

Evolução da microbiota contaminante em linha de processamento de queijos Minas frescal e ricota

Evolution of microbial contaminants in the processing line of Minas frescal and ricotta cheeses

RIALA6/1254

Vidiany Aparecida Queiroz SANTOS^{1*}, Fernando Leite HOFFMANN¹

*¹Endereço para correspondência: Laboratório de Microbiologia de Alimentos, Departamento de Engenharia e Tecnologia de Alimentos, Instituto de Biociências Letras e Ciências Exatas, IBILCE, Universidade Estadual Paulista, UNESP, Rua Cristóvão Colombo nº 2265, Bairro Jardim Nazareth, CEP: 15054-000, São José do Rio Preto, SP, Brasil. email: vidianyqueiroz@yahoo.com.br

Recebido: 05.10.2009 – Aceito para publicação: 06.03.2010

RESUMO

Queijos frescos como o Minas frescal e a ricota são excelentes meios para a proliferação de microbiota indesejável, prejudicando a qualidade e a integridade destes produtos. Nesse contexto, este estudo objetivou avaliar a evolução da microbiota contaminante em linha de processamento de queijos Minas frescal e ricota, de uma indústria de laticínios localizada no município de São José do Rio Preto-SP. As análises foram realizadas nas seguintes etapas: água, leite pasteurizado, coalho, massa, soro, superfície palmar dos manipuladores e tanque de coagulação, e queijos nos tempos zero e cinco dias de vida de prateleira. Tais etapas foram monitoradas por meio da determinação do NMP de coliformes totais e termotolerantes; contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva e bactérias aeróbias mesófilas; pesquisa de *Escherichia coli*, *Salmonella* spp. e *Listeria monocytogenes*. Foram avaliadas doze amostras em cada uma das etapas. Das amostras de água, observou-se que três das amostras apresentaram valores acima do estabelecido para bactérias aeróbias mesófilas. Três amostras de leite apresentaram-se em desacordo para coliformes termotolerantes. As amostras de massa, coalho e soro apresentaram reduções nas contagens para todos os microrganismos. A superfície palmar e tanque de coagulação apresentaram baixas contagens para todos os bioindicadores. Os queijos apresentaram inconformidade para *Staphylococcus* coagulase positiva. Todas as amostras de leite apresentaram conformidade quanto à fosfatase/peroxidase.

Palavras-chave. bioindicadores, queijo Minas frescal, ricota, fosfatase/peroxidase.

ABSTRACT

Fresh cheeses such as Minas frescal and ricotta are excellent means for undesirable microorganisms to thrive, damaging quality and wholesomeness of these products. In this context, this study aimed at evaluating the contaminating microorganisms in the processing line of fresh cheese, namely Minas frescal and ricotta, of a dairy plant nestled in the city of São José do Rio Preto-SP. The analyses were carried out with the following steps: water, pasteurized milk, curd, mass, whey, palmar surface and coagulation tank, and cheeses with zero and five days of shelf life. Such steps were monitored by determining the MLN of total coliforms and thermotolerants; counting of coagulase-positive *Staphylococcus* and mesophilic aerobic bacteria; search of *Escherichia coli*, *Salmonella* spp. and *Listeria monocytogenes*. Twelve samples were evaluated in each step. Among the water samples, three are provided with higher values than the ones recommended in terms of mesophilic aerobic bacteria. Three milk samples did not comply with thermotolerant coliforms. The mass samples, curd and whey showed a decrease in the counting for all microorganisms. Both palm surface and coagulation tank showed low counting for all bioindicators. All milk samples showed compliance regarding phosphatase/peroxidase.

Key words. bioindicators, Minas frescal, ricotta cheese, phosphatase/peroxidase.

INTRODUÇÃO

No Brasil, o setor laticinista tem grande importância socioeconômica, em especial na fabricação de queijos, ocupando o sexto lugar em produção mundial. De toda a produção anual, a maior parte é considerada de consumo popular, destacando-se os queijos Minas, mussarela, ricota, prato e parmesão¹.

Os queijos Minas frescal e ricota são produtos altamente consumidos no Brasil, devido ao reduzido teor de gordura e baixo custo que apresentam, sendo muito indicados em dietas com restrições a lipídios².

Segundo a Associação Brasileira das indústrias de queijos - ABIQ, em 2008 a produção de queijo Minas frescal foi de toneladas e para ricota a produção atingiu 10.500 toneladas³.

O queijo Minas frescal é tipicamente brasileiro e sua produção ocorre pela coagulação enzimática do leite com coalho e/ou outras enzimas coagulantes apropriadas, complementada ou não pela ação de bactérias lácticas específicas^{4,5}.

A ricota é de origem italiana, constituída basicamente de lactalbumina e lactoglobulina, proteínas essenciais para a melhoria do sistema imunológico. Apresenta ainda, teores reduzidos de gordura e sal⁶. A manufatura da ricota ocorre utilizando-se como matérias-primas as proteínas do soro do leite e leite fresco pasteurizado, os quais são submetidos a tratamento térmico e acidificação⁷.

