REVISTA
DO INSTITUTO DE LATICÍNIOS CÂNDIDO TOSTES
v. 77, n. 4, out-dez 2022

Artigo DOI: 10.14295/2238-6416.v77i4.907

QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE REQUEIJÃO MORENO PRODUZIDO EM SALINAS, MG: UM ESTUDO DE CASO

Microbiological quality of Requeijão Moreno produced in Salinas, MG: a case study

Bruna Castro Porto[1], Cristiana Ferreira dos Santos[1], Rafael Batista de Figueiredo[1], Mariele Silva Cruz[1]*

RESUMO

Muitos dos queijos produzidos no Brasil são advindos de produção artesanal. A importância econômica e social desta forma de produção é indiscutível. Por outro lado, também é de extrema importância a comercialização de alimentos inócuos para a população. O requeijão moreno é um queijo artesanal tradicional do norte de Minas Gerais, amplamente consumido e comercializado na cidade de Salinas, MG, porém, sem o selo Arte que atesta a qualidade do produto artesanal para comercialização. Dessa forma, este trabalho objetivou realizar um estudo de caso que investigasse a qualidade microbiológica do requeijão moreno elaborado sob diferentes condições de processamentos e dos produtos comercializados no Mercado Municipal de Salinas, MG. Para isto, foram produzidas três formulações de requeijão moreno, duas a partir de leite cru (F1 e F2) e uma com leite pasteurizado (F3), e obtidas amostras de quatro produtores (C1, C2, C3, C4, todas produzidas com leite cru). De cada produto, já finalizado, foram retiradas 3 amostras, assim totalizando 21 amostras analisadas quanto a detecção de *Salmonella* sp., contagens de estafilococos coagulase positiva, coliformes totais e termotolerantes. Somente as amostras C3 e C4 apresentaram presença de *Salmonella* sp. Todas as amostras não apresentaram estafilococos coagulase positiva. A partir dos resultados, pode-se observar que é possível obter requeijão moreno produzido com leite cru com qualidade microbiológica desde que executadas as práticas higiênico sanitárias corretamente.

Palavras-chave: enterobactérias; queijo com leite cru; queijo artesanal.

1 Instituto Federal do Norte de Minas Gerais, Campus Salinas, Rodovia MG-404, Km 02 s/n Zona Rural, 39560-000, Salinas, MG, Brasil. E-mail: bruna.porto@ifnmg.edu.br

*Autor para correspondência

Recebido / Received: 16/03/2022
Aprovado / Approved: 27/04/2022

ABSTRACT

Many of the cheeses produced in Brazil come from artisanal production. The economic and social importance of this form of production is undeniable. On the other hand, selling innocuous food to the population is extremely important. Requeijão Moreno is a traditional artisanal cheese from the north of Minas Gerais, widely consumed and marketed in the city of Salinas, MG. However, it does not have the Arte seal that demonstrates the quality of the artisanal product for commercialization. The cheeses produced in Brazil from artisanal production, such as Requeijão Moreno, have significant economic and social relevance. Thus, this study aimed to make a study case that investigated the microbiological quality of Requeijão Moreno made under different processing conditions and products sold at the Municipal Market of Salinas, MG. For this, three Requeijão Moreno formulations were produced, two from raw milk (F1 and F2) and one with pasteurized milk (F3), and samples were obtained from four producers (C1, C2, C3, C4, all produced with raw milk) and three samples were taken from each finished product, thus totalling 21 samples analyzed for the detection of *Salmonella* sp., counts of coagulase-positive staphylococci, and total and thermotolerant coliforms. Only samples C3 and C4 showed the presence of *Salmonella* sp. All samples did not show coagulase-positive staphylococci. From the results, it can be observed that it is possible to obtain Requeijão Moreno produced with raw milk with microbiological quality if hygienic and sanitary practices are correctly performed.

Keywords: enterobacteria; cheese with raw milk; artisanal cheese.

INTRODUÇÃO

Define-se queijo como um produto que pode ser fresco ou maturado, produzido a partir da coagulação do leite, seguido pela separação parcial do soro, adicionado ou não de outras substâncias alimentícias permitidas de acordo com as suas especificidades (BRASIL, 1996). O mercado de queijos no Brasil é composto por um grande número de pequenos produtores, dos quais cerca de 40% são reconhecidos como produtores de queijos artesanais (SEBRAE, 2008).

Queijo artesanal é o queijo obtido por métodos habituais que utilizam boas práticas de fabricação (BPF) e agropecuárias (BPA) e possui apreciação territorial, regional ou cultural, de acordo com suas especificidades (BRASIL, 2019a).

