



**Fundação Educacional do Município de Assis
Instituto Municipal de Ensino Superior de Assis
Campus "José Santilli Sobrinho"**

JAQUELINE GOMES DA LUZ

**AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA EM QUEIJOS FRESCOS
COMERCIALIZADOS NA REGIÃO DE ASSIS - SP**

Assis/SP

2019



**Fundação Educacional do Município de Assis
Instituto Municipal de Ensino Superior de Assis
Campus "José Santilli Sobrinho"**

JAQUELINE GOMES DA LUZ

**AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA EM QUEIJOS FRESCOS
COMERCIALIZADOS NA REGIÃO DE ASSIS - SP**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação em Química Industrial do Instituto Municipal de Ensino Superior de Assis – IMESA e a Fundação Educacional do Município de Assis – FEMA, como requisito à obtenção do Certificado de Conclusão.

**Orientando (a): Jaqueline Gomes da Luz
Orientador (a): Elaine Amorim Soares**

ASSIS/SP

2019

FICHA CATALOGRÁFICA

L979a LUZ, Jaqueline Gomes
 Avaliação microbiológica em queijos frescos
 comercializados na região de Assis-SP / Jaqueline Gomes da
 Luz. - Assis, 2019.
 44p.

Trabalho de conclusão do curso (Química Industrial). – Funda-
ção Educacional do Município de Assis-FEMA

Orientadora: Me. Elaine Amorim Soares

1. Microbiologia-alimentos 2. Contaminação-queijos

CDD 576.16

AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA EM QUEIJOS FRESCOS COMERCIALIZADOS NA REGIÃO DE ASSIS – SP

JAQUELINE GOMES DA LUZ

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Instituto Municipal de Ensino Superior de Assis, como requisito do Curso de Graduação, avaliado pela seguinte comissão examinadora:

Orientadora: Me. Elaine Amorim Soares

Examinadora: Gilcelene Bruzon

ASSIS – SP

2019

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a minha família,
amigos e professores.

Obrigada pelo incentivo, pela paciência, pelo apoio durante toda essa trajetória, pela força que juntos me fizeram alcançar meus objetivos, e obrigada principalmente a Deus que deu essa oportunidade em minha vida. Obrigada!

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus pelo dom da vida, por ter me dado a oportunidade de aqui estar terminando esta faculdade e por me dar forças nos momentos mais difíceis quando pensava que nada daria certo e queria desistir de tudo.

Agradeço a minha família pelo incentivo para que eu pudesse concluir esta faculdade, por sempre estar presente nos momentos em que eu precisa, pela ajuda, agradeço aos meus pais, Maria Inês da Silva Gomes Luz e Jair da Luz por todo apoio dado para esta conclusão de curso e ao meu irmão Jonas Gomes da Luz pelos conselhos muito bem aproveitados quando eu necessitava.

Agradeço a minha orientadora Elaine Amorin Soares, por ter passado um pouco do seu conhecimento para contribuir a este trabalho, pela sua paciência com minhas perguntas e dúvidas que sempre surgiam.

Agradeço aos amigos que pude fazer neste decorrer de tempo estudantil, pela amizade que aqui fiz, pelas brincadeiras, pelos momentos difíceis que todos passaram juntos.

Agradeço a todos os professores que passaram ao decorrer dessa faculdade que de qualquer forma me agregou todo e qualquer conhecimento hoje obtido. Enfim agradeço por cada um que passou pela minha vida nesses quatros anos que se passaram e que de qualquer forma contribuiu para hoje ter a minha formação de química.

RESUMO

O queijo minas frescal é um produto de grande popularidade, aceitação, consumo e produção em todo o país. Sua arte de fabricação tem origem típica da Serra da Estrela, em Portugal, chegou na América com os colonizadores e foi passado aos mineiros. Durante a sua fabricação podem ocorrer perigos que comprometem o produto final, ocorrendo contaminações microbiológicas tanto da matéria prima quanto da maneira produzida e/ou armazenada. Assim, as boas práticas de fabricação e as medidas de sanificação durante o processamento são cruciais para a garantia de um produto de qualidade. Esse trabalho teve como objetivo realizar análises microbiológicas em 7 queijos, sendo análises de coliformes termotolerantes, *E. coli*, *Salmonella* e também *Staphylococcus aureus*. No preparo da amostra, os queijos adquiridos foram diluídos 25g em 250mL de caldo pré - enriquecimento. Todas as análises seguiram o Manual de métodos de análises microbiológicas de alimentos e água. Os resultados obtidos mostraram que todas as amostras não estavam contaminadas de *Salmonella* e 5 amostras por *Staphylococcus aureus* acima do limite estabelecido pelo padrão. Nas análises de coliformes termotolerantes concluiu-se que nenhuma apresentou contaminação acima do limite, porém, 4 amostras apresentaram presença de *E. coli*. Dessa forma 71,4% das amostras encontraram-se impróprias para o consumo segundo a RDC nº12, de 02 de janeiro de 2001, indicando falha nas boas práticas de fabricação.

Palavras – chaves: contaminações microbiológicas, queijo, qualidade do alimento.

ABSTRACT

Mines fresal cheese is a product of great popularity, acceptance, consumption and production throughout the country. Its art of manufacture has typical origin of Serra da Estrela, in Portugal, arrived in America with the colonizers and was passed to the miners. Hazards that compromise the end product may be contamination of the raw material as well as the way it is produced and/ or stored may occur. Thus, good manufacturing practices and sanitation measures during processing are crucial for ensuring a quality product. This work aims to perform microbiological analyzes on 7 cheeses, being analyzed also *Staphylococcus aureus*. In the preparation of the sample, the purchased cheeses were diluted 25g in 250ml of pre-enrichment broth. All analyzes followed the Manual on Methods of Microbiological Analysis of Food and Water. The results showed that all samples were not contaminated with *Salmonella*, whereas on *Staphylococcus aureus* 5 samples were contaminated. In the analyzes of thermotolerant coliforms it was concluded that none of them were contaminated, stating that 4 samples were identified with absence for thermotolerant coliforms, and also for *E. coli*.

Keywords: microbiological contamination. cheese, food quality.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Representação do alvéolo mamário e úbere de uma vaca.....	16
Figura 2: Informação nutricional de queijo fresco de uma dada marca comercial..	18
Figura 3: Processo de fabricação do queijo.....	19
Figura 4: Forma representativa para coliformes.....	21
Figura 5: Representação da família de coliformes.....	22
Figura 6: Representação para bacilos gram – negativos.....	23
Figura 7: Cocos gram – positivos.....	24
Figura 8: Câmara de fluxo laminar e estufa para incubação microbiológica.....	28
Figura 9: Amostras em caldo pré – enriquecimento.....	29
Figura10: Procedimento de análise de <i>Salmonella</i>	30
Figura 11: Análises de <i>Staphylococcus aureus</i>	31
Figura 12: Amostras incubadas em caldo CLS.....	31
Figura 13: Análises de coliformes.....	32
Figura 14: Placas das análise de <i>Salmonella</i>	34
Figura 15: Resultados das análises de <i>Staphylococcus aureus</i>	35
Figura 16: Tubos de CLS indicando a presença de coliformes.....	37

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Resultados de todas as análises realizadas.....	33
---	----

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	13
2. LEITE.....	15
3. QUEIJO.....	17
4. CONTAMINAÇÕES MICROBIOLÓGICAS.....	20
4.1. COLIFORMES.....	20
4.2. <i>Salmonella</i>	22
4.3. <i>Staphylococcus aureus</i>	24
5. PROTEÍNAS PRESENTE NO NOSSO COTIDIANO.....	25
5.1. AULA EXPERIMENTAL.....	25
5.1.1. Materiais e Reagentes.....	25
5.1.2. Procedimento.....	26
5.1.3. Conclusão.....	26
6. MATERIAIS E MÉTODOS.....	27
6.1. MATERIAIS.....	27
6.1.1. Amostras.....	27
6.1.2. Reagentes e Meios de Culturas.....	27
6.2. EQUIPAMENTOS.....	28
6.3. MÉTODOS.....	28
6.3.1. Preparo de amostra.....	28
6.3.2. <i>Salmonella</i>	29
6.3.3. <i>Staphylococcus aureus</i>	30
6.3.4. Coliforme.....	31
7. RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	33
7.1. Resultados de <i>Salmonella</i>	33
7.2. Resultados de <i>Staphylococcus aures</i>	35

7.3. Resultados de Coliformes Termotolerantes.....	37
7.4. Resultados de <i>E. coli</i>	38
8. CONCLUSÃO.....	40
REFERÊNCIAS.....	41

1. INTRODUÇÃO

O leite é considerado o mais nobre dos alimentos, por sua composição rica em proteínas, gorduras, carboidratos, sais minerais e vitaminas além de oferecer elementos anticarcinogênicos, presentes na gordura, como o ácido linoléico conjugado, esfingomielina, ácido butílico, entre outros. A sua qualidade *in natura* é influenciada por muitas variáveis, entre as quais destacam-se fatores zootécnicos associados ao manejo, alimentação, potencial genético dos rebanhos e fatores relacionados à obtenção e armazenagem do leite (MÜLLER, 2002).