Estes queijos, por apresentarem elevada umidade e alto teor de nutrientes, têm elevado potencial em sofrer deteriorações/contaminações de origem microbiana, podendo causar toxinfecções de origem alimentar graves. Os principais bioindicadores de contaminação presentes nesses tipos de queijos, incluem microrganismos do grupo dos coliformes, bactérias como *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes* e *Staphylococcus aureus*, e ainda, leveduras e alguns bolores^{8,9}.

A presença desses microrganismos no alimento, está relacionada à má qualidade da matéria-prima e adoção de técnicas higiênicas inadequadas, que comprometem a segurança do produto final^{10,11}.

Conforme o exposto e levando-se em conta o importante papel das microindústrias produtoras de queijos como fonte de geração de empregos em todo o país e ainda a popularidade destes queijos entre os consumidores, associada às excelentes características

destes queijos para o desenvolvimento microbiano, torna-se importante a avaliação de adequações e adoção de ações corretivas durante as etapas de fabricação, o que consequentemente refletirá na qualidade microbiológica e físico-química dos mesmos.

MATERIAL E MÉTODOS

Obtenção das amostras

Este trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Microbiologia de Alimentos da Universidade Estadual Paulista - UNESP, e as amostras foram cedidas por um laticínio de pequeno porte, produtor de queijos Minas frescal e ricota, localizado no município de São José do Rio Preto - SP. As coletas foram realizadas, conforme o fluxograma de fabricação descrito na Figura 1, totalizando doze repetições, incluindo as seguintes etapas: água, leite pasteurizado, coalho, massa, soro, superfície palmar dos manipuladores e tanque de coagulação, e ainda, queijos Minas frescal e ricota logo após o processamento (t_0) e com cinco dias de vida de prateleira (t_5).

Preparo das amostras

As amostragens foram realizadas conforme estabelecido pela legislação (Brasil, 2003)¹², sendo utilizada para os queijos a amostragem representativa do lote e para as demais etapas do processamento adotou-se amostragem indicativa, totalizando doze repetições em duplicata.

Para a coleta das amostras da superfície palmar e tanque de coagulação foi adotada metodologia sugerida por Silva (2007)¹³, onde se utilizou *swabs* estéreis, os quais foram posteriormente adicionados em tubos contendo água destilada estéril e transportados juntamente com as demais amostras, ao Laboratório para análise imediata. Vale destacar que a área a ser amostrada na superfície do tanque de coagulação foi delimitada utilizando-se placa de amostragem com abertura de 20 cm.

No Laboratório as amostras foram identificadas e a seguir foram pesados ou pipetados assepticamente 10 g/10 mL de cada amostra, sendo adicionados em um frasco de Erlenmeyer contendo 90 mL de água destilada estéril, seguida de homogeneização, constituindo assim a diluição 10^{-1} . A partir desta, foram efetuadas as demais diluições decimais seriadas, utilizando o mesmo diluente¹².

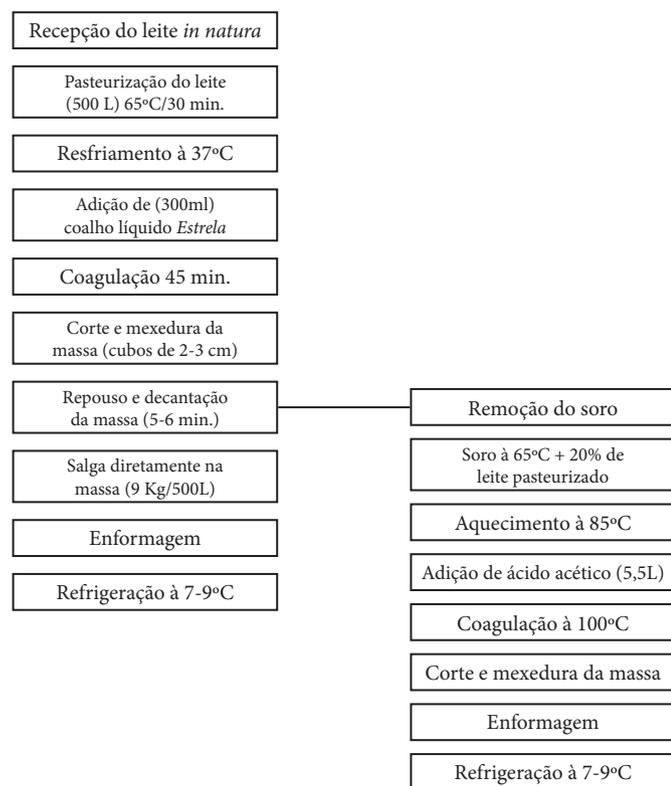


Figura 1. Fluxograma de fabricação dos queijos Minas frescal e ricota adotado pelo laticínio

Análises microbiológicas e teste de fosfatase/peroxidase

Nesse estudo, avaliou-se a população de bactérias aeróbias mesófilas, *Staphylococcus* coagulase positiva, coliformes totais e termotolerantes, *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., e *Listeria monocytogenes*. A contagem de bactérias aeróbias mesófilas foi efetuada apenas nas amostras de água. As determinações do Número Mais Provável (NMP) de coliformes totais, termotolerantes e pesquisa de *Escherichia coli* foram realizadas para água, leite pasteurizado, coalho, massa, soro, mãos, tanque e queijos Minas frescal e ricota. A contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva e a pesquisa de *Salmonella* spp., foram efetuadas para todas as amostras citadas anteriormente, exceto para a água. A análise de *Listeria monocytogenes* foi utilizada somente para os queijos Minas frescal e ricota. Para todas as análises foram adotadas metodologias recomendadas pela legislação Brasileira¹⁴.

