



CURSO BACHARELADO EM NUTRIÇÃO

EDUARDO GARCIA DE SOUZA

**ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DE QUEIJO MINAS FRESCAL
DOS AGRICULTORES FAMILIARES DO MUNICÍPIO DE
GRANDES RIOS - PR**

**Apucarana
2020**

EDUARDO GARCIA DE SOUZA

**ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DE QUEIJO MINAS FRESCAL
DOS AGRICULTORES FAMILIARES DO MUNICÍPIO DE
GRANDES RIOS - PR**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Curso de Bacharelado em
Nutrição da Faculdade de Apucarana –
FAP, como requisito parcial à obtenção do
título de Bacharel em Nutrição.

Orientador: Me. Udson Mikalowski

Apucarana
2020

EDUARDO GARCIA DE SOUZA

**ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DE QUEIJO MINAS FRESCAL DOS
AGRICULTORES FAMILIARES DO MUNICÍPIO DE GRANDES RIOS -
PR**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Nutrição da Faculdade de Apucarana – FAP, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Nutrição, com nota final igual a _____, conferida pela Banca Examinadora formada pelos professores:

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof: Me. Udson Mikalouski
Faculdade de Apucarana

Prof: Me. Patrícia Fernanda Ferreira Pires
Faculdade de Apucarana

Prof: Dr. Cássia Calixto de Campo
Faculdade de Apucarana

Apucarana, ____ de _____ de 2020

Á Deus pela minha vida.

Aos meus pais, José e Terezinha pelo amor, apoio, confiança, compreensão em todos os momentos e por não medirem esforços para a realização dos nossos sonhos, afinal esta é mais uma conquista nossa!

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, José e Terezinha pelo amor, apoio, confiança, compreensão em todos os momentos e por não medirem esforços para a realização dos nossos sonhos, afinal esta é mais uma conquista nossa!

À toda minha família e meus irmãos Elisa e Fernando pelo carinho e apoio em mais esta etapa.

À Deus, por tantas oportunidades concedidas.

Ao meu orientador Prof. Me. Udson Mikalouski pelos conhecimentos transmitidos, paciência e disponibilidade.

"Suba o primeiro degrau com fé. Não é necessário que você veja toda a escada. Apenas dê o primeiro passo."

Martin Luther King

SOUZA, Eduardo Garcia de. **Análise microbiológica de queijo minas frescal dos agricultores familiares do município de Grandes Rios - Pr.** p 41. Trabalho de Conclusão de Curso (Monografia). Graduação em Nutrição. Faculdade de Apucarana - FAP. Apucarana-Pr. 2020.

RESUMO

A produção de queijo minas frescal é simples e de baixo custo, na cidade de Grandes Rios – PR, vários produtores da agricultura familiar tem produção de leite, dentre eles a quatro que produzem queijo minas frescal e a maioria dos produtores de queijo herdaram a produção de queijo dos familiares, tendo como ingrediente o leite cru como principal constituinte, estes são os preferidos pelos consumidores, contudo podendo constituir risco à saúde. Assim, esse experimento objetivou a analisar os queijos minas frescal, versando sobre requisitos análise microbiológica de bactérias coliformes totais, termotolerantes e *E. coli*. As coletas foram realizadas na propriedade dos agricultores e foram encaminhadas para análise microbiológicas em caixas térmicas com termômetro acoplado na temperatura entre 4º C a 9º C com gelo reciclável, até o laboratório de análise microbiológica da Faculdade de Apucarana (FAP). As análises microbiológicas foram determinadas pela a técnica de tubos múltiplos, realizando diluição seriada de 10⁻¹ até 10⁻³, todas com três repetições. Ao final foram obtidos os seguintes resultados, contaminação da matéria prima e do produto final, todas amostras apresentaram *E.coli* em limites não toleráveis pela a legislação vigente. Neste trabalho visa demonstrar a importância das boas práticas de fabricação de alimentos em todas as cadeias de produção.