A indústria leiteira compreende diversas fases, desde a origem do leite, ainda nas propriedades rurais, até a sua chegada ao comércio como produto industrializado, na forma de leite pasteurizado, ou derivados como o queijo, o iogurte e entre outros, sendo o queijo uns dos subprodutos mais procurados, com alta demanda de consumo. O queijo é um concentrado proteico-gorduroso cuja obtenção é feita mediante a coagulação do leite e posterior retirada do soro. A fabricação do queijo é uma arte que, independente do grau de industrialização ou do nível tecnológico, requer do queijeiro dedicação e cuidados em cada etapa de produção, para a obtenção de um bom produto. Existe vários tipos de queijos, como queijo muçarela, queijo requeijão, queijo fresco, sendo diferenciado um ao outro seu ponto de maturação (SILVA, 2005).

A indústria de laticínios no Brasil é feita praticamente por quatro tipos de produtos: leite pasteurizado, leite em pó, queijos e iogurtes. A partir da década de 80 houve um grande impulso na produção do queijo fresco dando um grande destaque ao mesmo. Este geralmente é fabricado a partir do leite cru, as vezes nas próprias fazendas produtoras do leite, contrariando o artigo 200 do Regulamento de Serviço de Inspeção Federal (SIF), onde consta que só é permitida a fabricação de queijo fresco com o leite pasteurizado. Este fato é extremamente preocupante, pois o leite cru constitui fonte de muitas contaminações microbiológicas que afeta ao ser humano (GERMANO e PINTO, 2003).

O processo de fabricação do queijo fresco é composto pelas seguintes fases: pasteurização do leite, coagulação, corte, dessoragem, enformagem, salga, embalagem e refrigeração. A manipulação na produção, a higiene de balcões e utensílios e a venda em feiras livres e supermercados, são apontadas como as principais causas de contaminação por

Staphylococcus aureus e *Salmonella* spp. em queijos. Pode ocorrer também, contaminações cruzadas com embalagens rompidas, com *Listeria monocytogenes* originada de alimentos crus e também pode conter micro-organismos deterioradores de queijo, os coliformes, que causam estufamento precoce, e os micro-organismos esporulados anaeróbicos do gênero *Clostridium*, que provoca o estufamento tardio (GERMANO e PINTO, 2003).

A presença de coliformes nos queijos está relacionada com a qualidade do leite e a presença de micro-organismos que provocam alterações no leite com degradação das gorduras, além de tornar o alimento impróprio para o consumo, podendo-se tornar um veículo de doenças, e sendo possível a contaminação em qualquer etapa do processo de fabricação do queijo artesanal (OLIVER, 2008).

As vendas de queijos frescos nas pequenas e médias cidades, normalmente são realizados sem a fiscalização necessária para uma boa qualidade e higiene do produto. Geralmente os queijos frescos são vendidos em feiras livres, sítios de pequenos portes que produzem leite e o queijo por conta própria e até alguns supermercados também, sem a permissão da fiscalização. Isso faz com que a pessoa que irá consumir o alimento esteja correndo grandes riscos de estar ingerindo um alimento contaminado, e pode estar acarretando alguma doença, desde uma simples virose até algo mais grave, devido os possíveis micro-organismos que podem estar presentes naquele queijo.

Portanto este trabalho tem como objetivo, realizar as análises microbiológicas nos queijos frescos que são comercializados na região de Assis, avaliando a sua qualidade microbiológica.

2. LEITE

A qualidade do leite é definida por parâmetros de composição química, características físico-química e higiene. A presença e os teores de proteína, gordura, lactose, sais minerais e vitaminas determinam a qualidade da composição, que por sua vez, é influenciada pela alimentação, manejo, genética e raça do animal. Fatores ligados a cada animal, como o período de lactação, o escore corporal ou situações de estresse também são importantes quanto a qualidade composicional. As exigências de qualidade e higiene para o leite cru e derivados lácteos são definidas com base em postulados estabelecidos para a proteção da saúde humana e para a preservação das propriedades nutritivas desses alimentos (BRITO e BRITO, 2016).

A obtenção do leite de qualidade começa ordenhando-se apenas vacas sadias. Os rebanhos leiteiros são em geral, constituídos por animais selecionados geneticamente de modo a apresentarem padrões anatômicos e fisiológicos que assegurem um nível de produção elevado e de boa qualidade. Alguns procedimentos fundamentais precisam ser adotados, como higienização no processo de obtenção do leite, resfriamento do leite e controle da mamite e mastite. A qualidade do leite é muito importante para as indústrias e produtores, tendo impactos diretos tanto na produção de derivados lácteos quanto na segurança alimentar. Por isso, é necessário conhecer alguns conceitos sobre a qualidade do leite referentes à composição e condição higiênico-sanitária. A venda de leite e produtos derivados, direto do produtor ao consumidor, sem qualquer tratamento prévio, notadamente a pasteurização, expõe a população ao risco de doenças. O leite, ao ser sintetizado e secretado para o lúmen alveolar, encontra-se livre de micro-organismos. Porém contamina-se durante seu percurso em direção ao exterior do úbere, com micro-organismos saprófitos, componentes da microbiota normal do animal, podendo observar todo esse mecanismo na figura 1. A quantidade de micro-organismos no leite cru varia de acordo com a contaminação inicial, tempo e temperatura de armazenamento. O leite poderá apresentar uma variedade de micro-organismos patogênicos em decorrência de processos inflamatórios do úbere ou de enfermidades no rebanho (RODRIGUES et al., 2013).

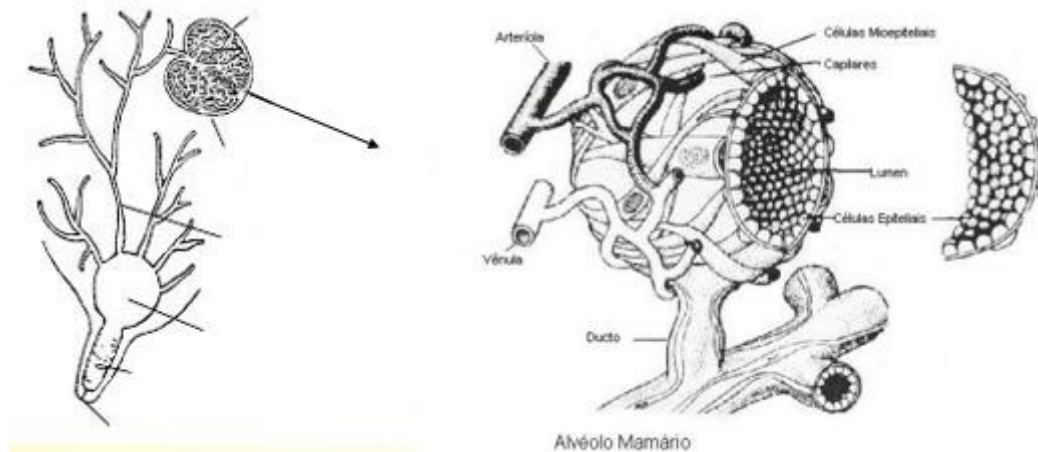


Figura 1: Representação do alvéolo mamário e úbere de uma vaca (In: MOARES, 2016).

A qualidade do leite está associada a carga microbiana inicial presente no produto, e quanto maior o número de contaminantes e a temperatura de estocagem, menor será o tempo de conservação deste produto. O leite produzido no Brasil apresenta, de maneira geral, alta contagens de micro-organismos demonstrando com isto que há deficiências na higiene de produção (FREITAS, 2015).

Segundo a Portaria nº146 de 07 de março de 1996, o leite a ser utilizado deverá ser higienizado por meios mecânicos adequados e submetido a pasteurização ou tratamento térmico equivalente para assegurar a fosfatase residual negativa, que garantam a inocuidade.

Conforme Germano, (2003), no início da década de 90, algumas indústrias de grande porte passaram a estabelecer novos requisitos para o recebimento de leite e a remuneração ao produtor. Entre os critérios utilizados, foram incluídos: prova de redutase, sedimentos e condições sanitárias do rebanho. A escolha destes parâmetros levou em consideração a simplicidade e a praticidade das provas, as quais podiam ser efetuadas nos próprios postos de refrigeração das empresas, além de constituírem instrumentos universalmente aceitos para estimar a qualidade higiênica do leite.

3. QUEIJO

O queijo minas frescal é um produto de grande popularidade, aceitação, consumo e produção em todo o país. É conhecido por uma massa crua, com alto teor de umidade e sem ponto de maturação, tornando-o assim um alimento muito perecível. Sua arte de fabricação tem origem típica da Serra da Estrela, em Portugal, chegou na América com os colonizadores e foi passado aos mineiros, tornando assim o processo de fabricação do Queijo Minas Artesanal como patrimônio imaterial do Estado de Minas Gerais (BONDARCZUK, 2013).

De acordo com SOUZA et al., (2014), o queijo é típico da região Nordeste, local onde suas técnicas de produção provêm de tradições enraizadas e persistem até hoje em todas as regiões produtoras, podendo-se afirmar que seu maior conhecimento vem da região das Serras da Canastra, Serro e Salitre, todas em Minas Gerais. No entanto, a falta de critérios de qualidade da matéria prima e das técnicas de processamento permite que produtos de baixa qualidade cheguem até o consumidor.