Foi realizado ainda, para as amostras de leite pasteurizado o teste de fosfatase e peroxidase, para verificar o correto funcionamento do processo de pasteurização utilizado pelo laticínio, utilizando para a fosfatase o kit “fosfatase alcalina tira (leite) - Laborclin” e para peroxidase, metodologia recomendada pelo Instituto Adolfo Lutz¹⁴.

Tabela 1. Resultados das análises microbiológicas efetuadas nas diferentes etapas da linha de processamento de queijos Minas frescal e Ricota

Amostras	Bactérias aeróbias mesófilas	<i>Staphylococcus</i> coagulase positiva	Coliformes Totais	Coliformes Termotolerantes	<i>E. coli</i>	<i>Salmonella</i> spp.
	N ^a (UFC/mL,g)	N ^a (UFC/mL,g)	N ^a (NMP/mL,g)	N ^a (NMP/mL,g)	% ^{***}	% ^{***}
Água	2,1 x 10 ^{4**} (7,2x10 ⁴ -3,4x10 ²)*	Nr	0,0608** (1,1x10 ¹ -1,8x10 ²)*	< 0,02** (0-0)*	aus.	Nr
Leite pasteurizado	Nr	2,6 x 10 ⁶ (9,2x10 ⁶ -3,4x10 ²)*	2,5 x 10 ² (4,1x10 ² -1,6x10 ²)*	9,6 x 10 ^{1**} (3,1x10 ² -3,2x10 ²)*	33,3	aus.
Coalho	Nr	1,0 x 10 ¹ (4,6-4,4x10 ¹)*	2,3 (0,77-3,3x10 ¹)*	2,0** (0-0)*	aus.	aus.
Massa	Nr	5,9 x 10 ⁶ (1,6x10 ⁷ -2,7x10 ²)*	6,3 x 10 ² (5x10 ² -8x10 ¹)*	1,2 x 10 ² (3,1x10 ² -2,6x10 ²)*	58,3	aus.
Soro	Nr	1,0 x 10 ⁸ (3,4x10 ⁸ -3,4x10 ²)*	6,3 x 10 ² (5,1x10 ² -8,1x10 ¹)*	2,7 x 10 ¹ (6,1x10 ¹ -2,2x10 ²)*	33,3	aus.
Mãos	Nr	9,9 x 10 ¹ (0-0)*	2,0 x 10 ⁰ (0-0)*	2,0 x 10 ⁰ (0-0)*	aus.	Nr
Tanque	Nr	9,9 x 10 ¹ (0-0)*	1,7 x 10 ¹ (3,7x10 ¹ -2,1x10 ²)*	2,0 x 10 ⁰ (0-0)*	aus.	Nr

N^a: Valores médios de 12 repetições

*Desvio padrão e Coeficiente de variação

**Valores acima do limite máximo estabelecido pela legislação vigente (Brasil, 2001 e Brasil, 1996)

Nr: Não realizado

***: Percentual de amostras que apresentaram positividade para o teste de confirmação de *E. coli* e para *Salmonella* spp.

Aus. Ausência em 25 g/mL

Tabela 2. Resultados das análises microbiológicas nas amostras de queijo Minas frescal e ricota, após o processamento (t_0) e com cinco dias após data de fabricação (t_5)

	Queijo Minas Frescal		Ricota		Padrão
	N ^a t_0	N ^a t_5	N ^a t_0	N ^a t_5	
<i>Staphylococcus coagulase positiva</i> (UFC/g)	8,0 x 10 ^{7a}	3,7 x 10 ^{8a}	7,0 x 10 ^{2b}	2,7 x 10 ^{4b}	5 x 10 ²
Coliformes Totais (NMP/g)	1,1 x 10 ^{3a}	1,1 x 10 ^{3a}	2,9 x 10 ^{2b}	4,6 x 10 ^{2b}	-
Coliformes Termotolerantes (NMP/g)	4,8 x 10 ^{2a}	3,0 x 10 ^{2a}	9,3 x 10 ^{1b}	5,8 x 10 ^{0b}	5 x 10 ²
<i>Escherichia coli</i> ***	66,6	58,33	8,33	16,66	-
<i>Listeria monocytogenes</i>	aus.	aus.	aus.	aus.	aus./25g
<i>Salmonella</i> spp.	aus.	aus.	aus.	aus.	aus./25g

N^a: Valores médios de 12 repetições no tempo zero (t_0) e no tempo cinco (t_5). Letras iguais na mesma linha para cada tipo de queijo avaliado, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

*Brasil (1996)

***: Percentual de amostras que apresentaram positividade para o teste de confirmação de *E. coli* e para *Salmonella* spp.

-: Ausência de padrão na legislação

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Análises microbiológicas

Nas Tabelas 1 e 2 estão apresentados os resultados das análises microbiológicas realizadas para água, leite pasteurizado, coalho, massa, soro, *swab* das mãos dos manipuladores e do tanque de coagulação, queijos Minas frescal e ricota, logo após o processamento (t_0) e com cinco dias da data de fabricação (t_5).