Até 13 de junho de 2018, a comercialização de produtos de origem animal era restrita a estabelecimentos que realizavam a prévia fiscalização dos alimentos ofertados ao consumidor sob o ponto de vista industrial e sanitário. Em 14 de junho de 2018, o governo federal alterou a Lei nº 1.283 de 1950 através da criação da Lei nº 13.680 que permitiu a comercialização de alimentos artesanais, como os queijos artesanais, entre os estados brasileiros desde que os produtos sejam fiscalizados por órgãos de saúde pública dos Estados e do Distrito Federal. Estes alimentos devem ser identificados pelo Selo Arte (BRASIL, 2018). A partir desta Lei, o governo de Minas Gerais, maior produtor de queijos artesanais do país, estabeleceu a Lei nº 23.157 de 2018 (MINAS GERAIS, 2018) e o decreto nº 48.024 de 2020 (MINAS GERAIS, 2020), que designam queijo artesanal é o produto elaborado com leite integral fresco, cru e com características de identidade e qualidade específicas.

Um queijo artesanal típico do norte de Minas Gerais, produzido nos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, bastante consumido na região, é o requeijão moreno, (PINEDA *et al*., 2021), entretanto, não são encontrados produtos comercializados com o Selo Arte, identificação que atestaria a qualidade do produto. Isto pode ser ou se tornar um problema de saúde pública, já que a ingestão de queijo a partir de leite cru é frequentemente associada ao desenvolvimento de doenças veiculadas por alimentos (DVA) (CORREIA; ASSIS, 2017; SILVA; SILVA, 2013; AZEVEDO *et al*., 2017). Os principais microrganismos contaminantes em queijo, responsáveis pelas DVA são *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp., *Escherichia coli*

e *Staphylococcus aureus* (COUTINHO *et al*., 2020).

Após 18 anos, os padrões microbiológicos brasileiros aplicados a alimentos foram atualizados por meio da Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº 331 de 2019 (BRASIL, 2019b), cujas listas estão presentes na Instrução Normativa nº 60 de 2019 (BRASIL, 2019c). A partir destas listas, a qualidade microbiológica de um determinado queijo pode ser atestada quando, em uma amostra de cinco unidades pertencentes a um mesmo lote, todas apresentarem ausência de *Salmonella* sp. e de enterotoxinas estafilocócicas, e no máximo duas unidades apresentarem "qualidade intermediária" para estafilococos coagulase positiva e *E. coli*. A qualidade intermediária para estafilococos coagulase positiva ocorre quando o queijo apresenta de 10^2 a 10^3 UFC/g. Para *E. coli*, os valores dependem do teor de umidade do queijo. Queijos com umidade abaixo de 46% ou com umidade ≥ 46%, apresentarão qualidade intermediária quando possuírem de 101 a 102 UFC/g ou de 10^2 a 10^3 UFC/g de *E. coli*, respectivamente (BRASIL, 2019c). Sendo assim, este trabalho foi realizado devido a necessidade de realizar um estudo de caso que avaliasse a qualidade microbiológica dos requeijões morenos comercializados na cidade de Salinas, MG e, testasse a eficiência de diferentes processos com variado nível de adoção de práticas de inocuidade na microbiota patogênica de requeijão moreno.

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado nos meses de outubro a novembro de 2021. Para o presente estudo, três requeijões morenos (F1, F2 e F3) foram elaborados sob diferentes formas de processamento: a) requeijão produzido com leite cru e dessorado sob temperatura ambiente, com o objetivo de reproduzir o processo de elaboração tradicional do produto nas cidades do norte de Minas Gerais; b) requeijão produzido com leite cru e dessorado sob refrigeração a fim de verificar a elaboração de um produto artesanal utilizando uma prática higiênico-sanitária adicional; e, c) requeijão produzido com leite pasteurizado e dessorado sob refrigeração. Os leites (cru e pasteurizado) foram fornecidos pelo setor de laticínios da própria instituição. Quatro amostras de requeijão comerciais (C1, C2, C3 e C4) foram obtidas de produtores no Mercado Municipal de Salinas, MG.

Elaboração dos requeijões morenos com diferentes processamentos

Os requeijões foram preparados com diferentes condições higiênico sanitárias e foram denominados F1, F2 e F3. As etapas que os diferenciaram foram indicadas com o código da amostra. Todos os utensílios utilizados no processo foram higienizados. Foram adicionados 20 L de leite cru (F1 e F2) ou pasteurizado (F3) em cubas de aço inoxidável diferentes para obtenção das três formulações. As cubas foram cobertas com filme de policloreto de vinila (PVC) (Bandeirante, Brasil) e deixadas em temperatura ambiente para acidificação natural do leite com consequente coagulação por 48 h.