O queijo fresco é um dos subprodutos do leite obtido por coagulação enzimática do leite com coalho e considerado um queijo semi - gordo. Constituem um meio propício para o crescimento de micro-organismos patogênicos e não possui período de maturação, levando a ser um produto perecível que deve ser consumido rapidamente, sendo necessária manter sob refrigeração (APOLINÁRIO, SANTOS e LAVORATO, 2014).

Os queijos de massa mole com pH alto e umidade elevada permitem o desenvolvimento de muitos micro-organismos. Não é padronizado e sua composição é variável apresentando de 12 a 18% de proteína e de 20,5% até 29,22% de gordura, na figura 2, pode-se observar as informações nutricionais de um queijo fresco de uma dada marca comercial. Durante a sua fabricação podem ocorrer perigos que comprometem o produto final, ocorrendo contaminações microbiológicas tanto da matéria prima quanto da maneira produzida e/ou armazenada. Assim, as boas práticas de fabricação e as medidas de sanificação durante o processamento são cruciais para a garantia de um produto de qualidade (SANGALETTI et al., 2009).

INFORMAÇÃO NUTRICIONAL		
PORÇÃO DE 30 g (1 FATIA)		
QUANTIDADE POR PORÇÃO		% VD
VALOR CALÓRICO	60 Kcal = 252 KJ	3
CARBOIDRATOS	0 g	0
PROTEÍNAS	7 g	14
GORDURAS TOTAIS	8 g	10
GORDURAS SATURADAS	5 g	18
GORDURAS TRANS	0 g	**
FIBRA ALIMENTAR	0 g	0
COLESTEROL	20 mg	7
CÁLCIO	190 mg	24
FERRO	-	-
SÓDIO	114 mg	2
(*) % Valores Diários de referência com base em uma dieta de 2000 Kcal ou 8400 KJ. Seus valores diários podem ser maiores ou menores dependendo de suas necessidades energéticas.		
(**) Valores Diários de referência não estabelecidos.		

Figura 2: Informação nutricional de queijo fresco de uma dada marca comercial.

A fabricação do queijo varia seus procedimentos dependendo do tipo de queijo a ser produzido. Na produção do queijo frescal, o leite a ser utilizado tem como obrigatoriedade ser pasteurizado, conforme a resolução nº 065/2005, além de todo cuidado da higienização durante toda sua fabricação, para assim resultar num queijo livre de contaminações e adequado com as boas práticas de fabricação (BPF's). As etapas para fabricação do queijo frescal são basicamente realizar a coagulação do leite, que é realizada pela adição de coalho, corte da coalhada para liberação do lactosoro, enformagem da massa obtida, prensagem da massa já enformada para retirada do lactosoro também, a salga e em seguida o queijo é embalado, toda o processo para fabricação do queijo está expressa na figura 3 (PERRY, 2004).

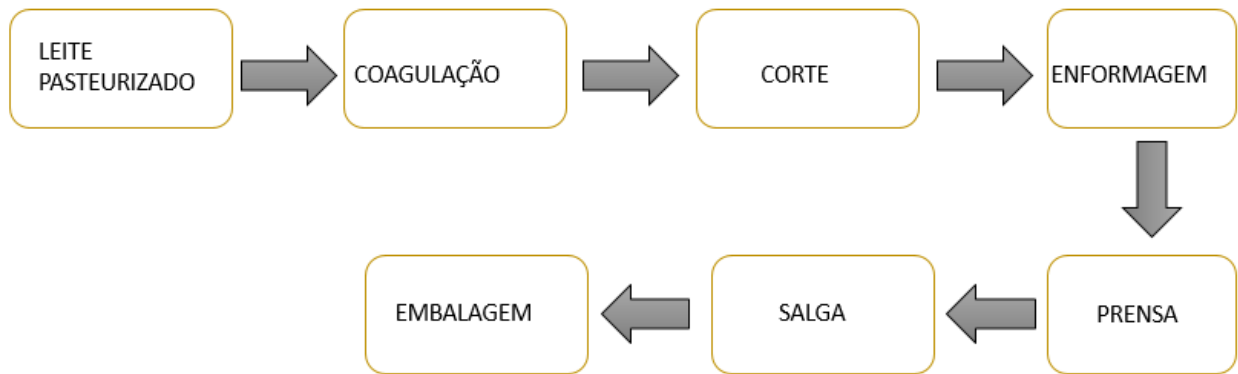


Figura 3: Processo de fabricação do queijo.

4. CONTAMINAÇÕES MICROBIOLÓGICAS

Entre os vários parâmetros que determinam a qualidade de um alimento, os mais importantes são, sem dúvida, aqueles que definem as suas características microbiológicas. A avaliação da qualidade microbiológica de um produto fornece informações que permitem avaliá-lo quanto às condições de processamento e armazenamento, quanto ao risco à saúde da população (FRANCO e LANDGRAF, 2001).

A ingestão de queijos contaminados pode trazer consequências para a saúde da população. Para detectar possíveis contaminações nos alimentos, utilizam-se grupos de micro-organismos indicadores e patogênicos. Os indicadores mais comuns são os coliformes totais e coliformes termos tolerantes. Dentre alguns micro-organismos patogênicos, pode-se destacar a *Salmonella* spp., que causa infecção alimentar e o *Staphylococcus aureus*, que é produtor de uma toxina termoestável pré-formada no alimento. Outro patógeno que também pode estar presente nos alimentos é a *Listeria* spp. que pode causar febre, fadiga, mal-estar, podendo haver ou não náusea, vômitos, dores, diarreia e até comprometimento do sistema nervoso e abscessos (APOLINÁRIO, 2014).

4.1. COLIFORMES

As bactérias coliformes são um grupo que podem ser encontrados no solo, nas águas e no intestino dos homens e animais de sangue quente. É um termo geral para bactérias Gram-negativas, anaeróbicas, facultativas, em forma de bastonetes, forma representativa esboçada na figura 4. Também são conhecidas como grupo *coli-aerogenes*. Os critérios utilizados para identificação são a produção de gás proveniente da glicose e a fermentação da lactose com produção de ácido e gás. O grupo de coliformes inclui espécies dos gêneros *Escherichia*, *Klebsiella*, *Enterobacter* e *Citrobacter*, além de *E. coli*. Um dos micro-organismos que mais se destacam entre vários existentes nos alimentos é o grupo de coliformes totais e termo tolerantes, sua avaliação é utilizada para verificar as condições higiênicas, sendo este micro-organismos em grande número, um indicador de contaminações após processamento (FORSYTHE, 2013).

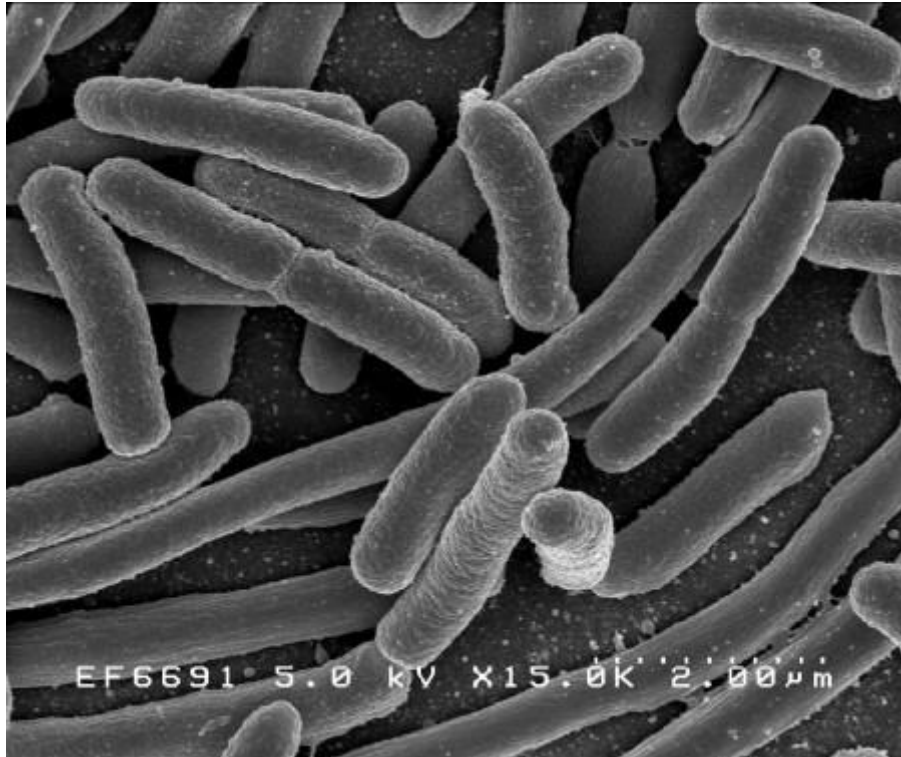


Figura 4: Forma representativa para coliformes (In: LOPEZ, 2018).

