo Minas Frescal.

Tabela 5 – Contagem em placas de Bolores e Leveduras em amostras de queijo minas Frescal comercializados João Pessoa - PB

Amostra	Bolores e Leveduras (\log_{10} UFC/g)					MÉDIA
	1	2	3	4	5	
A (n=5)	8,54	5,90	7,08	7,22	1,46	6,04±2,72 ^a
B (n=5)	8,38	8,32	8,30	7,38	7,48	7,97±0,49 ^a
C (n=5)	0,0	7,25	7,54	0,0	7,55	4,46±4,08 ^a
D (n=5)	0,0	7,04	6,99	7,01	7,30	5,66±3,17 ^a
E (n=5)	0,0	0,0	0,0	7,1	0,0	1,42±3,17 ^c
F (n=5)	0,0	6,23	8,25	0,0	6,72	4,24±3,94 ^a
G (n=5)	0,0	6,9	0,0	7,21	7,17	4,25±3,88 ^a
H (n=5)	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00±0,00 ^b

*Letras iguais em uma mesma coluna indicam que não houve diferença significativa ($p > 0,05$).

Fonte: Pesquisa direta (2013/2014)

De acordo com a Tab. 5, com exceção da marca **H**, todas as amostras demonstraram presença de bolores e leveduras. A contagem em placas, dessas bactérias, oscilou nos seguintes intervalos: **A** (1,46 a 8,54 \log_{10} UFC/g), **B** (7,38 a 8,38 \log_{10} UFC/g), **C** (7,25 a 7,55 \log_{10} UFC/g), **D** (6,99 a 7,30 \log_{10} UFC/g), **E** (7,10 a 7,10 \log_{10} UFC/g), **F** (6,23 a 8,25 \log_{10} UFC/g), **G** (6,90 a 7,21 \log_{10} UFC/g). De acordo com as médias obtidas, verifica-se que houve diferença significativa ($p < 0,05$) entre amostras de diferentes marcas.

A presença de bolores e leveduras em alimentos indica produção sob condições de higiene insatisfatórias. Além disso, quando presentes em queijos, por exemplo, esses microrganismos são os principais responsáveis pela deterioração do produto (FEITOSA et al., 2003), o que ressalta a importância de seu controle, já que a legislação brasileira não estabelece limite para bolores e leveduras nesse derivado lácteo.

Bairros et al. (2007) obtiveram contagens de bolores e leveduras em queijo Minas, no Município de Pelotas, RS, onde, das oito amostras analisadas, seis (75%) apresentaram contagens entre 5,07 a 5,95 \log_{10} UFC/g, valores estes que fundamentam

os nossos. Hoffman et al. (2002) em análise de queijos Minas Frescal, encontrou valores entre 5,46 a 8,68 \log_{10} UFC/g, resultados estes que corroboram com o nosso.

No estudo de Cereser et al. (2011) com ricotas, uma determinada marca obteve contagem para esse micro-organismo na faixa entre 5,0e 6,0 \log_{10} UFC/g e a outra na faixa entre 4,0 e 5,0 \log_{10} UFC/g, resultados semelhantes ao encontrado nesta pesquisa.

Considerando-se a presença de bolores e leveduras em um elevado percentual das amostras de queijo Minas Frescal analisadas, é de se supor que o consumo desse produto pode causar toxinfecções alimentares, indicando um risco em potencial para a saúde da população. Fica evidente, portanto, a necessidade de maior aperfeiçoamento dos cuidados na fabricação da matéria-prima, e uma inspeção mais eficaz destes produtos (ARAUJO; SILVA, 1998).

A contaminação de produtos lácteos, particularmente queijos, é devido à presença de fungos e leveduras no ambiente da usina de fabricação, presentes nas paredes e salas de maturação, ar, equipamentos, água e no próprio leite utilizado como matéria-prima (JAY, 2005).

As leveduras por si não causam defeitos em produtos de laticínios onde a fermentação da lactose é baixa, porém, alguns fungos apresentam potencial deteriorador, causando modificações sensoriais nos produtos, diminuindo seu prazo de vida comercial, o que gera impactos negativos para a economia e para a saúde pública, caso os alimentos sejam consumidos inadvertidamente (CARMINATI et al., 2002).