Após a coagulação do leite, observou-se a formação de três fases: superior (nata), intermediária (coágulo) e inferior (soro de leite). Primeiramente, a nata foi retirada com auxílio de escumadeira, acondicionada em cuba de aço inoxidável identificada com a respectiva formulação e armazenada sob refrigeração (~8°C). Posteriormente, retirou-se o coágulo e o levou para o aquecimento com uma parte do soro (~2 L) até formar uma massa com liga. Após o aquecimento, a massa foi envolvida com tecido de nylon (100 cm×60 cm) para ser dessorada. A formulação F1 foi dessorada em temperatura ambiente e as formulações F2 e F3 foram dessoradas sob refrigeração (~8 °C) durante 24 h.

Após dessoragem, a massa foi fragmentada manualmente, colocada em água potável quente para lavagem (~1 L) e dessorada no mesmo tecido de nylon por 1 h. Em seguida, 7 L de leite cru foram submetidos a ebulição por 20 minutos, e a massa dessorada, novamente fragmentada manualmente, foi adicionada ao leite em temperatura de ebulição. Paralelamente a este processo, as natas foram batidas em liquidificador industrial com água gelada filtrada, por 1 min. e 10s., até a

obtenção de um creme firme. Posteriormente, o creme foi lavado com água gelada filtrada até a obtenção de uma água de lavagem límpida. Logo após, o creme foi aquecido para remoção da água remanescente, e adicionado de 14 g de sal (NaCl) para a obtenção da manteiga.

Após o tempo de cocção da massa, esta foi dessorada novamente com o tecido de nylon por aproximadamente 30 min. Em seguida, a massa foi fragmentada e aquecida em recipiente de aço inoxidável com 15 cm de profundidade, juntamente com a manteiga para fusão da massa. Durante este período, a massa foi constantemente amassada de forma uniforme até desgrudar do fundo do recipiente de aço inoxidável. Por fim, realizou-se o processo de moldagem em fôrmas de madeira envernizada, esperou-se esfriar, as amostras foram acondicionadas em embalagens de polipropileno e armazenadas sob refrigeração (~8°C).

Verificação da qualidade microbiológica dos requeijões morenos

Foram obtidas três amostras de cada um dos três processos de elaboração de requeijão moreno realizados no projeto (F1, F2 e F3) e três amostras de cada um dos quatro produtores de requeijão moreno identificados no Mercado Municipal de Salinas (C1, C2, C3 e C4), totalizando 21 amostras que foram analisadas quanto a detecção de *Salmonella* sp. e determinação de estafilococos coagulase positiva, coliformes totais e termotolerantes.

Detecção de *Salmonella* sp.

Para a detecção de *Salmonella* sp. foram utilizados os métodos ISO 6579 para as etapas de pré-enriquecimento, enriquecimento seletivo, plaqueamento diferencial e confirmação sorológica (SILVA *et al*., 2018), e BAM/FDA:2016 para a confirmação bioquímica (ANDREWS *et al*., 2016). Inicialmente, foi realizado o pré-enriquecimento, em que 25g da amostra foram diluídos em 225 mL de água peptonada tamponada, homogeneizados em stomacher e incubados a 37 ± 1°C por 18 ± 2h. Em seguida, foi realizado o enriquecimento seletivo, transferindo-se 0,1 mL do caldo de pré-enriquecimento para 10 mL de caldo Rappaport – Vassilidis Soja (RVS) (HIMEDIA, Índia) e 1,0 mL para 10 mL de caldo Tetrationato Muller Kauffmann Novobiocina (MKTTn) (MED, Brasil). Os tubos de caldo RVS foram incubados a 41,5 ± 1°C por 24 ± 3h e os tubos de caldo MKTTn a 37 ± 1°C por 24 ± 3h. Após a incubação foi feito o plaqueamento diferencial.

De cada cultura em RVS e MKTTn, estriou-se uma alçada em placas previamente preparadas de ágar Xilose Lisina Desoxicolato (XLD) (SIGMA-ALDRICH, Brasil) e ágar Verde Brilhante (TM MÉDIA, Índia). As placas foram incubadas invertidas a 37 ± 1°C por 24 ± 3h. Posteriormente, verificou-se o desenvolvimento de colônias típicas de *Salmonella* sp.