Os coliformes totais é um grupo da família Enterobacteriaceae que inclui 44 gêneros e 176 espécies. Neste grupo encontra-se somente as enterobactérias capazes de fermentar a lactose com produção de gás a 35°C. Os coliformes termos tolerantes, também conhecidos como coliformes fecais, é um subgrupo dos coliformes totais, restrito aos membros capazes de fermentar a lactose a 44,5-45,5°C com produção de gás. E a *E. coli*, está incluída tanto no grupo dos coliformes totais quanto no dos coliformes termos tolerantes. Podemos considerar que toda *E. coli* é um coliforme, mas nem todo coliforme poderá ser considerado uma *E. coli*, essa informação pode ser compreendida ao visualizar a figura 5. Seu habitat natural é o trato intestinal de animais de sangue quente, embora também possa ser introduzida nos alimentos a partir de fontes não fecais (SILVA, et. al. 2017).

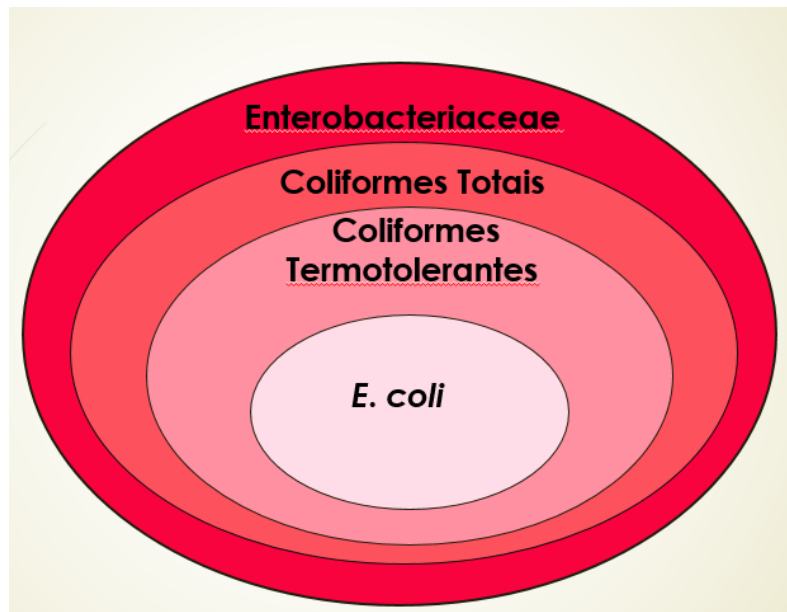


Figura 5: Representação da família de coliformes.

4.2. *Salmonella*

A *Salmonella* é uma causa importante de doenças de origem alimentar no mundo todo e uma causa significativa de morbidade, mortalidade e perdas econômicas. O gênero *Salmonella* pertence à família *Enterobacteriaceae* e compreende bacilos Gram – negativos, representados na figura 6, não produtores de esporos. São anaeróbicos facultativos, produzem gás a partir da glicose e são capazes de utilizar o citrato como única fonte de carbono. Existem várias formas de classificação de *Salmonella*, o que torna bastante confusa a sua compreensão. O pH ótimo para multiplicação das salmonelas fica próximo de 7,0, sendo que valores superiores a 9,0 e inferiores à 4,0 são bactericidas. A temperatura ideal para multiplicação do micro- organismo é de 35°C- 37°C (FRANCO e LANDGRAF, 2011).



Figura 6: Representação para bacilos gram – negativos (In: MARTIN, 2017).

A *Salmonella* se encontra praticamente tudo ao nosso redor, como o solo, o ar, a água, animais e nos seres humanos, em alimentos e equipamentos. Seu habitat natural é o trato intestinal dos seres humanos e animais, e alguns alimentos que são mais fáceis de conter contaminação de salmonela são carnes bovinas, suínas e de aves e seus derivados. Pode-se dizer que a salmonela é um dos micro-organismos mais frequentes em casos de doenças de origem alimentar, sendo influenciado pelos hábitos alimentares, surgindo através da preparação ou manuseio com o alimento. A doença pode ser diagnosticada através dos seguintes sintomas: vômitos, náuseas, diarreia, cefaleia e calafrios, podendo persistir por 1 a 2 dias, e se recuperando normalmente após o terceiro dia da infecção, podendo ter um prazo maior em casos de lactantes, idosos e enfermos e também dependendo da dose infectante ingerida (BAU, SIQUEIRA e MOOZ, 2009).

4.3. *Staphylococcus aureus*

O *Staphylococcus aureus* é uma bactéria esférica, do grupo dos cocos gram – positivos, esboçado na figura 7, com aproximadamente 0,5 a 1,5 μm de diâmetros, imóveis, não esporulados e geralmente não encapsulados, que vão desde isolados, aos pares, em cadeias curtas, ou agrupados irregularmente, frequentemente encontrada na pele e nas fossas nasais de pessoas saudáveis. Entretanto pode provocar doenças, que vão desde uma simples infecção até infecções graves. Pertence à família *Micrococcae*, possui 33 espécies, são facultativas anaeróbicas, com maior crescimento sob condições aeróbicas, quando produzem catalase (SANTOS et. al., 2007).

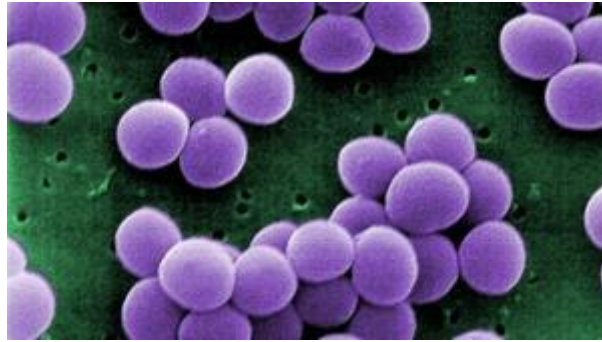


Figura 7: Cocos gram – positivos (In: FREITAS, 2016).

É uma das principais bactérias patogênicas para os seres humanos e um importante causador de infecções com alta incidência de morbimortalidade. Este micro-organismo é um agente frequente de infecções em recém-nascidos, crianças e adultos, causando infecção da pele e dos tecidos moles, pneumonia, meningite, septicemia e outras infecções a nível comunitário de hospitalar. Sua colonização normalmente acontece na mucosa nasal, e a transmissão deste micro-organismo ocorre por aerossóis e por contato entre as pessoas, além de possuir uma alta capacidade de adquirir resistência a uma ampla gama de antibióticos (BULLÉ et. al. 2016).

Surto de intoxicação alimentar é registrado em todo o mundo, sendo poucas informações sobre a doença no Brasil. As intoxicações estafilocócicas são muito comuns no país, sendo a maioria dos casos não investigadas ou não notificadas. Esta intoxicação é uma das doenças transmitidas por alimentos mais comuns e resulta da ingestão de enterotoxinas estafilocócicas pré-formadas em alimentos que se inicia rapidamente após a ingestão. A doença é diagnosticada de uma forma geral, os sintomas de toxinfecção alimentar são caracterizados por náusea e emese, com ou sem o acompanhamento de diarreia (FEITOSA et. al. 2017).

5. PROTEÍNAS PRESENTE NO NOSSO COTIDIANO

Todo professor de ciências tem como conhecimento que o que se desperta o interesse em suas aulas sempre vem de algo um pouco frequente de seu cotidiano, podendo ser uma experimentação para melhor explicação da matéria. A experimentação pode ser utilizada para demonstrar os conteúdos abordados em sala de aula, fazendo com que os alunos resolvam problema que possa aparecer (GIORDAN, 1999).

A experimentação faz com que os alunos despertam interesse ao tema abordado, considerando que o ensino possa trazer a eles novos aprendizados, utilizando a mesma para maior conhecimento e não para comprovação daquilo visto na teoria, além de proporcionar aos alunos a oportunidade de sair da rotina de sala de aula (PARRILHA, 2010).

Assim como muitos alimentos, o queijo é um alimento que tem uma grande fonte em diversos nutrientes que fazem bem para a nossa saúde e também rico em proteína proveniente do leite. São ricos em cálcio, que fortalece ossos e dentes, ótimas para o desenvolvimento do organismo, e vitaminas A e B12, que ajudam a nossa visão e aumenta nossa função neurológica. Como proposta do trabalho, propor aos alunos do ensino médio a identificação de proteína em alimentos que são facilmente encontrados em nosso dia a dia, mostrando-os que a química está sempre presente em nossas vidas e que ela é necessitada para as mais simples identificações e que os alimentos consumidos por todos quase todos os dias sempre contém proteínas (STUPPIELLO, 2016).

5.1. AULA EXPERIMENTAL

Como aula experimental, mostrar aos alunos uma prática que determina proteínas nos alimentos de consumo diários de fácil acesso em nosso cotidiano.

5.1.1. Materiais e Reagentes

- 5 Tubos de ensaio;

- Estante para tubos de ensaio;
- Solução de sulfato de cobre;
- Solução de hidróxido de sódio;
- Amido de milho;
- Clara de ovo;
- Leite;
- Açúcar;
- Suco de laranja;
- Contas-gotas;
- Espátulas.

5.1.2. Procedimento

Primeiro preparar a solução de referência (padrão de cor do reagente), colocando em um tubo de ensaio 20 gotas de água destilada, 20 gotas de solução de hidróxido de sódio e 5 gotas de solução de sulfato de cobre, misturar bem os reagentes, observar a coloração e guardar para utilizar depois.