5.1.5 Contagem em placas de estafilococos coagulase positiva

A contagem de Estafilococos coagulase positiva nas diferentes amostras de queijo minas foi realizada (Tab.6), onde o valor médio de contagem encontrado foi muito superior ao valor de 2,70 \log_{10} UFC/g preconizado pela RDC nº 12 / 2001 (BRASIL, 2001).

Tabela 6 – Contagem de Estafilococos coagulase positiva em amostras de queijo Minas Frescal comercializados em João Pessoa - PB

Amostra	Estafilococos coagulase positiva (\log_{10} UFC/g)					MÉDIA
	1	2	3	4	5	
A (n=5)	7,51	6,48	6,70	7,31	7,52	7,10±0,48 ^a
B (n=5)	4,78	8,17	8,08	8,21	0,0	5,84±3,58 ^a
C (n=5)	7,02	0,0	0,0	0,0	7,34	2,87±2,87 ^a
D (n=5)	0,0	7,1	5,66	7,04	0,0	3,96±3,66 ^a

E (n=5)	6,78	8,23	7,16	0,0	6,66	3,28±1,46 ^a
F (n=5)	7,32	0,0	7,23	5,37	0,0	3,71±1,66 ^a
G (n=5)	6,84	6,86	7,85	7,81	0,0	5,87±3,31 ^a
H (n=5)	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00±0,00 ^b

*Letras iguais em uma mesma coluna indicam que não houve diferença significativa ($p > 0,05$).

Fonte: Pesquisa direta (2013/2014)

Dentre as amostras de queijo analisadas, 25 (62,5%) demonstraram presença de bactérias *Estafilococos* coagulase positiva, com a seguinte distribuição por marca: **A**, com cinco amostras (12,5%); **B** e **G**, ambas com quatro amostras cada (10%); **C**, com duas amostras (5%), **D** e **F**, ambas com três amostras cada (7,5%); **E** e **G**, com quatro amostras em cada uma delas (10%).

A contagem padrão em placas, dessa bactéria, oscilou nos seguintes intervalos: **A** (6,48 a 7,52 \log_{10} UFC/g), **B** (4,78 a 8,21 \log_{10} UFC/g), **C** (7,02 a 7,34 \log_{10} UFC/g), **D** (5,66 a 7,10 \log_{10} UFC/g), **E** (6,66 a 8,23 \log_{10} UFC/g), **G** (7,81 a 7,85 \log_{10} UFC/g). A marca **H** foi a única que apresentou ausência em 100 % entre todas as suas amostras, sendo esta a única que se encontra de acordo com os padrões que a legislação determina.

De acordo com as médias, foi possível observar que houve diferença significativa entre as marcas, apenas entre a marca **H** com relação às demais.

O gênero *Staphylococcus* é o agente responsável por aproximadamente 45% das toxinfecções no mundo. Sendo um dos micro-organismos patogênicos mais importantes, responsáveis por surtos de intoxicações alimentares (CUNHA NETO et al., 2002), devido a habilidade de muitas de suas cepas produzirem vários tipos de enterotoxinas (CERESER et al., 2011).

O limite máximo permissível para estafilococos coagulase positiva em queijos de alta umidade, elaborados por coagulação enzimática, sem a ação de bactérias lácticas, é de $5,0 \times 10^2$ UFC/g (2,70 \log_{10} UFC/g), estabelecido pela Resolução – RDC n°12/2001 (BRASIL, 2001). Observou-se que todas as amostras contaminadas apresentaram resultados superiores aos limites propostos pela legislação supracitada, estando em desacordo com o parâmetro estabelecido.

O *Staphylococcus aureus* é frequentemente encontrado em leite e seus derivados. As infecções estafilocócicas na glândula mamária bovina representam um reservatório de culturas toxigênicas deste microrganismo (FLOWERS et al., 2005).

Souza et al. (2010) mencionam em seu estudo que o crescimento de *Staphylococcus aureus* presente em alimentos constitui um risco potencial à saúde,

devido uma ou mais enterotoxinas, responsáveis pela ocorrência de intoxicação alimentar, quando ingeridas. As amostras onde o micro-organismo foi detectado apresentaram contagens bastante elevadas, representando um risco ao consumidor, pois, a partir dessas contagens, espera-se que haja a presença de enterotoxinas. As peculiaridades do seu habitat tornam a presença do *Staphylococcus* largamente distribuída na natureza, sendo transmissíveis aos alimentos por manipuladores, que majoritariamente são portadores assintomáticos (BALABAM et al., 2000). Portanto, a manipulação intensa de um alimento é uma premissa de uma provável contaminação pelos micro-organismos desse gênero (SANT'ANA & AZEREDO, 2005).