Em cada placa inoculada foram marcadas até cinco colônias típicas para confirmação. As colônias foram estriadas em tubos de ágar Nutriente (NA) inclinados (TM MÉDIA, Índia) e incubadas a 37 ± 1°C por 24 ± 3h. Após a incubação foi realizada a confirmação bioquímica. Para esta etapa, cada colônia em ágar nutriente foi inoculada em tubos de ágar Tríplice Açúcar Ferro (TSI) (TM MÉDIA, Índia) e ágar Lisina Ferro (LIA) (HIMEDIA, Índia) inclinados, que foram incubados a 37 ± 1°C por 24 ± 3h. No caso de teste positivo, as colônias foram submetidas a confirmação por sorologia flagelar. Cada colônia foi inoculada em ágar nutriente (TM MÉDIA, Índia) semissólido e incubada a 37 ± 1°C por 24 ± 3h. Após incubação, foram marcados dois quadrados de aproximadamente 2 cm² em uma lâmina de vidro estéril, uma gota de solução salina estéril foi colocada em um quadrado e uma gota do antissoro poli H (PROBAC, Brasil) no outro. Em seguida, uma alçada da colônia foi emulsionada nos dois quadrados, a lâmina foi segurada contra um fundo preto bem iluminado e foi observada a ocorrência de aglutinação indicando teste positivo para *Salmonella* sp.

Determinação de estafilococos coagulase positiva

Para a determinação de estafilococos coagulase positiva, o método utilizado foi o plaqueamento ISO 6888-1:1999/Amd 1:2003 (SILVA *et al*., 2018). Inicialmente, a partir do caldo de pré-enriquecimento (diluição 10^{-1}) obtido na seção 4.4.1 foram realizadas as diluições 10^{-2} e 10^{-3},

inoculando 1 mL da diluição antecedente em 9 mL de água peptonada tamponada. Uma alíquota de 0,1 mL de cada diluição de cada amostra de requeijão moreno foi inoculada em placas de ágar Baird-Parker (BP) (TM MÉDIA, Índia) suplementado com gema de ovo com telurito (TM MÉDIA, Índia). O inóculo foi espalhado com alça de Drigaslski até que todo o líquido fosse absorvido pelo meio de cultura.

As placas foram incubadas invertidas a 35 ± 1°C/48 ± 2h. Cinco colônias típicas e/ou atípicas (quando não ocorreu a contagem mínima de colônias típicas) foram submetidas ao teste de coagulase. Para este teste, cada colônia foi inoculada em tubo contendo caldo *Brain Heart Infusion* (BHI) (HIMEDIA, Índia) e incubada a 35 ± 1°C/48 ± 2h.

Após incubação, 0,1 mL da cultura e 0,3 mL de coagulase plasma EDTA (BBL, Brasil) foram adicionados em tubos estéreis, incubados a 35-37°C/4-6 h e observou-se a formação de coágulos nos tubos. Tubos com formação de coágulo em mais da metade do volume original do líquido foram considerados na contagem de estafilococos coagulase positiva. Para o cálculo do resultado foi utilizada a equação:

$$UFC/g = \frac{\sum[(\frac{b_1.C_1}{A_1}) + (\frac{b_a.C_a}{A_a})]}{[v.(n_1 + 0{,}1.n_2).d]}$$

Onde, b é o número de típicas (b_1) ou atípicas (b_a) confirmadas, dentre as que foram submetidas à confirmação; C é o número de colônias típicas (C_1) ou atípicas (C_a) presentes em cada placa selecionada para contagem; A é o número de colônias típicas (A_1) ou atípicas (A_a) submetidas à confirmação; v é o volume inoculado em cada placa; n_1 é o número de placas contadas da primeira diluição selecionada; n_2 é o número de placas contadas da segunda diluição; e, d é a primeira diluição retida para contagem.

As contagens de *S. aureus* apresentadas na Tabela 2 foram obtidas através da média aritmética dos valores de C_1 e C_a isolados ou em conjunto.

Determinação de coliformes totais e termotolerantes

Na determinação de coliformes totais e termotolerantes foi utilizado o método do Número Mais Provável (NMP) APHA 9:2015 (KORNACKI *et al*., 2015). As mesmas diluições 10^{-1}, 10^{-2} e 10^{-3} descritas na seção 4.4.2 foram utilizadas nesta análise. Uma alíquota de 1 mL das três diluições foi inoculada em cada três tubos contendo 10 mL de caldo Lauril Sulfato Triptose (LST) (LAB M, Reino Unido). Os tubos de LST foram incubados a 35 ± 0,5°C/24 - 48h e observado se houve crescimento com produção de gás, indicando resultado positivo para o teste presuntivo de coliformes totais. Para o teste confirmativo de coliformes totais, 1 mL de cada tubo LST positivo foi inoculado em tubo contendo 10 mL de caldo Bile Verde Brilhante (VB) (TM MÉDIA, Índia) e incubado a 35 ± 0,5°C/24 - 48h. Resultado positivo foi obtido quando observado crescimento com produção de gás. Os tubos de LST que apresentaram resultado positivo para coliformes totais prosseguiram para a análise de coliformes termotolerantes, em que 1 mL de cada tubo LST foi inoculado em tubo com 10 mL de caldo EC (TM Média, Índia) e incubado a 45,5 ± 0,2°C por 24 ± 2h. A identificação de crescimento com produção de gás em caldo EC, confirmou a contagem de coliformes termotolerantes.