Palavras chave: Leite cru, sem pasteurização, pequenos agricultores.

SOUZA, Eduardo Garcia de. **Microbiological analysis of Minas Frescal cheese from family farmers in the municipality of Grandes Rios - Pr.** p 41. Course Conclusion Paper (Monograph). Graduation in Nutrition. Faculty of Apucarana - FAP. Apucarana-Pr. 2020.

ABSTRACT

The production of Minas Frescal cheese is simple and low cost, in the city of Grandes Rios - PR, several producers of family farming have milk production, among them four that produce Minas Frescal cheese and the majority of cheese producers inherited the production of cheese from family members, with raw milk as the main constituent, these are preferred by consumers, however, they may constitute a health risk. Thus, this experiment aimed to analyze the minas frescal cheeses, dealing with microbiological analysis requirements of total, thermotolerant and *E. coli* coliform bacteria. The collections were carried out on the farmers' property and were sent for microbiological analysis in thermal boxes with a thermometer attached at a temperature between 4° C to 9° C with recyclable ice, until the microbiological analysis laboratory of the Faculty of Apucarana (FAP). Microbiological analyzes were determined using the multiple tube technique, performing a serial dilution from 10⁻¹ to 10⁻³, all with three replications. At the end, the following results were obtained, contamination of the raw material and the final product, all samples showed *E.coli* within limits not tolerable by current legislation. This work aims to demonstrate the importance of good food manufacturing practices in all production chains.

Keywords: Raw milk, without pasteurization, small farmers.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Mapa de localização do Território Vale do Ivaí – Paraná	19
Figura 2 – Localização de Grandes Rios.....	20
Figura 3 – Fluxograma do processo de queijo minas frescal tradicional	24
Figura 4 – Amostras sendo acondicionadas em caixa térmica	28
Figura 5 – Amostras no Laboratório da Faculdade de Apucarana – FAP.....	28
Figura 6 – Meios de culturas	29
Figura 7 – Crescimento bacteriano no Petrifilm-EC Escherichia coli.....	31

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Contagem de coliformes totais.....30

Tabela 2 – Contagem de coliformes termotolerantes.....30

LISTA DE SIGLAS

ANVISA	Agencia Nacional de Vigilância Sanitária
CAF	Cadastro de Agricultores Familiares
CRPA	Centro Paranaense de Referências em Agroecologia
<i>E. coli</i>	<i>Eschechiria coli</i>
EMATER	Empresa de Assistência Técnica e Extensão Rural do Paraná
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
FAO	Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura
FAP	Faculdade de Apucarana
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IPARDES	Instituto Paranaense de Desenvolvimento Econômico e Social
kg/ano	quilograma/ano
kg/dia	quilograma/dia
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
NMP	Número Mais Provável
° C	Graus Celsius
IN	Instrução Normativa

RDC	Resolução de Diretoria Colegiada
RIISPOA	Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal
RT	Responsável Técnico
<i>S. aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
SEBRAE	Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas
SIF	Serviço de Inspeção Federal
t/dia	tonelada/dia

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
2	OBJETIVO	15
2.1	Objetivo Geral.....	15
2.2	Objetivos Específicos.....	15
3	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	16
3.1	História do leite e queijo artesanal no Brasil.....	16
3.2	História do leite e queijo artesanal no Paraná.....	18
3.3	Microrregião do Vale do Ivaí.....	19
3.4	Município de Grandes Rios – PR.....	19
3.5	Agricultura Familiar.....	21
3.6	Boas Práticas de Fabricação.....	21
3.7	Boas Práticas Agropecuárias.....	22
3.8	Aspetos legais da produção de Queijo Minas Frescal.....	22
3.9	Caracterização do Queijo Minas Frescal.....	23
3.10	Microbiologia do Queijo Minas Frescal.....	25
3.11	Coliformes totais (30 °C).....	26
3.12	Coliformes termotolerantes (45 °C).....	26
3.13	<i>Escherichia coli</i>	26
4	METODOLOGIA	27
4.1	Tipo de Estudo.....	27
4.2	Local de Estudo.....	27
4.3	Amostras.....	27
4.4	Análise microbiológicas.....	29
5	RESULTADOS	30