Arruda et al. (2007), ao pesquisarem a ocorrência de estafilococos coagulase positiva em queijos Minas tipo Frescal e padrão, comercializados nas feiras livres de Goiânia, GO, observaram que, para o queijo Minas, os valores médios encontrados foram de $1,8 \times 10^5$ ($5,25 \log_{10}$ UFC/g); $1,3 \times 10^3$ ($3,11 \log_{10}$ UFC/g); $1,3 \times 10^4$ ($4,11 \log_{10}$ UFC/g), e que essas elevadas contagens de estafilococos coagulase positiva podem representar perigo para o consumidor.

Para enfatizar os resultados desse trabalho, ressalta-se a pesquisa realizada por Loguercio et al. (2001) que, ao analisarem 30 amostras artesanais de queijo Minas Frescal comercializados em Cuiabá, MT, verificaram 96,67% das amostras com valores superiores aos estabelecidos pela legislação vigente. Leite et al. (2005) analisou 15 amostras de queijo Minas Frescal artesanal comercializados em Cuiabá, MT, detectaram presença de *Staphylococcus* ssp., em 86,6% delas. Entretanto, Melo et al. (2009), analisando a ocorrência de *Staphylococcus* ssp., em amostras de queijo Minas Padrão, comercializadas na cidade de São Luís, obtiveram somente 6,6% de amostras com valores acima ($> 8,5 \times 10^6$ UFC/g) do padrão estabelecido pela legislação.

Em amostras com ocorrência positiva de *Staphylococcus* sp., é possível supor que o tratamento térmico do leite tenha sido ineficiente, ou que esteja ocorrendo contaminação após o mesmo, ou ainda devido à manipulação ou contato com superfícies não sanitizadas (LOGUERCIO & ALEIXO, 2001).

5.1.6 *Salmonella* sp.

Salmonella sp. esteve ausente em 100% das amostras avaliadas, atendendo às especificações da legislação brasileira RDC nº 12/2001, que estabelece a ausência desse patógeno em alimentos. O gênero *Salmonella* possui ampla distribuição no ambiente e

tem sido isolada em alimentos de origem animal e derivados, constituindo um problema para agroindústria e a saúde pública (CERESER et al., 2011), situação essa não observada neste estudo.

Para pesquisa de *Salmonella* em amostras de queijo minas frescal, Pereira et al. (1999) encontraram ausência deste microrganismo em 100% das amostras, assim como Salotti et al. (2006) que também não encontraram a presença deste microrganismo em 25g do produto.

Segundo Barros et al. (2004), a justificativa para isso pode ser atribuída a alguns fatores que podem gerar injúria às células microbianas, relacionados ao processamento (acidificação e aquecimento da massa) e estocagem do produto, bem como a possível competição entre as espécies microbianas presentes, dificultando assim o crescimento de *Salmonella* sp.

6 CONCLUSÃO

A maioria das amostras de queijo Minas Frescal analisadas se encontrava em desacordo com os limites máximos permissíveis pela Legislação vigente considerado para a comparação, já que não há legislação específica para o queijo Minas Frescal. Apesar de ser produzida sob um controle higiênico-sanitário, pode apresentar riscos a saúde do consumidor, devido às altas contagens de *Staphylococcus* sp.. A presença de aeróbias mesófila, psicotróficas, coliformes totais e bolores e leveduras em níveis elevados indicam condições higiênicas da produção insatisfatórias. Sendo assim, os resultados encontrados revelam que o processamento desses produtos provavelmente não foram padronizados, necessitando da implementação das Boas Práticas de Fabricação e do sistema Análise dos Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC), visando atenuar os fatores intervenientes que podem prejudicar qualidade do produto desde a ordenha do leite, da higiene dos equipamentos e dos funcionários no manuseio da matéria-prima, até a expedição do produto final.