Para os alimentos em pó, adicionar uma pitada de cada em tubos separados e já identificados conforme o alimento e dissolve-los com 15-20 gotas de água e para os alimentos líquidos, adicionar 10 gotas da amostra e 10 gotas de água em cada tubo devidamente identificados e separados. Seguindo, adicionar 20 gotas de solução de hidróxido de sódio e 5 gotas de sulfato de cobre, agite bem e observe a coloração obtida, anotando os resultados.

5.1.3. Conclusão

Após a realização dos experimentos e todos alunos observarem as colorações obtidas em cada alimento, realizar uma discussão sobre o que aconteceu em cada tubo de ensaio e quais as reações que ocorreram.

Como critério de avaliação, observar o comportamento e participação de cada aluno durante a prática exercida, e também respondendo individualmente um questionário após terminar o experimento e toda explicação do professor.

6. MATERIAIS E MÉTODOS

6.1. MATERIAIS

6.1.1. Amostras

Foram compradas e analisadas um total de 7 amostras de queijo fresco no comércio da cidade de Assis. As amostras adquiridas foram mantidas em refrigeração até o momento das análises. Todas as amostras foram manuseadas e incubadas dentro da câmara de fluxo laminar com o total cuidado para não ocorrer contaminações durante o manuseio e assim, oferecer riscos de obter falsos resultados. Para as amostras que o resultado foi positivo nos testes presuntivos, foi realizado os testes confirmativos para a confirmação da presença de contaminação na amostra. As amostras foram nomeadas da J1 ao J7 para manter reservado a marca e/ou produtor do queijo. As análises ocorreram no CEPECI – Centro de Pesquisas de Ciências da FEMA – Fundação Educacional do Município de Assis, sendo as 4 primeiras amostras, analisadas no mês de junho e as 3 seguintes e últimas amostras analisadas no mês de agosto.

6.1.2. REAGENTES E MEIO DE CULTURA

- Ágar Baird Parker;
- Ágar Nutriente;
- Ágar Tríplice Açúcar Ferro;
- Ágar Uréia de Christensen;
- Ágar Xilose Lisina Desoxicolato (XLD);
- Água Peptonada 0,1 %;
- Água Peptonada Tamponada;
- Caldo Descarboxilase;
- Caldo Selenito cistina.
- Caldo Tetratonato Muller Kauffmann Novobiocina;
- Caldo Triptona 1%;
- Caldo VM – VP;

- Cultura β -hemolítica de *Staphylococcus pseudointermedius* (ATCC 49444);
- Tubos de Caldo Infusão Cérebro Coração (BHI);
- Tubos de Caldo Lauril Sulfato (LST) com tubos de durham invertidos;
- Tubos de Caldo Verde Brilhante Bile 2% (VB) com tubos de durham invertidos;
- Tubos de Trypticase de Soja Extrato de Levedura (TSA-YE);

6.2. EQUIPAMENTOS

- Balança;
- Câmara de fluxo laminar;
- Estufas;
- Banho maria;
- Liquidificador



Figura 8: Câmara de fluxo laminar e estufa para incubação microbiológica.

6.3. MÉTODOS

6.3.1. Preparo da amostra

Pesou-se 25 g da amostra, diluiu-se e homogeneizou-se em 225 ml de Caldo pré – enriquecimento estéril (diluição 10^{-1}), figura 9. A partir desta foi feita sucessivas diluições

decimais, tantas quanto necessárias conforme descrito no Manual de métodos de análises microbiológicas de alimentos e água. Esta diluição foi incubada por 24 horas a 35°C.



Figura 9: amostras em caldo pré enriquecimento.

6.3.2. *Salmonella*

Homogeneizou-se uma porção de 25 gramas da amostra do queijo com 225 ml de caldo pré enriquecimento e incubou-se a 35±1°C por 18-24 horas. Depois das horas passadas, agitou-se cuidadosamente o frasco de pré-aquecimento e transferiu 1,0 mL para 10 mL de Selenito cistina e 1,0 ml para 10 ml de Caldo Tetracionato Muller Kauffmann Novobiocina (MKTTn). Incubou ambos os caldos a 35°C±1°C por 24 horas.

Do caldo MKTTn estriou-se uma alçada em Ágar Entérico de Hectoen (HE), Ágar Bismuto Sulfito (BS) e Ágar Xilose Lisina Desoxiociolato (XLD). Repetiu esse procedimento com o caldo SC e incubou as placas invertidas a 35°C por 24 horas.

Após o período de incubação, verificou-se se houve desenvolvimento de colônias típicas de salmonela que em Ágar HE são colônias transparentes, verde – azuladas, com ou sem centro preto. Em Ágar BS, aparecem colônias marrons ou pretas com ou sem brilho metálico. O meio em redor das colônias muda gradativamente para uma coloração marrom a preta. E o Ágar XLD, aparecem as colônias transparentes cor de rosa escuro, com ou sem centro preto. Todo o procedimento está esboçado na figura 10.

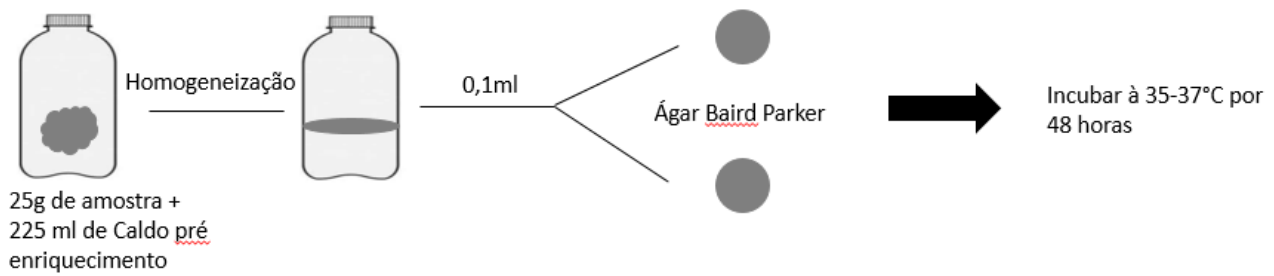


Figura 11: Análises do *Staphylococcus Aureus*.

6.3.4. Coliforme Totais

Também foi selecionado uma diluição adequada da amostra já preparada e inoculou uma série de três tubos de Caldo Lauril Sulfato (LST) por diluição, adicionando 1ml da diluição por tubo com 10ml de LST, conforme figura 12. Incubou os tubos a $35 \pm 0,5^\circ\text{C}$ por 24 horas e observou se houve crescimento com produção de gás.

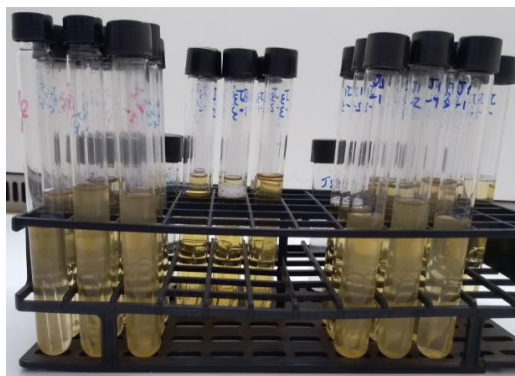


Figura 12: amostras incubadas em caldo CLS.

Em caso de positivo, (crescimento e produção de gás) para contagem de coliformes fecais, tomou-se os tubos de LST com produção de gás e transferiu-se uma alçada bem carregada de cada cultura para tubos de caldo *E. coli* (EC) e também para o Caldo Bile Verde Brilhante. Incubou-se em banho maria a $45,5^\circ\text{C}$ por 24 horas e observou se houve crescimento com produção de gás. Já para confirmação de *E. coli*, transferiu-se uma alçada para tubos de EMB/ IMVIC para ter um teste confirmativo. Na figura 13 mostra o esquema.