Os resultados foram obtidos através da Tabela de NMP apresentada por Silva *et al*. (2018) e Blodgett (2010) de NMP para série de três tubos com quantidade inoculada de 0,1 - 0,01 e 0,001 g.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 1 estão apresentados os resultados da análise microbiológica dos requeijões moreno obtidos no presente estudo (F1, F2 e F3) e também os requeijões comercializados no Mercado Municipal de Salinas, MG (C1, C2, C3 e C4).

Conforme mencionado anteriormente, a IN 60/2019 solicita que sejam investigadas cinco unidades de cada amostra de requeijão moreno. Contudo, apesar de ter sido estudado um menor número de unidades amostrais neste trabalho, foi possível fazer uma comparação entre as amostras em relação aos microrganismos e resultados considerados pela instrução normativa (BRASIL, 2019c). Todas as amostras formuladas no pre-sente

estudo (F1, F2 e F3) apresentaram ausência de *Salmonella* sp., ausência de *E. coli* e ausência de estafilococos coagulase positiva (Tabela 1). Embo-ra não tenha sido realizada a quantificação de enterotoxinas estafilocócicas nestas amostras, a quantificação de colônias típicas e atípicas presen-tes nessas formulações (<10^2 UFC/g) sugere a ausência destas substâncias que ocorrem, de maneira geral, quando as amostras apresentam contagens a partir de 10^6 UFC/g (TORTORA *et al*., 2012).

Tabela 1. Análise microbiológica dos requeijões morenos elaborados no projeto (F1, F2 e F3) e comercializados em Salinas, MG (C1, C2, C3 e C4)

Amostra	Unidade amostral	*Salmonella* sp.	Estafilococos coag. positiva (UFC/g)	Coliformes totais (NMP/g)	Coliformes termotolerante (NMP/g)
F1	1	Ausência	<1,0×10^0	<3×10^0	–
	2	Ausência	<1,0×10^0	<3×10^0	–
	3	Ausência	<1,0×10^0	<3×10^0	–
F2	1	Ausência	<1,0×10^0	<3×10^0	–
	2	Ausência	<1,0×10^0	<3×10^0	–
	3	Ausência	<1,0×10^0	<3×10^0	–
F3	1	Ausência	<1,0×10^0	<3×10^0	–
	2	Ausência	<1,0×10^0	3,6×10^0	<3×10^0
	3	Ausência	<1,0×10^0	<3×10^0	–
C1	1	Ausência	<1,0×10^0	<3×10^0	–
	2	Ausência	<1,0×10^0	<3×10^0	–
	3	Ausência	<1,0×10^0	<3×10^0	–
C2	1	Ausência	<1,0×10^0	<3×10^0	<3×10^0
	2	Ausência	<1,0×10^0	2,3×10^1	<3×10^0
	3	Ausência	<1,0×10^0	9,2×10^0	<3×10^0
C3	1	Ausência	<1,0×10^0	2,8×10^1	<3×10^0
	2	Ausência	<1,0×10^0	1,1×10^3	3,6×10^0
	3	Presença	<1,0×10^0	4,6×10^2	<3×10^0
C4	1	Ausência	<1,0×10^0	1,5×10^1	<3×10^0
	2	Presença	<1,0×10^0	<3×10^0	–
	3	Ausência	<1,0×10^0	<3×10^0	–

Com este resultado, pode-se supor que é possível gerar um requeijão moreno com qualidade microbiológica a partir de leite cru (F1 e F2), se forem executadas as BPF básicas como higiene pessoal, e, higiene de utensílios, equipamentos e instalações. Este comportamento está relacionado a este tipo de queijo e não deve ser estendido para os demais queijos elaborados a partir de leite cru, visto que o requeijão moreno é um produto que passa por diversos processos térmicos que contribuem para este resultado. Cada queijo artesanal tem suas especificidades de processo, o que faz com que cada caso deva ser analisado isoladamente. Além disso, vale enfatizar que a aplicação de processo térmico na elaboração de queijos, sem a adoção das BPF e BPA não é garantia de inocuidade no produto final, pois pode haver contaminação pós-processo e

formação de toxinas termorresistentes anterior ao processo térmico.