REFERÊNCIAS

- ABIQ - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS DE QUEIJO. **Informações sobre tipos de queijo no Brasil**. Disponível em: <www.abiq.com.br>. Acesso em: 15/02/2011.
- ABIQ - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS DE QUEIJO. **Informações sobre tipos de queijo no Brasil**. Disponível em: <www.abiq.com.br>. Acesso em: 06 mai. 2007.
- ACCO, M., FERREIRA, F.S., HENRIQUES, J.A.P., TONDO, E.C. Identification of multiple strains of *Staphylococcus aureus* colonizing nasal mucosa of food handlers. **Food Microbiology**, v. 20, p. 489-493, 2003.
- ALMEIDA FILHO, E.S., LINDNER, A.M., ALMEIDA, D.S., SIGARINE, C.O., FERREIRA, M. B. Perfil microbiológico do queijo tipo Minas Frescal, de produção artesanal e inspecionado, comercializado no município de Cuiabá, MT. **Revista Higiene Alimentar**. v. 16, n. 92/93, p. 51-56, 2002.
- APHA-American Public Health Association. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 4th ed. Washington, 2001.
- ARCURI, E. F.; SILVA, P. D. L.; BRITO, M. A. V. P.; BRITO, J. R. F.; LANGE, C. C.; MAGALHÃES, M. M. A. Contagem, isolamento e caracterização de bactérias psicrotróficas contaminantes de leite cru refrigerado. **Ciência Rural**, v.38, n.8, p.2250-2255, 2008.
- ARRUDA, M.L.T., NICOLAU, E.S., REIS, A.P., ARAÚJO, A.S, MESQUITA, A.J. Ocorrência de *Staphylococcus* coagulase positiva em queijos Minas tipo frescal e padrão comercializados nas feiras-livres de Goiânia-GO. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v.66, n.3, p.292-298, 2007.
- BALABAN, N., RASOOLY, A. *Staphylococcus* enterotoxins. **International Journal of Food Microbiology**, v.61, n.1, p.1-10, 2000.
- BARROS, P. C. O. G.; NOGUEIRA, L. C.; RODRIGUEZ, E. M.; CHIAPPINI. Avaliação da qualidade microbiológica do queijo Minas Frescal comercializado no município do Rio de Janeiro, RJ. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 18, n. 122, p. 57-61, 2004.
- BOEREMA, J. A., CLEMENS, R., BRIGHTWELL, G. Evaluation of molecular methods to determine enterotoxigenic status and molecular genotype of bovine, ovine, human and food isolates of *Staphylococcus aureus*. **International Journal of Food Microbiology**. V. 107, p. 192-201, 2006.
- BORGES, M.F., NASSU, R.T., PEREIRA, J. L., ANDRADE, A.P.C., JUAYE, A.Y. Perfil de contaminação por *Staphylococcus* e suas enterotoxinas e monitoração das

condições de higiene em uma linha de produção de queijo de coalho. **Ciência Rural**. v. 38, n. 5, p. 1431-1438, 2008.

BRASIL, MINISTÉRIO DA AGRICULTURA PECUÁRIA E ABASTECIMENTO-MAPA. Projeções do agronegócio 2009/10 a 2019/20. Brasília, 2010. 48p.

BRASIL, Portaria 71. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Bebidas Lácteas. Diário Oficial da União de 21/09/2004

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº. 146, de 07 de março de 1996. Aprova os regulamentos técnicos de identidade e qualidade dos produtos lácteos. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, 11 de mar. 1996.

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade do leite e produtos lácteos. Portaria nº 352 de 04 de setembro de 1997. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 08 set. 1997. Seção 1, p.19684

BRASIL. Instrução Normativa Nº 007, de 17 de maio de 1999. Ministério do Estado, da Agricultura e do Abastecimento. Aprovam Normas Disciplinadoras para a Produção, Tipificação, Processamento, Envase, Distribuição, Identificação e Certificação da Qualidade de Produtos Orgânicos, sejam de origem Animal ou Vegetal. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**. Brasília-DF, 17 de maio, 1999.

BRASIL. Resolução RDC nº. 12, de 02 de janeiro de 2001. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Aprova Regulamento Técnico sobre os padrões microbiológicos para alimentos, **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**. Brasília-DF, 02 jan. 2001. Alterada pela Resolução RDC nº 171, de 04 de setembro de 2006.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 44. **Diário Oficial da União**, Brasília: 05 março. 2004. Seção I, p.5.

BRIGIDO, B.M.; FREITAS, V.P.S.; MAZON, E.M.A.; PISANI, B.; PRANDI, M.A.G.; PASSOS, M.H.C.R. Queijo Minas Frescal: avaliação da qualidade e conformidade com a legislação. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, Campinas, v. 63, n. 2, p. 177-185, 2004.