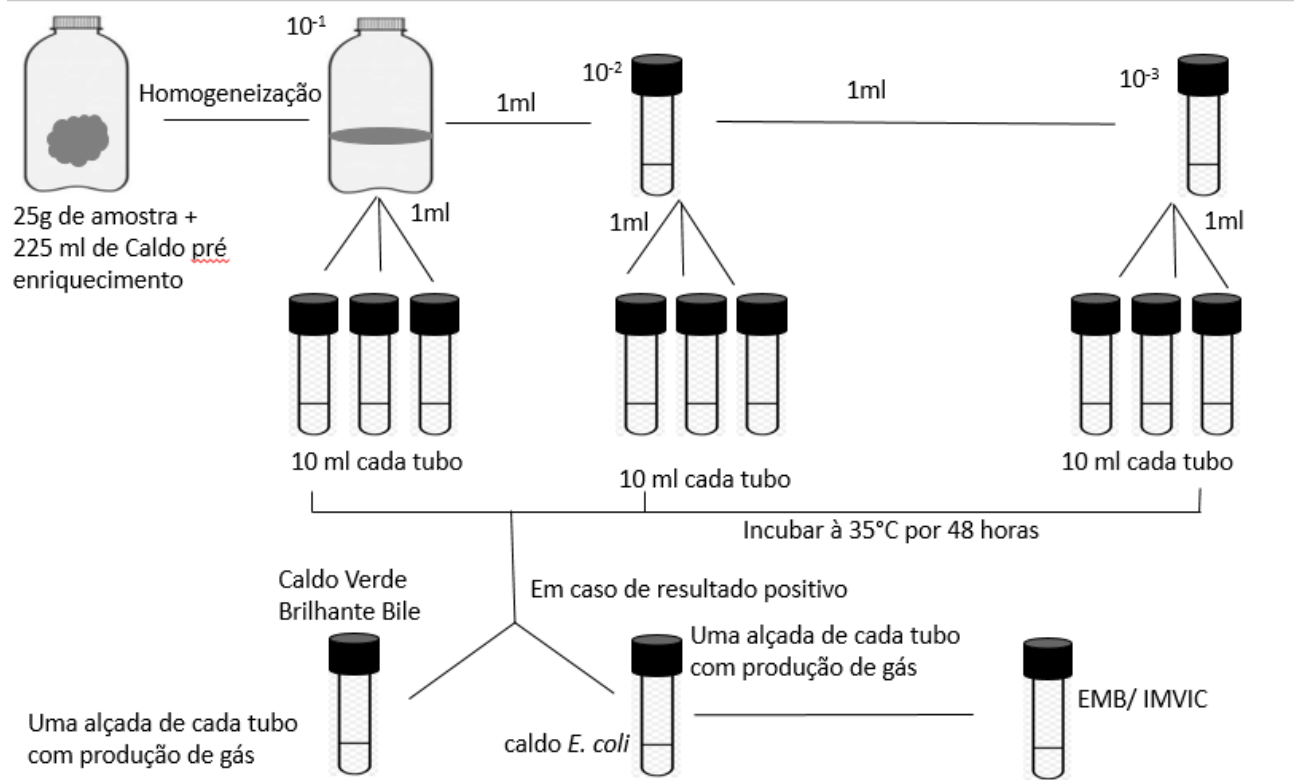


Figura 13: Análises do coliformes.

7. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Após todas as análises serem realizadas foram obtidos os resultados que estão apresentados na tabela 1.

	J1	J2	J3	J4	J5	J6	J7	Legislação
<i>Coliformes Termotolerante</i>	ausente	ausente	Ausente	ausente	7 NMP/g	460 NMP/g	150 NMP/g	5,0x10 ³ NMP/g
<i>E. coli</i>	ausente	ausente	Ausente	ausente	4 NMP/g	43 NMP/g	23 NMP/g	ausente
<i>Staphylococcus aureus</i>	1,4x10 ⁴	3,7x10 ³	7,2x10 ⁵	1,5x10 ²	1,7 x10 ⁴	1,9x10 ⁴	2,1x10 ⁴	5,0x10 ³
<i>Salmonella</i>	ausente	ausente	Ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	Ausente

Tabela 1: resultados de todas as análises realizadas.

7.1. Resultados de *Salmonella*

De acordo com a tabela 1, todos os queijos analisados apresentaram ausência de *Salmonella*, indicando assim que as amostras estavam de acordo com a Resolução – RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001, em que se deve encontrar ausência de *Salmonella* em queijos tipo minas frescal. Na figura 14 pode ser observado as placas com os resultados para *Salmonella*.

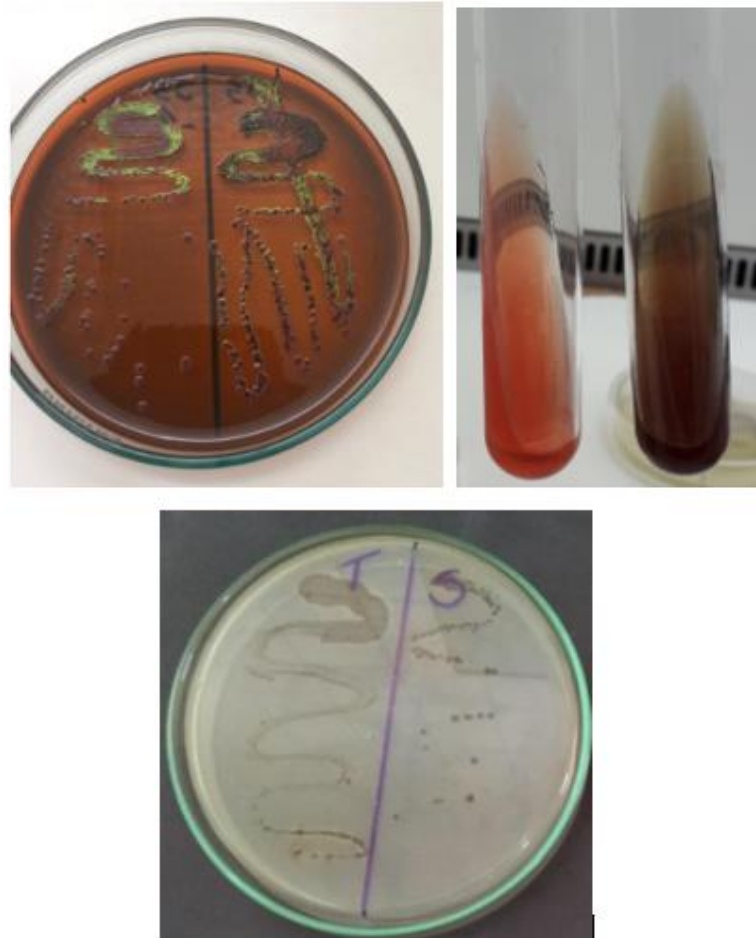


Figura 14: Placas das análises de *Salmonella*.

APOLINÁRIO et. al. (2014), analisaram 31 amostras, avaliando a presença de *Salmonella* e em nenhuma delas teve um resultado positivo, estando assim todos dentro da legislação. Já no trabalho de FREITAS, (2015), ao realizar as análises em duas amostras de queijos frescos, obteve-se resultados positivos de *Salmonella* para ambas amostras, concluindo que elas se encontravam em condições impróprias para o consumo, estando fora da legislação. Em seu trabalho, afirma que essa contaminação pode ter ocorrido por práticas de hígienes inadequadas. No trabalho de SALOTTI, (2006), foram analisadas 60 amostras de queijos fresco, dividindo em 30 amostras artesanais e outras 30 amostras inspecionadas pelo Serviço de Inspeção Estadual e Federal. Em suas análises de *Salmonella*, todas encontravam-se dentro do padrão da legislação e dessa forma, todas com resultados negativos para esta contaminação, estando devidamente apropriadas para consumo.

SOUZA et. al. (2017), em seu trabalho, analisaram 50 amostras diferentes de queijos brancos, sendo divididas entre amostras industrializadas e artesanais, após as

análises, concluiu-se que 20 das suas amostras estavam contaminadas com *Salmonella* estando imprópria para consumo. Em seu trabalho, afirma que esse resultado indica expressiva necessidade de aperfeiçoamento no processamento, armazenamento e/ou distribuição do alimento em si analisado. No trabalho de MELO, ALVES e COSTA, (2009), foram analisadas 30 amostras de queijos frescos comercializados em São Luiz, MA, e após resultados, concluíram que nenhuma das suas amostras estavam contaminadas com *Salmonella*. Dessa forma, obteve-se um resultado muito satisfatório, pois mostra que os queijos se encontravam dentro dos padrões estabelecidos pela ANVISA, que diz ter ausência para *Salmonella*.

7.2. Resultados de *Staphylococcus aureus*

Os resultados de *Staphylococcus aureus*, foram comparados os resultados obtidos com a legislação RDC n° 12, onde diz que para uma amostra de queijo estar no limite e padrões de contaminações referente ao *Staphylococcus aureus*, deve-se obter um limite máximo de $5,0 \times 10^3$ UFC/g (Unidades Formadoras de Colônias), dessa forma, após todas as análises terem sido concluídas chegou-se ao resultado que 5 das amostras continham a contaminação, sendo amostras dos queijos J1, J3, J5, J6, J7. E as demais amostras analisadas se encontraram com presença de *Staphylococcus aureus*, mas dentro dos limites estabelecidos, sendo as amostras J2 e J4 classificadas como no limite tolerável, pode-se observar os resultados obtidos na figura 15.

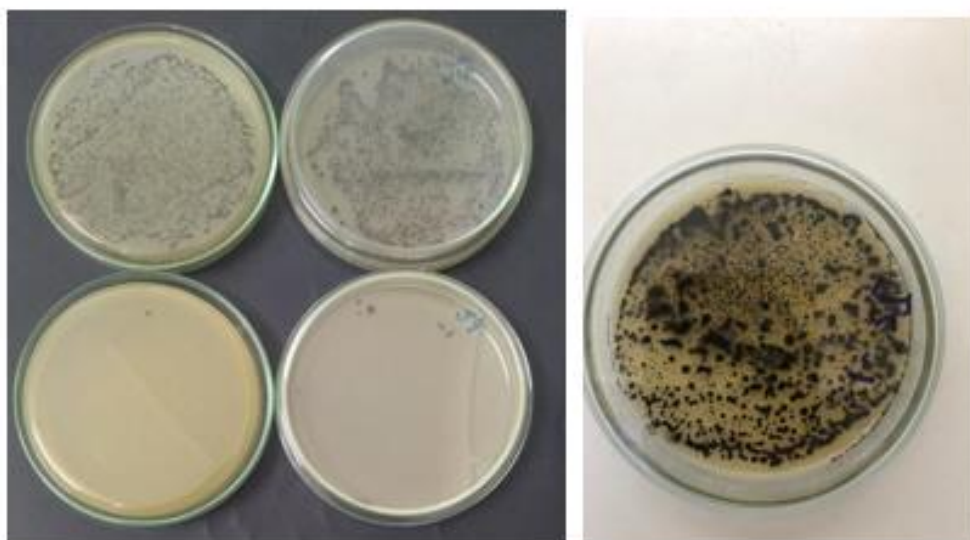


Figura 15: Resultados das análises de *Staphylococcus aureus*.