Água

A legislação brasileira estabelece padrão para contagem de bactérias aeróbias mesófilas de no máximo 5,0 x 10² UFC/mL¹⁵. As amostras analisadas apresentaram valor médio de 2,1 x 10⁴ UFC/mL, estando acima do recomendado legalmente.

Para coliformes totais, verificou-se valor médio de 0,0608 NMP/100mL, estando acima do estabelecido (ausência em 100 mL), conforme apresentado na Tabela 1. Estes resultados podem indicar falhas no tratamento da água, principalmente pela presença de bactérias do grupo

coliforme, indicando possivelmente a utilização inadequada, ou até mesmo ausência de clorador nos reservatórios.

Para coliformes termotolerantes e *E. coli*, a legislação federal também estabelece ausência em 100 mL da amostra¹⁵. Neste estudo verificou-se para coliformes termotolerantes, resultado inferior a 0,02 NMP/100mL, estando em desacordo com o preconizado pela legislação (Tabela 1). A presença de *Escherichia coli* não foi observada, sendo esse resultado satisfatório, uma vez que a presença desse microrganismo pode causar danos à saúde do consumidor.

Em estudo realizado por Amaral e colaboradores¹⁶, ao avaliarem a qualidade higiênico-sanitária de 56 amostras de água para consumo humano de fontes localizadas em propriedades rurais na região nordeste de São Paulo, observaram que destas 93,35% encontravam-se fora dos padrões estabelecidos e, portanto, impróprias para o consumo humano.

Por outro lado, Alves, Odorizzi e Goulart¹⁷, ao analisarem as condições higiênico-sanitárias de água para consumo na cidade de Marília-SP, verificaram que 5,5%

das amostras coletadas apresentaram contaminação por coliformes totais e 94,5% estavam aptas para o consumo.

Diante disso, observamos que as amostras de água avaliadas apresentaram-se em inadequado estado para o consumo pelo laticínio, devido à presença de coliformes termotolerantes na mesma. Este fato indica a necessidade de algumas adequações, como a utilização frequente de clorador nos reservatórios e monitoramento periódico da qualidade sanitária.

Leite pasteurizado

Para *Staphylococcus* coagulase positiva, apesar de não haver padrão microbiológico vigente, foi obtido valor médio de $2,6 \times 10^6$ UFC/mL, conforme demonstrado na Tabela 1.

A presença deste microrganismo no leite pasteurizado pode ter ocorrido por contaminação pós-processamento, uma vez que a eficácia do processo de pasteurização foi avaliada pelos testes de fosfatase/ peroxidase, demonstrando sua efetividade. Esta contaminação pode ter sido causada por equipamentos e/ou tubulações utilizadas para transferir o leite do pasteurizador para tanque de coagulação.

Conforme Carmo et al, o processo de pasteurização, quando eficaz, tem a capacidade de destruir as células de *Staphylococcus* sp., porém não elimina as toxinas presentes, pois estas são resistentes ao calor e podem permanecer ativas por longo tempo. Com isso, a presença de células desse microrganismo em leite pasteurizado pode indicar falhas no processo de pasteurização¹⁸.

Lisita, ao analisar três amostras de leite pasteurizado de laticínios do estado de São Paulo, obteve valores de < 10 a $1,0 \times 10^1$ UFC/mL para *Staphylococcus* coagulase positiva, os quais são inferiores aos encontrados neste trabalho².

Para coliformes totais e termotolerantes, verificou-se um percentual médio de respectivamente $2,5 \times 10^2$ UFC/mL e $9,6 \times 10^1$ NMP/mL (Tabela 1). Estes percentuais apresentaram-se acima do padrão vigente de no máximo 4 NMP/mL para coliformes totais e máximo 2 NMP/mL para coliformes termotolerantes. Verificou-se a presença de *E. coli* em 33,3 % das amostras avaliadas, estando acima do padrão preconizado pela legislação. Para *Salmonella* spp., verificou-se ausência em todas as amostras analisadas¹⁹.

Catão e Ceballos, ao avaliarem quinze amostras de leite pasteurizado provenientes de laticínios do estado da Paraíba, constataram a presença de coliformes totais em 60,0% e termotolerantes em 46,6 %²⁰.

Coalho

É importante destacar que no processamento do queijo Minas frescal foi empregado um complexo enzimático comercial (coalho) sob a forma líquida, sem a utilização de cultura lática.

Para o coalho existe padrão na legislação vigente somente para coliformes termotolerantes (máximo de 5 NMP/mL) e *Salmonella* spp. (ausência em 25 mL), portanto, as amostras avaliadas apresentaram-se em acordo com o estabelecido, conforme apresentado na tabela 1²¹. Não foi observada confirmação para *Escherichia coli* nas amostras avaliadas. Estes resultados são satisfatórios, uma vez que a presença destes microrganismos afeta as condições higiênico-sanitárias do produto final podendo ocasionar toxinfecções de origem alimentar.

Para *Staphylococcus* coagulase positiva verificou-se valor médio de $1,0 \times 10^1$ UFC/mL entre as amostras estudadas. Este resultado indica baixa contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva entre as amostras analisadas. No entanto, é preocupante, pois quando o coalho é adicionado ao leite estes microrganismos encontram condições ótimas ao seu desenvolvimento e podem atingir contagens elevadas e com isso comprometer a sanidade do produto⁹.