6	DISCUSSÃO.....	32
7	CONCLUSÃO	34
	REFERÊNCIA	35

1 INTRODUÇÃO

A produção de queijo minas frescal (artesanal) é simples e de baixo custo, produção que gera renda para os pequenos agricultores, pois, não geram custos tributários. (HOFFMAN; CRUZ; VINTURIM,1995).

O queijo Minas Frescal tem alto teor de umidade, massa branca, consistência mole, textura fechada com algumas olhaduras irregulares, sabor suave a levemente ácido. É adquirido da simples coagulação do leite com ácido láctico ou fermento. Sua fabricação é disseminada e por isso tem considerável variação no padrão. Tradicionalmente é comercializado em formas de meio quilo ou em formas de 3 quilos, que são vendidas fracionadas. É um queijo fresco, sem nenhuma maturação e apresenta uma validade curta (até 09 dias). É também conhecido como queijo branco, queijo Minas ou frescal (ABIQ, 2019).

Queijos artesanais cuja produção mantém os métodos ou processos tradicionais, seguindo legislação vigente e possui os queijos de produção tradicional, porém de uma forma rudimentar, as margens da legislação vigente, sem controle de qualidade, sendo comercializados, de uma forma informal, ou seja, vendido para o consumidor final, correndo o risco de microrganismos patogênicos (SEBRAE, 2008).

A presença de coliformes totais em queijos está diretamente relacionada à qualidade do leite e boas práticas de fabricação, podendo ser contaminada em todas as partes do processo da produção do queijo, tornando um veículo de doenças microbianas, ocasionando problemas na saúde pública do município (FREITAS, 2015).

A elaboração de queijos é uma das mais importantes atividades das indústrias de laticínio, sobretudo no Brasil. O queijo minas frescal é atraído pelo seu alto rendimento tecnológico e giro rápido no mercado consumidor, propiciando assim um retorno mais imediato do capital investido (GOMES; PRUDÊNCIO; SILVA 2010).

Os produtores vendem de forma informal no município, essas vendas de produtores ambulantes correspondem do pequeno produtor a venda direta, ou seja, não passando por nenhuma fiscalização do alimento até o consumidor final.

2 OBJETIVO

2.1 Objetivo Geral

Avaliar a qualidade microbiológica de queijo minas frescal de produção informal (produção caseira) dos agricultores familiares do município de Grandes Rios – PR.

2.2 Objetivos Específicos

- Analisar a presença ou ausência de *Escherichia coli* nas amostras;
- Realizar a contagem de coliformes totais e termotolerantes nas amostras;
- Verificar os resultados obtidos relacionando-os com os padrões microbiológicos definidos pela RDC nº 331 de 2019 e Instrução Normativa nº 60 de, 23 de dezembro 2019.

3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 História do leite e queijo artesanal no Brasil

O leite é um alimento essencial para a alimentação humana, sendo produzido em quase todos os países. A sua importância pode ser observada pela sua atividade econômica, gerando economia para países considerados desenvolvidos e complementando renda da agricultura familiar. Nos últimos anos o leite aumentou mais de 50% da sua produção, gerando cerca de 769 milhões de toneladas de leite até 2018 (FAO, 2019).

Convém ressaltar que o leite fornece nutrientes essenciais para uma dieta, pela sua composição, podendo contribuir significativamente para a ingestão de nutrientes necessários e é uma importante fonte de energia para a dieta, contendo proteínas e gorduras de alta qualidade. Leite e produtos lácteos são ricos em nutrientes como cálcio, magnésio, selênio, riboflavina, vitamina B12 e ácido pantotênico (FAO, 2019).