No trabalho de SOUZA, et al, 2017, seus estudos ocorreram com um total de 50 amostras de queijos frescos, variando de produção artesanal e industrial. Depois de todas as análises, concluiu que 10 de suas amostras apresentaram resultados positivos para *Staphylococcus aureus*, afirmando que a maior preocupação relacionada a esta contaminação é a produção de enterotoxinas, havendo a possibilidade da ocorrência de intoxicações. Em outra pesquisa, BRANT, FONSECA e SILVA, 2007, realizaram um trabalho de análises microbiológicas em 40 amostras de queijos frescos artesanais e obtiveram após os resultados finais de *Staphylococcus aureus* que 33 das suas amostras estavam positivas, sendo acima da legislação estabelecida, em seu trabalho, afirmam que foi o contaminante mais frequente encontrado, e que há o grande risco de intoxicações pela presença de enterotoxinas. APOLINÁRIO et. al., 2014 em seu trabalho, também analisaram *Staphylococcus aureus* e resulta que das 31 amostras analisadas, 5 delas encontra-se acima do limite estabelecido, afirma que isso pode ocorrer por problemas relacionados a problemas de processamento, como falhas de pasteurização, higienização inadequada de equipamentos.

MORAIS e REZENDE, (2013), em sua pesquisa e trabalho realizado, analisaram 10 amostras de queijos frescos, sendo 5 em uma primeira data e os outros 5 em uma segunda data diferente, e após o término das análises e comparação dos resultados, concluiu que todas as suas amostras estavam dentro do limite estabelecido pela RDC nº12, estando abaixo de 5×10^3 NMP. SALOTTI (2009), em seu trabalho, também avalia a presença de *Staphylococcus aureus* nas suas amostras de queijos e depois das análises serem concluídas, viu que 6 das 30 amostras artesanais e 3 das 30 amostras inspecionadas, apresentava valores superiores aos estabelecidos pela legislação vigente. E no trabalho de PASSOS et. al. (2009), analisaram 30 queijos formais, sendo provenientes de produção industrial e as devidas inspeções realizadas, e 15 queijos informais, sendo esses, de fabricação artesanal e venda sem a fiscalização. Após as análises serem concluídas, verificou-se que dos 30 queijos formais, 11 amostras apresentaram contagem acima de 500 UFC/g (5×10^3 UFC/g), e dos 15 queijos informais, 14 amostras estavam fora dos limites para *Staphylococcus aureus*.

7.3. Resultados de coliformes termotolerantes

As análises de coliformes termotolerantes após todas serem concluídas mostrou que 4 das amostras analisadas estavam ausentes para qualquer tipo de coliforme, já as outras 3 amostras foram determinadas a presença de coliformes, e após testes confirmativos, resultou-se que estavam dentro dos limites estabelecidos pela RDC nº12 que se situa um valor limite de 5.0×10^3 NMP/g. As amostras que apresentaram positivo para coliformes termotolerantes foi J5, J6 e J7. Essa presença pode ser observada na figura 16, onde representa a presença de oxigênio nos tubos, um indicativo para o coliforme.



Figura 16: Tubos com CLS indicando presença de coliformes

Segundo ANTONELLO, (2012), após análises de 28 amostras de queijos sobre coliformes termotolerantes, 19 queijos resultaram em valores maiores que a legislação, concluindo assim que esses queijos estavam contaminados e inapropriados para consumo. Também foi encontrado uma grande quantidade de queijos analisados fora do padrão estabelecido no trabalho de SALOTTI (2006). Em seu trabalho houve a divisão de queijos artesanais e queijos inspecionados pela ANVISA (Agência Nacional

de Vigilância Sanitária), nesta divisão, dos 30 queijos artesanais, apenas 5 estavam de acordo com o padrão estabelecido, estando em desacordo com os padrões as 25 amostras restantes. Dos queijos inspecionados, 10 estavam de acordo com o padrão e 20 estavam fora do padrão. Pode-se observar que mesmo entre os queijos inspecionados, uma grande quantidade se encontra fora do padrão estabelecido. FREITAS (2015), em seu trabalho realizou testes para coliformes termotolerantes também, e o seu resultado apresentou-se positivo por apresentar formação de gás nos tubos de caldo verde brilhante (VB), caldo EC e a confirmação em EMB. Obteve-se um valor de ≥ 2.400 NMP/g para coliformes, estando dentro dos limites da legislação que são de no máximo 5000 NMP/g. Dessa forma alegou-se que suas amostras mostravam que os queijos estavam adequados para comercialização e consumo. No trabalho de GARCIA (2016), analisou-se 18 amostras, todas adquiridas na região de Montes Claros – MG, e após os resultados das análises, constatou-se que 16 amostras estavam contaminadas com coliformes termotolerantes, estando acima do valor estabelecido pela legislação.

7.4. Resultados de *E. coli*

A *E. coli*, que é proveniente da presença de restos fecais, é encontrada no trato intestinal de animais de sangue quente, pertencendo aos coliformes, e podendo ser detectado a presença de *E. coli*, é possível afirmar a presença de coliformes. Sua contaminação em alimentos pode ser transmitida pelo ser humano que hospeda este micro-organismo e transferindo durante a manipulação do alimento devido a não prática correta de higienização antes de iniciar, ou durante todo o procedimento. Não se segue uma legislação impondo um valor limite para *E. coli*, dessa forma entende-se que a sua presença em qualquer alimento analisado mostra que ele já não está apropriado para o consumo, podendo trazer intoxicações ou algo mais agravável a quem consumir. No presente trabalho após realizar todas as análises presuntivas e confirmativas, além dos testes bioquímicos para as amostras necessárias, obteve-se que as amostras J1, J2, J3 e J4 foram identificadas com ausência de *E. coli*, já as outras 3 amostras sendo J5, J6 e J7, houve presença de *E. coli*, constatando-se que estas amostras estavam inapropriadas para o consumo.

No trabalho de SOUZA (2017), após a conclusão do teste IMViC, foi constatada a presença de *E. coli* em 16 amostras sendo a maioria em amostras de produção artesanal. Dessa forma afirma-se que a ausência das boas práticas de fabricação (BPF'S) podem acontecer por contaminação cruzada, ou associadas às más condições de armazenamento, favorecendo a presença de micro-organismos no queijo. PASSOS (2009) em seu trabalho com um total de 45 queijos frescos sendo destes, 30 de obtenção industrial e 15 de obtenção artesanal, concluiu após análises que 26 das suas amostras estavam contaminadas com *E. coli*, dessas amostras a maioria das contaminações encontraram-se em queijos de obtenção industrial. Afirma que a presença de *E. coli* é um indicador de contaminação fecal e de possível presença de patógenos entéricos nos queijos, quando há presença desse micro-organismos no organismo, é encontrada no trato gastrointestinal de forma inócua, mas quando distribuída em outras partes do corpo humano, como o trato urinário pode provocar diarreias ou doenças mais agravantes. E no trabalho de SANTOS (2008), analisou 6 amostras de queijos frescos, e após resultados, conclui que 3 amostras havia presença de *E. coli* estando inapropriados para o consumo.

8. CONCLUSÃO

Após todas as análises serem concluídas e todos os resultados obtidos e discutidos conclui-se que os queijos J2 e J4 se encontraram apropriados para o consumo, livre de quaisquer contaminações microbiológicas das qual foram analisadas no presente trabalho. Já os queijos identificados como J1, J3, J5, J6 e J7, continha contaminações microbiológicas, totalizando 71,4% das amostras analisadas, deixando-os dessa forma, inapropriados para o consumo, podendo ocorrer intoxicações alimentares ou até doenças mais agravantes. Desses queijos contaminados, todos estavam contaminados com *Staphylococcus aureus*. E somente os queijos J5, J6 e J7 foram contaminados com *E. coli* e automaticamente por coliformes termotolerantes.

REFERÊNCIAS

ANTONELLO, Luana; KUPKOVSKI, Ana; BRAVO, Claudia Castro. Qualidade microbiológica de queijos coloniais comercializados em Francisco Beltrão, Paraná. **Revista Therma**, v.9, n.1, 2012, p.1-6.

APOLINÁRIO, Thaís Conceição Custódio; SANTOS, Gisele Simas; LAVORATO, Josete Amadeu Almeida. Avaliação da qualidade microbiológica do queijo frescal produzido por laticínios do estado de minas gerais. **Revista Instituto Laticínios Cândido Tostes**, v.69, n.6, nov/dez, 2014, p.433-442.