Massa do queijo (coalhada)

Apesar da ausência de padrões microbiológicos para massa do queijo ou coalhada, esta apresentou valores elevados para todos os microrganismos avaliados, exceto para *Salmonella* spp., a qual não foi detectada (Tabela 1).

Para *Staphylococcus* coagulase positiva, coliformes totais, termotolerantes e *Escherichia coli*, obteve-se, respectivamente, valores médios de $5,9 \times 10^6$ UFC/g; $6,3 \times 10^2$ NMP/g; $1,2 \times 10^2$ NMP/g. A presença de *E. coli* foi constatada em 58,33 % das amostras, conforme apresentado na Tabela 1.

Resultados que diferem do verificado neste estudo para *S. coagulase* positiva, foram obtidos por Lisita ao avaliar a presença deste bioindicador em quatro amostras de coalhada de queijo Minas frescal, onde obteve ausência em todas as amostras².

Para coliformes totais; termotolerantes e *Escherichia coli* também foram observadas contagens elevadas, o que é preocupante do ponto de vista de saúde pública, uma vez que nestas contagens estes microrganismos podem provocar infecções alimentares graves. Em estudo realizado por Lisita observaram-se

resultados superiores aos observados neste estudo para coliformes totais e termotolerantes com valores médios de $1,1 \times 10^5$ e $2,1 \times 10^3$ NMP/mL².

Segundo Perry, tal fato pode ser explicado pela elevada umidade na linha de produção, pela matéria-prima ser rica em nutrientes e, ainda pela ausência de procedimentos operacionais adequados durante as etapas do processamento, o que também pode ter ocorrido neste estudo²².

Soro de queijo

Conforme apresentado na Tabela 1, verificou-se para *Staphylococcus* coagulase positiva valor médio de $1,0 \times 10^8$ UFC/mL.

Para a determinação de coliformes totais, observou-se valor médio de $6,3 \times 10^2$ NMP/mL e termotolerantes de $2,7 \times 10^1$ NMP/mL. Foi observada ainda, a presença de *Escherichia coli* em 33,3 % das amostras avaliadas. Para *Salmonella* spp., obteve-se ausência em todas as amostras.

Nicolau et al, avaliando oito amostras de soro de queijo Minas frescal, em Goiânia, verificaram a presença de coliformes totais em 62,5 % e termotolerantes em 37,5%⁸.

Em contrapartida, Chiappini, Franco e Oliveira ao avaliarem 30 amostras de soro de queijos oriundas de cooperativas do norte fluminense - RJ, quanto à presença de coliformes totais e termotolerantes, verificaram que estas se apresentaram em condições insatisfatórias somente para coliformes totais²³.

As elevadas contagens de *Staphylococcus* coagulase positiva podem ser oriundas de utensílios, superfícies e equipamentos higienizados de forma inadequada, levando a formação de biofilmes. Estes são importantes focos de contaminação dos alimentos, pois são de difícil remoção, além de causarem prejuízos econômicos para a empresa²⁴. Com isso, é imprescindível adotar procedimentos operacionais adequados durante as etapas de higienização para garantir a qualidade e a inocuidade dos produtos elaborados.

Bioindicadores na superfície palmar dos manipuladores e tanque de coagulação

O monitoramento microbiológico da superfície palmar do manipulador foi realizado antes do processo de enformagem e o do tanque de coagulação, após a higienização para coagulação da massa. A superfície palmar dos manipuladores e o tanque de coagulação,

as contagens apresentaram para *S. coagulase* positiva, coliformes totais e termotolerantes, valores médios de respectivamente $9,9 \times 10^1$ UFC/cm²; $2,0$ NMP/cm² e $1,7 \times 10^1$ NMP/cm²; $2,0$ NMP/cm².

Em comparação com outros trabalhos realizados, estes resultados foram importantes, pois alguns estudos, como o realizado por André e colaboradores, observaram que de 46 manipuladores avaliados 17 (70,8%) apresentaram positividade para *S. aureus*²⁵.

Resultados superiores aos observados neste estudo também foram obtidos por Millezi e colaboradores, ao avaliarem as condições higiênico-sanitárias da superfície palmar de 16 manipuladores em indústria produtora de embutidos, verificaram resultados médios para coliformes totais e *S. aureus* de, respectivamente, $1,2 \times 10^2$ UFC/mão e $1,5 \times 10^3$ UFC/mão²⁶.

Com relação à superfície do tanque de coagulação, de forma geral, verificaram-se valores inferiores em relação aos observados na literatura. Oliveira e colaboradores ao avaliarem cinco estabelecimentos, obtiveram para *S. aureus* valores médios entre $2,6 \times 10^3$ - $1,4 \times 10^5$ UFC/cm². Para Coliformes termotolerantes, estes mesmos autores verificaram níveis também altos com valores entre $0,43 \times 10^1$ - $4,6 \times 10^3$ UFC/cm²²⁷.

Os resultados obtidos no presente estudo são satisfatórios, uma vez que indicam a utilização correta e eficiente de métodos higiênico-sanitários para a limpeza do laticínio e também higiene dos manipuladores.