Duas amostras comerciais (C1 e C2) apresentaram os mesmos resultados para *Salmonella* sp. (ausência) e estafilococos coagulase positiva (<1,0 UFC/g) quando comparados às amostras formuladas (F1, F2 e F3), e, mesmo se diferenciando na contagem de *S. aureus* (Tabela 2), também pode-se sugerir ausência de enterotoxinas estafilocócicas devido a contagem inferior a 10^6 UFC/g (TORTORA *et al*., 2012). Entretanto, devido a comercialização do requeijão moreno em temperatura ambiente por parte de todos os produtores, esse limite de 10^6 UFC/g poderia ter sido facilmente ultrapassado até o final da sua vida de prateleira. A contagem elevada de *S. aureus* nas amostras recém-produzidas sugere a deficiência de práticas higiênico sanitárias por parte dos produtores dos requeijões C1 e C2. A mesma hipótese se aplica aos produtores das amostras C3 e C4 que, além de apresentarem elevada contagem de *S. aureus* (Tabela 2), apresentaram *Salmonella* sp. tornando os produtos impróprios para comercialização.

Tabela 2. Contagem de *S. aureus* dos requeijões morenos comercializados em Salinas, MG

Amostra	Unidade amostral	Contagem de *S. aureus* (UFC/g)		
		Colônias típicas	Colônias atípicas	Total
C1	1	$9,0\times10^3$	$3,6\times10^4$	$4,5\times10^4$
	2	$6,5\times10^4$	$3,9\times10^5$	$4,6\times10^5$
	3	$<1\times10^4$	$4,3\times10^5$	$4,3\times10^5$
C2	1	$<1\times10^2$	$<1\times10^2$	$<1\times10^2$
	2	$<1\times10^2$	$<1\times10^2$	$<1\times10^2$
	3	$5,5\times10^3$	$1,7\times10^5$	$1,7\times10^5$
C3	1	Incontável	Incontável	Incontável
	2	$2,4\times10^6$ (est.)	$6,9\times10^6$ (est.)	$9,3\times10^6$ (est.)
	3	Incontável	Incontável	Incontável
C4	1	$3,7\times10^4$	$4,0\times10^4$	$7,6\times10^4$
	2	$1,6\times10^4$	$9,5\times10^3$	$2,5\times10^4$
	3	$1,9\times10^4$	$1,9\times10^4$	$3,7\times10^4$

Legenda: est. = valor estimado devido a utilização do método de contagem por quadrante.

A amostra com a qualidade mais comprometida foi a C3, que além de apresentar *Salmonella* sp., apresentou contagem de coliformes termotolerantes (3,6×100 NMP/g) (Tabela 1) e contagem de *S. aureus* acima de 1×10^6 UFC/g (Tabela 2), aumentando a probabilidade de conter enterotoxinas estafilocócicas. Dessa forma, os produtos elaborados por este produtor representam um grande perigo para a saúde pública da cidade de Salinas, MG e região.

Quando se compara os resultados obtidos para os requeijões elaborados no estudo (F1, F2 e F3) que se diferenciaram em relação ao nível de adoção de práticas higiênico sanitárias, observa-se que a formulação F3, elaborada com leite pasteurizado e dessorada sob refrigeração, apresentou contagem de coliformes totais de $3,6\times10^0$ NMP/g (o que corresponde a 1 tubo positivo em 27 inoculados) (Tabela 1), sugerindo possível contaminação durante a análise microbiológica e/ou contaminação da amostra.

Borges *et al*. (2003) detectaram altos níveis de contaminação por *Salmonella* spp. em queijos de coalho produzidos no estado do Ceará, em sua

maioria, de forma artesanal a partir de leite cru e submetidos a temperaturas de aquecimento que variam de 45 a 50°C. Das 43 amostras estudadas, a presença de *Salmonella* spp. foi detectada em 15 amostras (34,9%).

Na análise de estafilococos coagulase positiva, todas as amostras de requeijão moreno obtiveram resultados satisfatórios (<1 UFC/g) (Tabela 1). Resultado semelhante foi encontrado por Silva *et al*. (2020) que, ao realizar a contagem de estafilococos coagulase positiva em queijo Macururé produzido com leite cru em Jacaré dos Homens-AL, obteve valores dentro dos limites da legislação vigente para queijos de média umidade, encontrando valores $<10^2$ UFC/g.

Sabe-se que microrganismos patogênicos não esporulados como *Salmonella* sp., *S. aureus* e *E. coli* são facilmente destruídos pelo processo de pasteurização convencional (aquecimento que utiliza temperaturas inferiores a 100°C por alguns minutos) (FELLOWS, 2006). Durante o processamento de requeijão moreno, é possível identificar diversas etapas de aquecimento mais intensas que processos de pasteurização. Dessa forma, acredita-se que as contaminações encontradas nos requeijões comerciais foram, majoritariamente, originadas de contaminação pós-processo, como nas etapas de moldagem, acondicionamento e manuseio pós-processo.