CARMINATI, D.; BELLINI, E.; PERRONE, A.; NEVIANI, E.; MUCCHETTI, G. Traditional Ricotta cheese survey of the microbiological quality and its shelf-life. **Industrie Alimentari**, v. 41, n. 414, p. 549-555, 2002.

CAMPOS, M. R. H.; KIPNIS, A.; ANDRÉ, M. C. D. P. B.; VIEIRA, C. A. S.; JAYME, L. B.; SANTOS, P. P.; SERAFINI, A. B. Caracterização fenotípica pelo antibiograma de cepas de *Escherichia coli* isoladas de manipuladores, de leite cru e de queijo “Minas Frescal” em um laticínio de Goiás, Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 36, n. 4, p. 1221-1227, 2006.

CAMPOS, D. C. **Queijo**: breve histórico e principais características. Núcleo de Apoio à Pesquisa em Microbiologia Agrícola. Piracicaba: ESALQ; NAPMA, 2001. 59p. (NAPMA, n.11).

CÂMARA, S.A.V.; A MARAL, G.B.; MULLER, M.T.; S ILVEIRA, K.C.S.; ALMEIDA, T.N.; MEDEIRO, C.F. Avaliação microbiológica de queijo tipo minas frescal artesanal, comercializados no mercado municipal de Campo Grande, Mato Grosso do Sul. *Higiene Alimentar*, v.16, n.101, p.32-36, 2002.

CARVALHO, J. D. G.; VIOTTO, W. H.; KUAYE, A. Y. The quality of Minas Frescal cheese produced by different technological processes. **Food Control**, n. 18, p. 262 – 267, 2007.

CHAMBERS, J. V. The microbiology of raw milk. In: ROBINSON, R. K. **Dairy Microbiology Handbook**. 3rd ed. New York: John Willey and Sons Inc., 2002. p. 39-90.

CIRIBELI, João Paulo; CASTRO, LiviaSchiavon de. Descrição da cadeia produtiva do iogurte: um estudo de caso realizado no Laticínio do Centro Federal de Educação Tecnológica de Rio Pomba. **Revista Gestão Empresarial**, Rio Pomba, v. 1, n. 1, p.75-87, 20 jan. 2011. Semestral.

Disponível em: <<http://revista.fagoc.br/index.php/principal/article/view/14/7>>. Acesso em: 11 fev. 2012.

CUNHA NETO, A. da; SILVA, C. G. M.da; STAMFORD, T. L. M. *Staphylococcus* enterotoxigênicos em alimentos in natura e processados no estado de Pernambuco, Brasil. **Ciências e Tecnologia de Alimentos**, Campinas-SP, v.22, n.3, p. 263- 271, 2002.

CÔNSOLI, M.A., NEVES, M.F. (Coords.) Estratégias para o leite no Brasil. São Paulo: Atlas, 2006.

CORRÊA, A.M.F. Variação na produção e qualidade do leite de vacas da raça Holandesa em função da ordem de parto. **Monografia**. Departamento de Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá. Maringá – PR, Junho de 2010.

EISLER, E. **Oportunidade de crescimento do setor leiteiro**. Belo Horizonte, 2010. Palestra ministrada durante o 11 Congresso Pan-Americano do Leite, Belo Horizonte, 2010.

EMBRAPA. In: Centro Nacional de Pesquisa em Gado de Leite. Estatísticas do Leite. Disponível em: <<http://www.cnpql.embrapa.br/>>. Acesso em: 15/12/2010.

FERREIRA, A.C. **Uso Do Açafrão (*Curcuma Longa L.*) Na Redução de *Staphylococcus aureus* ATCC 12600 Em Ricota**. 2003. 76 p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2003.

FERREIRA, A.C. Breve história e perspectivas para a indústria de laticínios no Brasil. **2º Simpósio de Tecnologia de Produtos Lácteos – Germinal**, 2002.

FOX, P. F.; GUINEE, T. P.; COGAN, T. M.; MCSWEENEY, P. L. H. **Fundamentals of cheese science**. Gaithersburg: AN Aspen Publication, 2000, 587p.

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

FRANCO, B. D. G. M; LANDGRAF, M. **Microbiologia de alimentos**. São Paulo: Atheneu, 1999. 182p.

FREO, J. D.; REOLON, J. Qualidade dos produtos derivados da carne e leite, industrializados pelas agroindústrias de Frederico Westphalen, RS. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 20, n. 140, p. 53-59, abr.,2006.