Queijo Minas frescal

As amostras de queijo Minas frescal, nos tempos zero e cinco dias de fabricação, apresentaram para *Staphylococcus* coagulase positiva, valores médios acima do preconizado pela legislação ($1,0 \times 10^3$ UFC/g) de respectivamente $8,0 \times 10^7$ ^a e $3,7 \times 10^8$ ^a UFC/g, não apresentando diferença estatística significativa ($p > 0,05$), conforme observado na tabela 2⁴.

Tais resultados elevados são importantes do ponto de vista de saúde pública, pois nestas contagens, esse microrganismo torna-se potencialmente produtor de enterotoxinas as quais são capazes de desencadear sintomas de intoxicações estafilocócicas graves^{2,27,28}.

Resultados também elevados para *Staphylococcus* coagulase positiva foram observados por Ávila e colaboradores, ao analisarem 33 amostras de queijo Minas frescal, observaram que 24,2% destas encontravam-se acima do estabelecido, atuando como potenciais riscos à saúde dos consumidores²⁸.

Barros et al, analisando 30 amostras de queijo Minas frescal no município do Rio de Janeiro, verificaram que apenas 27,0% encontravam-se acima do limite estabelecido para esse microrganismo²⁹.

Com relação aos coliformes totais, verificaram-se valores para os tempos zero e cinco dias de fabricação, de respectivamente $1,1 \times 10^3$ NMP/g; $1,1 \times 10^3$ NMP/g, não apresentando diferença estatística significativa ($p > 0,05$). Para coliformes termotolerantes, os resultados médios para zero e cinco dias, foram de respectivamente $4,8 \times 10^2$ NMP/g e $3,0 \times 10^2$ NMP/g, e também não apresentaram diferença estatística significativa ($p > 0,05$), conforme demonstrado na Tabela 2. Estes resultados encontram-se em acordo com o estabelecido pela legislação⁵.

Foi observada a presença de *E. coli*, respectivamente, em 66,66% e 58,33% das amostras analisadas, nos tempos zero e cinco dias. Para *Salmonella* spp. e *Listeria monocytogenes*, verificou-se ausência em todas amostras estudadas, estando em acordo com os padrões vigentes⁵.

Resultados similares foram observados por Little et al para *L. monocytogenes* e *Salmonella* spp., ao avaliarem 412 amostras de queijos frescos de serviços de alimentação, obtendo ausência em todos os queijos testados³⁰.

Já Salloti e colaboradores, ao avaliarem 60 amostras de queijo Minas frescal em Jaboticabal, verificaram que todas se encontravam acima do estabelecido pela legislação vigente^{5,31}. Por outro lado, Loguercio e Aleixo, ao analisarem 30 amostras de queijo Minas frescal na cidade de Cuiabá, verificaram que uma (3,3%) apresentou contagem de coliformes termotolerantes superior a 10^3 UFC/g¹.

As altas contagens encontradas em alguns estudos se devem, segundo Silva et al, à manipulação excessiva e ao desconhecimento das Boas Práticas de Fabricação, uma vez que são fatores incisivos para a incidência de coliformes termotolerantes e *Escherichia coli* nos alimentos³².

Ricota

A Tabela 2 demonstra as contagens médias de *Staphylococcus coagulase* positiva, das amostras analisadas, para os tempos zero e cinco dias, $7,0 \times 10^2$ UFC/g e $2,7 \times 10^4$ UFC/g respectivamente, sendo que destas, 41,66%, após cinco dias da data de fabricação, encontraram-se acima do estabelecido pela legislação ($1,0 \times 10^3$ UFC/g)⁵. Tais resultados para os tempos zero e cinco dias, não apresentaram diferença estatística significativa ($p > 0,05$).

Estes resultados são importantes, uma vez que, Carniel et al³³, ao submeterem 26 amostras de ricota comercializadas na cidade de São José do Rio Preto - SP, a análise quanto a presença de *Staphylococcus coagulase* positiva, verificaram que destas, 88,5% encontraram-se acima do estabelecido pelo padrão legal⁵.

Para coliformes totais, obteve-se respectivamente, resultados médios para os tempos zero e cinco dias de $2,9 \times 10^2$ NMP/g e $4,6 \times 10^2$ NMP/g, não havendo diferença estatística significativa ($p > 0,05$).

Com relação aos coliformes termotolerantes, observaram-se valores médios de respectivamente, $9,3 \times 10^1$ NMP/g e $5,8 \times 10^0$ NMP/g para os tempos zero e cinco dias, e estes também não apresentaram diferença estatística significativa ($p > 0,05$). Todas as amostras apresentaram-se em conformidade com os padrões vigentes para coliformes totais e termotolerantes⁵.

Dessa mesma forma, para *Salmonella* spp. e *Listeria monocytogenes*, verificou-se ausência em todas as amostras analisadas, estando também em acordo com os parâmetros estabelecidos pelo ministério da agricultura⁵.

Raimundo et al³⁴ e Sakate et al³⁵ obtiveram para coliformes termotolerantes, respectivamente, 83,3% e 75,0% das amostras de ricota avaliadas acima do padrão legal nas cidades de Alfenas e Belo Horizonte - MG.