BAU, Denise; SIQUEIRA, Márcia Ruth; MOOZ, Edinéia Dotti. **Salmonella – Agente epidemiológico causador de infecções alimentares: uma revisão. 2009.** Unioeste. Disponível em: http://www.xxcbcd.ufc.br/arqs/gt6/gt6_72.pdf. Acesso em: 07 mar. 2019.

BONDARCZUK, Nicole H. **Identidade e qualidade dos queijos de origem brasileira.** 2013. 74p. Trabalho apresentado como requisito parcial para graduação em Medicina Veterinária - Departamento de Medicina Veterinária Preventiva – Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 2013.

BULLÉ, Danielly Joani; POTTER, Carla; ARNHOLD, Guilherme Henrique de Oliveira; SANTOS, Clairton Edinei; ARCADEPANI, Tauana; REUTER, Cezane Priscila; RENNEN, Jane Dagmar Pollo. Prevalência de Staphylococcus aureus metilicina resistentes em profissionais de saúde. **Revista de Enfermagem da UFSM**, v.6, n.2, abr/jun, 2016, p. 198-205.

BRANT, Laura Misk de Faria; FONSECA, Leorges Moraes; SILVA, Maria Conceição Carvalho. **Avaliação da qualidade microbiológica do queijo-de-minas artesanal de Serro – MG.** 2007. Scielo. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-09352007000600033. Acesso em: 29 set. 2019.

BRITO, Maria Aparecida Vasconcelos Paiva; BRITO, José Renaldi Feitosa. **Qualidade do leite.** O boletim agrícola. 2016. Disponível em: http://www.fernandomadalena.com/site_arquivos/903.pdf. Acesso em: 10 jun. 2018.

FEITOSA, Amanda Campos; RODRIGUES, Rosimeire Mendes; TORRES, Edwin Angel Torres; SILVA, Juliana Fonseca. Staphylococcus aureus em alimentos. **Revista Desafios**, v.4, n.4, outubro, 2017, p.15-31.

FORSYTHE, Stphen J. **Microbiologia da Segurança dos Alimentos**, 2ªed. Tradução de Andréia Bianchini, Porto Alegre: Editora Artmed, 2013.

FRANCO, Bernadette Dora Gombossy de Melo; LANDGRAF, Mariza. **Microbiologia dos Alimentos**. Português, Belo Horizonte: Editora ATHENEU, 2001.

FREITAS, Agostinho. **Estafilococos: como se pega? Sintomas, tratamento e causas**. 2016. Gentside. Disponível em: gentside.com.br/bacteria/estafilococos-como-se-pegasintomas-tratamento-e-causas_art5261.html. Acesso em: 29/09/2019.

FREITAS, Monica Paul. **Avaliação microbiológica de queijos artesanais produzidos na cidade de Taió, Santa Catarina**. 2015. Saúde e Meio ambiente. Disponível em: <http://www.periodicos.unc.br/index.php/sma/article/view/869>. Acesso em: 10 jun. 2018.

GERMANO, Pedro Manuel Leal; PINTO, Paulo Sérgio de Arruda. **Qualidade das Matérias-Primas, Doenças Transmitidas por Alimentos e Treinamento de Recursos Humanos**, 2º ed. Português, São Paulo: Editora: Varela Editora e Livraria LTDA, 2003.

GIORDAN, Marcelo. O papel da experimentação no ensino de química. **Química Nova na Escola**, v.1, n.10, novembro, 1999, p.43-49.

LOPEZ, Beatriz. **Coliformes: características, tipos, gêneros, enfermidades**. 2018. Lifeder. Disponível em: <https://www.lifeder.com/coliformes/>. Acesso em: 29/09/2019

MARTIN, Silva. **Nueva prueba bacilo Koch**. 2017. Biotech. Disponível em: <https://www.biotechmagazine.es/noticias-biotech/nueva-prueba-bacilo-koch/>. Acesso em: 29/09/2019.

MELO, A. C. M; ALVES, L. M. C; COSTA, F. N. **Avaliação da qualidade microbiológica do queijo tipo minas padrão comercializado na cidade de São Luis, MA**. Arq. Inst. Biol. v.76, n.4, out/dez, 2009, p. 547 – 551.

MORAES, Ismar Araújo. **Fisiologia da glândula mamária**. 2016. Fisiovet. Disponível em: <http://fisiovet.uff.br/wp-content/uploads/sites/397/delightful-downloads/2018/07/Gl%C3%A2ndulas-mam%C3%A1rias.pdf>. Acesso em: 26/09/2019.

MORAIS, Carolina Corrêa. REZENDE, Antônio José. **Análise Microbiológica de Queijos Minas Frescal Comercializados em Supermercados de Brasília, DF**. Revista de Divulgação Científica Sena Aires, v.1, n.1, jan/jun. 2013, p. 11-18.

MÜLLER, Ernst Eckehardt. **Qualidade do leite, células somáticas e prevenção da mastite**. 2002. 220p. Simpósio - Universidade Estadual de Maringá, Paraná, Maringá, 2002.

OLIVER, Antonio Frau. **Características físico-químicas e microbiológicas de queijos minas frescal e mussarela**. Pirassununga. Disponível em: <http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/74/74131/tde-11052006-142015/br-php>. Acesso em: 10 jun. 2018.

PASSOS, Aline Doratiotto; FERREIRA, Gabriela Kummel Lhamas; JULIANI, Graciete Lopes; SANTANA, Elsa Helena Walter; ALEGRO, Lina Casale Aragon. AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DE QUEIJOS MINAS FRESCAL COMERCIALIZADOS NAS CIDADES DE ARAPONGAS E LONDRINA – PR. **Revista Inst. Latic. “Cândido Tostes”**, v. 64, n.369, 2009, p. 48-54.

PARRILHA, Tatiana Nogueira. **Curso Experimental como Prática de Ensino em Química**. 2010. 43p. Trabalho de Conclusão de Curso – Instituto Municipal do Município de Assis, São Paulo, Assis, 2010.

PERRY, Katia da Silva Peixoto. Queijos: Aspectos Químicos, Bioquímicos e Microbiológicos. **Química Nova**, v.27, n2, 2004, p.293-300.

RODRIGUES, Elaine; CASTAGNA, Airton; DIAS, Mariana; ARONOVICH, Marcos. **Qualidade do leite e derivados, processos, processamento tecnológico e índices**, 1. ed. Português, Niterói - RJ: Editora: Coordenadoria de Difusão de Tecnologia CDT/Pesagro-Rio, 2013.

SANGALETTI, Naiane; PORTO, Ernani; BRAZACA, Solange Guidolin Canniatti; YAGASAKI, Cintia Akemi; DALLA DEA, Rebeca Camacho; SILVA, Mariana Vieira. Estudo da vida útil de queijo Minas. **Revista Ciências Tecnológica Alimentícia**, v.29, n.2, abr/jun, 2009, p.262-269.

SANTOS, Vidiany Aparecida Queiroz; CARVALHO, Catharina C. P.; GONÇALVES, Tânia M. V., HOFFMANN, Fernando L. Controle microbiano em linha de produção de queijos Minas Frescal e Ricota. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, v. 657, n.103, 2008, p.219-227.

SILVA, Neusely; JUNQUEIRA, Valéria Christina Amstalden; SILVEIRA, Neliane Ferraz de Arruda; TANIWAKI, Marta Hiromi; GOMES, Renato Abeilar Romeiro; OKAZAKI, Margarete Midori. **Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos e Água**, 5º ed. Português, São Paulo: Editora Edgar Blucher Ltda, 2017.

SILVA, Fernando Teixeira. **Queijo Minas Frescal**, 1º ed. Português, Brasília - DF: Editora: Jose Batista Dantas, 2005.

SOUZA, Iury Antônio; GIOVANNETTI, Ana Cristina da Silva; SANTOS, Luiz Guilherme de Freitas; GANDRA, Scarlet Ohana da Silva; MARTINS, Maurilio Lopes; RAMOS, Alcinéia de Lemos Souza. Qualidade microbiológica de queijo minas frescal comercializado na zona da mata mineira. **Revista Instituto Laticínios Cândido Tostes, Juiz de Fora**, v.72, n.3, jul/set, 2017. P.152-162.

SOUZA, Andréa Zilá Barroso; ABRANTES, Maria Rociene; SAKAMOTO, Sidnei Miyoshi; SILVA, Jean Berg Alves; LIMA, Patrícia de Oliveira; LIMA, Renata Nayhara; ROCHA, Manuella de Oliveira Cabral; PASSOS, Yanna Deysi Bandeira. Aspectos físicos-químicos e microbiológicos do queijo tipo coalho comercializado em estados do nordeste do Brasil. **Revista Arq. Institucional Biológico**, v.81, n.1, janeiro, 2014, p.30-35.

STUPPIELLO, Bruna. **Queijos: os prós e contras de treze tipos. 2016.** Minha Vida. Disponível em: <https://www.minhavidade.com.br/alimentacao/galerias/17125-queijos-os-pros-e-contras-de-treze-tipos>. Acesso em: 10 jun. 2018.