FURTADO, M. M. **Principais problemas dos queijos: causas e prevenções**. Edição Revisada e Ampliada. São Paulo: Fonte Comunicação e Editora. 2005. 200p.

FURTADO, M. M.; LOURENÇO NETO, J. P. de M. **Tecnologia de queijos**. São Paulo: Dipemar, 1994. 112p. Manual técnico para a produção industrial de queijos.

GARCIA-CRUZ, C.H.; HOFFMANN, F.L.; VINTURIM, T.M. Estudo microbiológico de queijo tipo minas-frescal de produção artesanal comercializado na cidade de São José do Rio Preto-SP. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, v.54, n.2, p.78-82, 1994.

HAYES M. C.; BOOR K. Raw Milk and Fluid Milk Products In: MARTH, E. H.; STEELE, J. L. (Ed.). **Applied dairy microbiology**. 2nd ed. New York: Marcel Dekker Inc., 2001. p. 59-76.

HOFFMAN, F. L.; SILVA, J. V. da; VINTURIM, T. M. Qualidade microbiológica e queijos tipo “Minas Frescal”, vendidos em feiras livres na região de São José do Rio Preto, SP. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 16, n. 96, p. 69-76, mai, 2002.

IBGE – INSTITUTO BRASILEIRO DE TECNOLOGIA E ESTATÍSTICA. Sistema de recuperação de informações – SIDRA. Homepage IBGE, Brasília, 2010. Disponível em:<[http:// www.sidra.ibge.gov.br](http://www.sidra.ibge.gov.br)>.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). Disponível em: Censo Agropecuário, 2007. Acesso em 10 de abril, 2010.

IRKIN, R. Determination of microbial contamination sources for use in quality management of cheese industry: “Dil” cheese as an example. **Journal of Consumer Protection and Food Safety**, v. 5, p. 91-96, 2010.

JENSEN, R. G.; KROGER, M. The importance of milk and milk products in the diet. In: MILLER, G. D.; JARVIS, J. K.; McBEAN, L. D. **Handbook of Dairy Foods and Nutrition**. 2 nd ed. Boca Raton, FL: CRC Press, 2000. p. 51–52.

LEITE JÚNIOR, A.F.S. et al. Qualidade microbiológica do queijo de coalho comercializado à temperatura ambiente ou sob refrigeração, em Campina Grande-PB.

- LIMA, S. M. C. G., MADUREIRA, F. C. P., PENNA, A. L. B. Bebidas lácteas: nutritivas e refrescantes. **Milkbizz Tecnologia**, São Paulo, v. 1, n. 3, p. 4-11, 2002.
- LOBATO, V. **Tecnologia de fabricação de derivados do leite na propriedade rural**. Lavras/MG: Ufl a, 2000.37 p. (Boletim Técnico). Disponível em: http://www.editorafla.br/Boletim/pdfextensao/bol_33.pdf. Acesso em: 03 nov. 2007.
- LUCENA, R.L.; PACHECO, C. O Cariri paraibano: Aspectos geomorfológicos, climáticos e de vegetação. 2011. Disponível em: <http://observatoriogeograficoamericalatina.org.mx/egal12/Procesosambientales/Climatologia/25.pdf>. Acesso em: 10 de dezembro de 2012.
- MADRID. V.A. **Nuevo manual de tecnologia quesera**. Madrid: Mundi Prensa Libros, 1994. 380 p.
- MARCHIORI, E. **Queijo: o tesouro que vem o leite. Indústria de Laticínios**, São Paulo, n. 50, p 20, mar/abr., 2004.
- MCBEAN, L.D. Dairy foods' contribution to nutrient dense diets. **Nat. Dairy Council**, Rosemont, v. 75, n. 1, p. 1-6, jan./fev. 2004.
- MENDES, E.S. et al. *Staphylococcus aureus*, *Salmonella sp.* e coliformes em queijo de “coalho” comercializados em Recife. **Higiene Alimentar**, v.13, n.66/67, p.122-126, nov./dez. 1999.
- NASCIMENTO, M. S.; MORENO, I.; KUAYE, A. Y. Applicability of bacteriocinproducing *Lactobacillus plantarum*, *Enterococcus faecium* and *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* adjunct starter in Minas Frescal cheesemaking. **International Journal of Dairy Technology**, v. 61, n. 4, 2008.
- NIELSEN, A.C. Os produtos mais quentes do mundo. Informações sobre o crescimento de alimentos e bebidas. **Relatório Executivo de Notícias**, 2002.
- NOGUEIRA, M. C. L.; LUBACHEVSKAY, G.; RANKIN, S. A. A study of the volatile composition of Minas cheese. **LWT – Food Science and technology**, Oxford, v. 38, n. 5, p. 555-563, Aug. 2005.
- PEREIRA, M.L. et al. Enumeração de coliformes fecais e presença de salmonella sp. Em queijo minas. **Arq. Bras. Méd. Vet. Zootec.**, Belo Horizonte, v.51, n.5, out. 1999.
- PINTO, F. G. S.; SOUSA, M.; MOURA, A. C. **Qualidade Microbiológica de Queijo Minas Frescal Comercializado no Município de Santa Helena, PR**, 2011.
- PERRY, K. S. P. Queijos: Aspectos químicos, bioquímicos e microbiológicos. **Revista Química Nova**, v.27, n.2, p. 293-300, 2004.
- PORTOCARRERO, S.M., NEWMAN, M., MIKEL, B. *Staphylococcus aureus* survival, staphylococcal enterotoxin production and shelf stability of countrycured hams manufactured under different processing procedures. **Meat Science**, Amsterdam, v. 62, n. 2, p. 267-273, Oct. 2002.