O requeijão C3 obteve valores elevados de coliformes totais que atingiram $1{,}1\times10^3$ NMP/g. De forma semelhante, Andrade *et al*. (2018), que avaliaram a qualidade microbiológica de queijos minas tipo frescal produzidos a partir de leite cru comercializados nas feiras livres do município de Unaí-MG, obtiveram valores elevados de coliformes totais chegando a $1{,}1\times10^3$ NMP/g em suas análises.

De acordo com Santana *et al*. (2008), com base nos limites da RDC nº 12 de 2 de janeiro de 2001 (BRASIL, 2001), já revogada, que apresentava limite de tolerância de coliformes termotolerantes de 5×10^2 NMP/g de amostra, verificaram que 93,3% dos queijos analisados na cidade de Aracaju, SE, não estavam aptos à comercialização e, consequentemente, ao consumo humano. Os valores encontrados no estudo de Santana *et al*. (2008) assemelham-se aos apresentados também por Loguercio *et al*. (2001) que observaram que 93,3% dos queijos minas frescais artesanais, comercializados na cidade de Cuiabá, MT, estavam fora dos padrões da legislação brasileira vigente (coliformes termotolerantes acima de 10^2 NMP/g). Sendo assim, observa-se que é preciso obter queijos com qualidade microbiológica a partir de leite cru, mas que também é comum encontrar contaminação nestes produtos, sinalizando a importância de maior atuação por parte dos órgãos fiscalizadores.

Queijo de leite cru é comercializado no mercado brasileiro e nas ruas e consumido por grande parte da população. Por outro lado, a fiscalização é deficiente, o que faz do queijo um veículo potencial para doenças patogênicas.

CONCLUSÃO

O estudo de caso realizado no presente estudo possibilitou observar que através de implantações de práticas higiênico-sanitárias previstas nas Boas Práticas de Fabricação e Boas Práticas Agropecuárias, juntamente com as etapas de aquecimento utilizadas no fluxograma de processo destes produtos, é possível obter requeijão moreno com adequado padrão microbiológico (ausência de *Salmonella* sp., ausência de estafilococos coagulase positiva e contagem de coliformes totais $<3{,}0\times 10^0$ NMP/g). Também foi evidente a necessidade de melhoria do processo produtivo de requeijão moreno por parte dos produtores da cidade de Salinas, MG, em que duas das quatro amostras comerciais investigadas apresentaram *Salmonella* sp. Estes resultados são importantes e servem de referência para que as autoridades de saúde pública federais, estaduais e municipais possam colocar em prática ações educativas e punitivas mais efetivas para o controle sanitário e qualidade dos queijos artesanais produzidos e comercializados na região.

REFERÊNCIAS

ANDRADE, K. A. *et al*. Qualidade microbiológica de queijos comercializados nas feiras livres do município de Unaí, MG, Brasil. *In*: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE

ZOOTECNIA, 55., 2018. Goiânia. **Resumos [...]**. Goiânia: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2018.

ANDREWS, W. H. *et al*. *Salmonella*. *In*: MERKER, R. I. (ed.). **Bacteriological Analytical Manual (BAM).** Maryland: FDA, 2016. cap. 5.

AZEVEDO, A. C. A. *et al*. Qualidade microbiológica do queijo de manteiga comercializado em supermercados e feiras livres da cidade de Natal, RN. **Higiene Alimentar**, v. 31, n. 266-267, p. 91-95, 2017.

BLODGETT, R. Appendix 2 – Most Probable Number from Serial Dilutions. *In*: MERKER, R. I. (ed.) **Bacteriological Analytical Manual**. Maryland: FDA, 2010.

BORGES, M. F. *et al*. Microrganismos patogênicos e indicadores em queijo coalho produzido no Estado do Ceará, Brasil. **Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos**, v. 21, n. 1, p. 31-40, 2003. DOI: 10.5380/cep.v21i1.1146

BRASIL. Decreto nº 9.918 de 18 de julho de 2019. Regulamenta o art. 10-A da Lei nº 1.283, de 18 de dezembro de 1950, que dispõe sobre o processo de fiscalização de produtos alimentícios de origem animal produzidos de forma artesanal. **Diário Oficial da União**: seção 1, Brasília, DF, n. 138, p. 04, 19 jul. 2019a.

BRASIL. Lei nº 13.680, de 14 de junho de 2018. Altera a Lei nº 1.283, de 18 de dezembro de 1950, para dispor sobre o processo de fiscalização de produtos alimentícios de origem animal produzidos de forma artesanal. **Diário Oficial da União**: seção 1, Brasília, DF, n. 114, p. 02, 15 jun. 2018.