A presença de bioindicadores de contaminação nesse tipo de alimento, o qual passa por tratamento térmico a altas temperaturas ($90,0-95,0^\circ\text{C}$) e acidificação, indica contaminação oriunda de fontes posteriores ao processamento³⁵.

Comparando os resultados obtidos para todos os bioindicadores avaliados nas amostras de ricota e queijo Minas frescal, verificaram-se valores significativamente maiores ($p < 0,05$) para o queijo minas frescal, o que pode ser explicado pelo maior teor de umidade e pH levemente ácido que o mesmo apresenta.

Teste de Fosfatase/Peroxidase

Todas as amostras de leite pasteurizado foram submetidas ao teste de fosfatase e peroxidase, estando todas (100%) positivas para peroxidase e negativas para fosfatase, indicando que o processo de pasteurização adotado pelo laticínio é realizado de forma eficiente e de acordo com a legislação vigente, a qual estabelece como pasteurização correta, aquela que mantém a enzima peroxidase presente no leite e elimina a fosfatase do mesmo⁵. A ausência de peroxidase indica superaquecimento do leite, descaracterizando-o como pasteurizado.

Tais resultados reafirmam que as contagens elevadas para os bioindicadores observadas nas amostras de leite pasteurizado podem ser oriundas de contaminações pós-processamento e não de pasteurização inadequada desta matéria prima.

CONCLUSÃO

Os resultados do monitoramento microbiológico na linha de processamento de queijos Minas frescal e ricota, e a avaliação da presença de fosfatase/peroxidase realizadas em um laticínio alocado no município de São José do Rio Preto - SP permitem concluir que as amostras de água, leite pasteurizado, massa, soro e queijos Minas frescal e Ricota apresentaram-se impróprias para utilização pelo laticínio e também para o consumo, pois se observou a presença de coliformes termotolerantes; *Escherichia coli* e *S. coagulase* positiva nestas amostras. Tais patógenos comprometem a segurança e a qualidade dos produtos finais e, portanto, torna-se importante a elaboração de estratégias de controle e redução destas contaminações para minimizar riscos à saúde dos consumidores.

AGRADECIMENTOS

Aos proprietários e funcionários do laticínio pelo auxílio e disponibilidade em ceder as amostras. Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq pelo apoio financeiro.

REFERÊNCIAS

- Loguercio AP, Aleixo JAG. Microbiologia de queijo tipo minas frescal produzido artesanalmente. *Ciênc Rural Santa Maria*. 2001; 31(6): 1063-7.
- Lisita, MO. Evolução da população microbiana na linha de produção do queijo Minas frescal em uma indústria de laticínios [dissertação de mestrado]. Piracicaba: Universidade de São Paulo, 2005.
- Associação Brasileira das Indústrias de Queijos - ABIQ - Produção de queijo Minas frescal no ano de 2007. <http://www.abiq.com.br>. Acesso em dezembro de 2008.
- Pereira MG, Lima MT, Santana MFS. Queijo minas frescal. Universidade Federal do Piauí. Comunic Téc Centro Ciênc Agrárias. 2006; 5(12): 1-4.
- Brasil. 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, DF, 11 de mar. 1996, Seção 1, p. 3977.
- Piccoli RH, Del Rio DT, Alcântara EMC, Abreu LR. *Staphylococcus coagulase* positiva em ricota: redução da contaminação pela utilização de luvas e máscaras. *Rev Inst Latic Cândido Tostes*. 2005; 60 (342): 25-8.
- Esper LMR, Rosa VP, Rossi P, Kuaye AY, Viotto WH, Sant'ana AS. Efeito da adição de culturas protetoras (Holdbac TM Listeria) sobre *Listeria monocytogenes* inoculadas na superfície de ricota. *Higiene Alimentar*. 2007; 21(156): 109-14.
- Nicolau ES, Kuaye AY, Mesquita AJ, Oliveira GR. Qualidade microbiológica dos queijos tipo minas frescal, prato e mussarela comercializados em Goiás. *Rev Inst Latic Cândido Tostes*. 2001; 56 (321): 200-5.
- Jay JM. Microbiologia de alimentos. 6ª ed. Porto Alegre: Artmed; 2005. p.711.
- Brasil. Portaria nº. 46, de 10 de fevereiro de 1998. Institui o Sistema de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle-APPCC a ser implantado, gradativamente, nas indústrias de produtos de origem animal sob regime do SIF. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 11 fev. 1998, Seção 1, p. 24.
- Timm CD, Ross TB, Gonzalez HL, Oliveira DS. Pontos críticos de controle na pasteurização do leite em microusinas. *Rev Inst Latic Cândido Tostes*. 2004; 59 (336): 75-80.
- Silva N, Junqueira VCA, Silveira NFA, Taniwaki MH, Santos RFS, Gomes RAR. Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos. 3ª ed. São Paulo: Varela; 2007. p.544.
- Brasil. Instrução Normativa nº. 62, de 26 de agosto de 2003. Oficializa os Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 18 de set. de 2003, Seção 1, p. 14.
- Instituto Adolfo Lutz [IAL]. Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz. São Paulo 1985. p.533
- Brasil. Portaria nº. 518, de 25 de março de 2004. Estabelece os procedimentos e responsabilidades relativos ao controle e vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade e dá outras providências. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 25 de mar. de 2004, Seção 1.
- Amaral LA, Nader Filho A, Rossi Junior OD, Ferreira FLA, Barros LSS. Água de consumo humano como fator de risco à saúde em propriedades rurais. *Rev Saúde Pública*. 2003; 37 (4): 510-4.
- Alves NC, Odorizzi AC, Goulart FC. Análise microbiológica de águas minerais e de água potável de abastecimento, Marília, SP. *Rev Saúde Pública*. 2002; 36 (6): 749-51.
- Carmo LS, Dias RS, Linardi VR, Sena MJ, Santos DA, Faria ME, et al. Food poisoning due to enterotoxigenic strains of *Staphylococcus* present in Minas cheese and raw milk in Brazil. *Food Microbiol*. 2002; 8 (19): 9-14.
- Brasil. Instrução normativa nº. 51, de 18 de setembro de 2002. Aprova os regulamentos técnicos de identidade e qualidade de leite pasteurizado. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 18 de set. 2002, Seção 1, p. 13.