REIS, J.A.; HOFFMANN, P.; HOFFMANN, F.L. Ocorrência de bactérias aeróbias mesófilas, coliformes totais, fecais e *Escherichia coli*, em amostras de águas minerais envasadas, comercializadas no município de São José do Rio Preto, SP. **Higiene Alimentar**, v.20, p.145, p.109-115, 2006.

RIBEIRO, A.C., MARQUES, S.C., SODRÉ, A.F., ABREU, L.R., PICCOLIS, R.H. Controle microbiológico da vida de prateleira de ricota cremosa. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 29, n. 1, p. 113-117, jan./fev. 2005.

RIBEIRO, E. P.; SIMÕES, L. G.; JURKIEWICZ, C. H. Desenvolvimento de queijo Minas Frescal adicionado de *Lactobacillus acidophilus* produzido a partir de retentados de ultrafiltração. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 29, p. 19-23, 2009.

ROBERT, N. F. **Fabricação de queijos especiais a partir do leite de vaca**. Boletim Técnico do SEBRAE, Santa Catarina, 87 p. 2007.

ROBINSON, R. K. **Modern dairy technology: advances in milk processing**. 2nd ed. Gaithersburg: Aspen Publishers, 1994.

ROOS, T.B.; SCHEID FILHO, V.B.; TIMM, C.D.; OLIVEIRA, D.S. Avaliação microbiológica de queijo colonial produzido na cidade de Três Passos. **Revista Higiene Alimentar**. São Paulo – SP. v. 19, n. 132, p. 94-96, 2005.

ROSA, V. P. **Efeitos da atmosfera modificada e da irritação sobre as características microbiológicas, físico-químicas e sensoriais do queijo Minas Frescal**. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia dos Alimentos. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, 2004.

SALOTTI, B.M. et al. Qualidade microbiológica do queijo minas frescal comercializado no município de Jaboticabal, SP, Brasil. **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo, v.73, n.2, p.171-175, abr./jun. 2006.

SALINAS, R.D. **Alimentos e nutrição: Introdução à Bromatologia/Rolando D.Salinas**; trad. Fátima Murad. – 3.ed. – Porto Alegre: Artmed, 2002.

SANGALETTI, N. *Estudo da vida útil do queijo minas Frescal disponível no mercado*. 2007.80 f. Dissertação (Mestre em Ciência e Tecnologia dos Alimentos) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2007.

SANTOS, J.P.V., FERREIRA, C.L.L.F. Alternativas para o aproveitamento de soro de queijo nos pequenos e médios laticínios. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 56, n. 3, p. 44-50, 2001.

SCHEID FILHO, V.B.; ROOS, T.B.; OLIVEIRA, D.S.; TIMM, C.D. Contagem de bactérias mesófilas e psicrotólicas em queijo colonial. In: XXII CONGRESSO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA, 2004, Florianópolis. **Anais do XXII Congresso Brasileiro de Microbiologia**. 2004.