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. 1996. **Diário Oficial da União:** seção 1, Brasília, DF, n. 48, p. 3977, 11 mar. 1996.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. RDC nº 331, de 23 de dezembro de 2019. Dispõe sobre os padrões microbiológicos de alimentos e sua aplicação. **Diário Oficial da União**: seção 1, Brasília, DF, n. 249, p. 96, 26 dez. 2019b.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001. Aprova o Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos. **Diário Oficial da União**: seção 1, Brasília, DF, n. 7, p. 45, 10 jan. 2001.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Instrução Normativa nº 60, de 23 de dezembro de 2019. Estabelece as listas de padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial da União**: seção 1, Brasília, DF, n. 249, p. 133, 26 dez. 2019c.

CORREIA, V. T. V.; ASSIS. I. C. L. Queijos artesanais: revisão de literatura. **Nutritime Revista Eletrônica**, v. 14, n. 06, p. 8001-8008, 2017.

COUTINHO, M. G. S. *et al.* Utilização de óleos essenciais na conservação de queijo: revisão. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 75, n. 2, p. 126-141, 2020. DOI: 10.14295/2238-6416.v75i2.777

FELLOWS, P. J. **Tecnologia do Processamento de Alimentos**: princípios e prática. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2006.

ISO - The International Organization for Standardization. **ISO 6888-1:1999.** Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the enumeration of coagulase-positive staphylococci (*Staphylococcus aureus* and other species). Part 1: Technique using Baird-Parker agar medium. 1. ed. Geneva: ISO, 1999.

ISO - The International Organization for Standardization. **ISO 6579:2007.** Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the detection of *Salmonella* spp. 4. ed. Geneva: ISO, 2007.

KORNACKI, J. L. *et al*. *Enterobacteriaceae*, coliforms and *Escherichia coli* as quality and safety indicators. *In*: SALFINGER, Y.; TORTORELLO, M. L. (ed.). **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods**. 5. ed. Washington: American Public Health Association, p. 103-120, 2015.

LOGUERCIO, A. P. *et al*. Microbiologia de queijo tipo minas frescal produzido artesanalmente. **Ciência Rural**, v. 31, n. 6, p. 1063-1067, 2001. DOI: 10.1590/S0103-84782001000600024

MINAS GERAIS. Decreto nº 48.024, de 19 de agosto de 2020. Regulamenta a Lei nº 23.157, de 18 de dezembro de 2018, que dispõe sobre a produção e a comercialização dos queijos artesanais de Minas Gerais. **Minas Gerais Diário do Executivo**: caderno 01, ano 128, Belo Horizonte, MG, p. 01, n. 171, 20 ago. 2020.

MINAS GERAIS. Lei Estadual nº 23.157, de 18 de dezembro de 2018. Dispõe sobre a produção e a comercialização dos queijos artesanais de Minas Gerais. **Minas Gerais Diário do Executivo**: col 1, Belo Horizonte, MG, p. 01, 19 dez. 2018.

PINEDA, A. P. A. *et al*. Brazilian artisanal cheeses: diversity, microbiological safety, and challenges for the sector. **Frontiers in Microbiology**, v. 12, n. 666922, p. 1-16, 2021. DOI: 10.3389/fmicb.2021.666922

SANTANA, R. F. *et al*. Qualidade microbiológica de queijo-coalho comercializado em Aracaju, SE. **Arquivo Brasileiro de**

Medicina Veterinária e Zootecnia, v. 60, n. 6, p. 1517-1522, 2008. DOI: 10.1590/S0102-09352008000600031

SEBRAE; ESPM. **Queijos nacionais:** estudos de mercado. 2008. Disponível em: http://www.bibliotecas.sebrae.com.br/chronus/ARQUIVOS_CHRONUS/bds/bds.nsf/4416AA3881FA433B832574DC00471EF1/%24File/NT0003909A.pdf Acesso em: 09 fev. 2022.

SILVA, F.; SILVA, G. **Análise microbiológica e físico-química de queijos coloniais com e sem inspeção, comercializados na microrregião de Francisco Beltrão-PR**. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Tecnólogo em Alimentos) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Francisco Beltrão, 2013. 58p

SILVA, L. F. C. *et al*. Queijo Macururé fabricado em Jacaré dos Homens, AL: características físico-químicas, microbiológicas e de produção. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 75, n. 2, p. 115-125, 2020. DOI: 10.14295/2238-6416.v75i2.818

SILVA, N. *et al*. **Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos e Água**. 5. ed. São Paulo: Blucher, 2018. 535 p.

TORTORA, G. J. et al. **Microbiologia**. 10. ed. Porto Alegre: Artmed, 2012.