20. Catão RMR, Ceballos BSO. *Listeria* spp., coliformes totais e fecais e *E. coli* no leite cru e pasteurizado de uma indústria de laticínios, no estado do Paraná (Brasil). *Ciênc Tecnol Alim*. 2001; 21(3): 281-7.
21. Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária [ANVISA]. Resolução - RDC, nº. 12, de 2 de janeiro de 2001. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/12_01rdc.html. Acesso em: Setembro de 2009.
22. Perry, KSP. Queijos: aspectos químicos, bioquímicos e microbiológicos. *Quím Nova*. 2004; 27(2): 293-300.
23. Chiappini CCJ, Franco RM, Oliveira LAT. Avaliação do soro de queijo quanto à *Staphylococcus aureus*. Congresso Nacional de Laticínios, Juiz de Fora. 1995, 13 (278): 143-4.
24. Araújo VS, Pagliares VA, Queiroz MLP, Freitas-Almeida AC. Occurrence of *Staphylococcus* and enteropathogens in soft cheese commercialized in the city of Rio de Janeiro, Brazil. *J Ap Microbiol*. 2002; 92(6): 1172-7.
25. André MCDPB, Campos MRH, Borges LJ, Kipnis A, Pimenta FC, Serafini AB. Comparison of *Staphylococcus aureus* isolates from food handlers, raw bovine milk and Minas Frescal cheese by antibiogram and pulsed-field gel electrophoresis following Small digestion. *Food Control*. 2008; 19: 200-7.
26. Millezi AF, Tonial TM, Zanella JP, Moschen EES, Ávila CAC, Kaiser VL, Hoffmeister S. Avaliação e qualidade microbiológica das mãos de manipuladores e do agente sanificante na indústria de alimentos. *Rev Analyt*. 2007; (28): 76-9.
27. Oliveira MMM, Brugnera DF, Mendonça AT, Piccoli RH. Condições higiênico-sanitárias de máquinas de moer carne, mãos de manipuladores e qualidade microbiológica de carne moída. *Rev Cienc Agrotec*. 2008; 32 (6): 1863-98.
28. Ávila JS, Mancini WR, Vilela MAP, Rezende PR. Queijo “Minas frescal” comercializado na cidade de Juiz de Fora e Região III - Incidência de estafilococos produtores de coagulase. Congresso Nacional de Laticínios, Juiz de Fora. 2002; 57 (326): 115-7.
29. Barros PCOG, Nogueira LC, Rodriguez EM, Chiappini CCJ. Avaliação da qualidade microbiológica do queijo Minas frescal comercializado no município do Rio de Janeiro, RJ. *Hig Alimentar*. 2004; 18(122): 57-61.
30. Little CL, Rhoades JR, Sagoo SK, Harris J, Greenwood M, Mithani et al. Microbiological quality of retail cheeses made from raw, thermized or pasteurized milk in the UK. *Food Microbiol*. 2008; 25: 304-12.
31. Salotti BM, Carvalho ACFB, Amaral LA, Vidal AMCM, Cortez AL. Qualidade microbiológica do queijo minas frescal comercializado no município de Jaboticabal, SP, Brasil. *Arq Inst Biol*. 2006; 73(2): 171-5.
32. Silva DL, Ramos MS, Rodrigues ET, Martins ADO, Mendonça RCS. Avaliação da contaminação de queijos Minas frescal artesanal e industrial comercializados na região de Viçosa - MG. *Leite & Derivados*. 2006; 15(92): 70-4.
33. Carniel FA, Peresi JTM, Gonçalves TMV, Hoffmann FL. Ricota: contaminação microbiológica em amostras comercializadas no município de São José do Rio Preto - SP no período de abril a setembro de 2002. *Rev Inst Latic Cândido Tostes*. 2003; 335(58): 7-11.
34. Raimundo IC, Fiorini JE, Piccoli RH. Avaliação microbiológica de amostras de ricotas comercializadas no município de Alfenas, MG. *Higiene Alimentar*. 2005; 19(137): 54-5.
35. Sakate RI, Santos FL, Brandão SCC. Características microbiológicas de ricota fresca comercializada no município de Belo Horizonte - MG. XVI Congresso Brasileiro de Ciências e Tecnologia de Alimentos; Rio de Janeiro.