SILVA, I. M. M.; ALMEIDA, R. C. C.; ALVES, M. A. O.; ALMEIDA, P. F. Occurrence of *Listeria* spp. in critical control points and the environment of Minas Frescal cheese processing. **International Journal of Food Microbiology** v. 81, p. 241–248, 2003.

SILVA, R. C. L.; FALCÃO FILHO, E R. S. Elaboração e caracterização físico-química de iogurte batido de Goiaba. In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DO IFRN, 9, 2013, Natal, p. 355-362, Natal, 2013. Disponível em: <http://www2.ifrn.edu.br/ocs/index.php/congic/ix/paper/viewFile/1293/162>

SILVA, R. C. L.; FILHO, R. S. F. Avaliação de Qualidade de Iogurtes Produzidos na Usina-Escola do IFRN Campus Currais Novos e Distribuídos na Merenda Escolar. In: IX Congresso de Iniciação Científica do IFRN, 2013.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V.C.A.; SILVEIRA, N.F.A.; TANIWAKI, M.H.; SANTOS, R.F. S.; GOMES, R.A.R. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. 3ªed. São Paulo: Livraria Varela, 2007.

SOUZA, C. H. B. de.; BURITI, F. C. A.; BEHRENS, J. H.; SAADI, S. M. I. Sensory evaluation of probiotic Minas fresh cheese with *Lactobacillus acidophilus* added solely or in co-culture with a thermophilic starter culture. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 43, p. 871–877, 2008.

SOUZA, B.B; SILVA, E.M.N.; SILVA, G.A. Caracterização do sistema de produção de leite de cabra nos Cariris ocidental e oriental da Paraíba. In: RESUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 48, 2011, Belém. Anais...Belém: SBZ, 2011, CD-ROM.

SOUZA, M. R., RODRIGUES, R., FONSECA, L. M., CERQUEIRA, M. M. O. P. Pasteurização do leite. Caderno Técnico da Escola de Veterinária UFMG, n. 13, p.85-93, 1995.

SPREER, E. Lactologia industrial. Zaragoza: Acribia, 1991. 623 p

STEEL, R.D.D. e Torrie, J. H. Principle and procedures of statistic: A biometrical approach. New York: McGraw-Hill, 1980.

SOUZA, C. H. B. de.; BURITI, F. C. A.; BEHRENS, J. H.; SAADI, S. M. I. Sensory evaluation of probiotic Minas fresh cheese with *Lactobacillus acidophilus* added solely or in co-culture with a thermophilic starter culture. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 43, p. 871–877, 2008.

TIMM, C.D.; ROSS, T.B.; GONZALEZ, H.L.; OLIVEIRA, D.S. Pontos críticos de controle na pasteurização do leite em microusinas. **Revista do Instituto Latic Cândido Tostes**. v.59,n. 336, p.75-80, 2004.

USDEC – UNITED STATES DAIRY EXPORT COUNCIL. Características, funções e novas aplicações das proteínas de soro e suas novas frações. **Food Ingredients**, São Paulo, n. 17, p. 50-56, 2002.

VARGAS, O. L. Termo-estabilidade de alguns sistemas proteolíticos extracelulares produzidos por bactérias psicrófilas. **Revista Instituto Laticínios Candido Tostes**, p. 20, mai/jun, 1979.

VARNAN, A. H.; SUTHERLAND, J. P. **Leche e productos lácteos: tecnologia, química y microbiología**. Zaragoza: Acribia, SA, 1994. 476 p.

VANDERZANT, C.; SPLITTOESSER, D.F. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 3th ed. Washington: American Public Health Association, 1992.

VILELA, D. Sistema de Produção de Leite para Diferentes Regiões do Brasil. Disponível em: <http://www.cnpqgl.embrapa.br/sistemaproducao/content/sistemas-de-produ%C3%A7%C3%A3o-de-leite-para-diferentes-regi%C3%B5es-do-brasil>. Acesso em 04 de out. 2014

ZOCCAL, R. Agência de Informação Embrapa – agronegócio do leite: estatísticas de consumo. Disponível em: http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Agencia8/AG01/arvore/AG01_168_21720039245.html. Acesso em: 21 fev. 2008.

ZAFFARI, C.B., MELLO, J.F., COSTA, M. Qualidade bacteriológica de queijos artesanais comercializados em estradas do litoral Norte do Rio Grande do Sul, Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.37, n.3, p.862-867, mai-jun, 2007.