A princípio que a pecuária do leite surgiu no Brasil no século XVII com a chegada de Martim Afonso de Souza desembarcando em São Vicente com mais de 30 bovinos europeus. O primeiro registro de ordenha de uma vaca foi em 1641 em uma fazenda situada próximo a Recife (DIAS, 2012).

Por outro enfoque somente em 1950 a pecuária deu os primeiros sinais de modernização, na época do então presidente Getúlio Vargas se deu o primeiro marco de organização da produção leiteira, no qual se tornava obrigatório a pasteurização do leite, regulamentado no Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA) e a inspeção e o carimbo do Serviço de Inspeção Federal (SIF), neste mesmo decreto de 1952 foi introduzido as classificações dos leites em tipos A, B e C, conforme as condições sanitárias de ordenha, processamento, comercialização e contagem microbiana (VILELA; LEITE; RESENDE, 2017).

Nessa linha de análise o sistema agroindustrial da produção de leite no Brasil é uma das mais importantes atividades econômicas e sociais do país. Esta atividade é praticamente realizada em todo o território brasileiro, abrangendo mais de um milhão

de propriedades rurais, gerando mais de três milhões de empregos, diretos e indiretos e agregando mais de seis bilhões a agroindústria brasileira (VILELA *et al.*, 2002).

O Brasil no ano de 2018 produziu 33.839.864 litros de leite, e no 2º trimestre de 2019 já produziu 5.854.269 litros de leite cru, comparando com o mesmo trimestre do ano anterior (5.467.170 litros) ouve um aumento de 10% na produção. A região sul é a maior produtora de leite do país, são responsáveis por 40% da produção leiteira (IBGE, 2018).

A produção de queijo artesanal iniciou-se no Brasil no século XVIII com a chegada dos portugueses, na região de Minas Gerais, arte de fazer queijo de maneira artesanal, foi introduzindo as técnicas de fabricação originárias da Serra da Estrela em Portugal, com o método de conservação do leite, e passando por modificações conforme a região produtora do queijo artesanal (CAMPOS, 2019).

Entretanto o queijo artesanal produzido no Brasil, mesmo que tenha sido introduzido pelo os portugueses, em nada se parece com o queijo tradicional Serra da Estrela produzido em Portugal, que sua produção é com leite proveniente de ovelha e uso de coalho vegetal da flor do cardo (*Cynara cardunculus*, L.) (DRPAC, 2008).

Contudo o queijo produzido no Brasil identifica-se melhor como o queijo de São Jorge, a produção é restrita à ilha de São Jorge, no arquipélago dos Açores, queijo São Jorge é obtido a partir de leite cru de vaca. Trata-se de um queijo curado, de pasta dura ou semidura e cor amarelada (DGADR, 1994).

O processo de queijos no Brasil é um método bastante diversificado, esses produtos podem ser produzidos tanto de modo industrial, quanto artesanal, basicamente a diferença principal é que na elaboração do queijo artesanal o leite não sofre tratamento térmico (pasteurização) sendo aproveitado cru (FEITOSA, *et al.*, 2003).

A produção de queijos artesanais está fortemente relacionada com a preservação da identidade e a subsídios na representação social do agricultor familiar, contudo, há discussões a respeito da informalidade e sua legalização (CORREIA; ASSIS, 2017).

Em 2006 o Instituto do Patrimônio Histórico e Artístico Nacional (IPHAN) reconheceu o queijo minas artesanal como um patrimônio cultural, devido ao seu histórico cultural na forma de produção artesanal e a sua importância econômica para a região (IPHAN, 2006).

No Brasil o Estado de Minas Gerais é destaque na produção de queijo artesanal, ou seja, a produção é realizada a partir de leite cru por agricultores de pequenas propriedades rurais, tendo em vista que a produção de queijo de forma artesanal embasa a renda de milhares de famílias com a produção deste produto (RESENDE, 2014).

O queijo minas frescal é tradicionalmente produzido no Brasil desde o período colonial, com sua origem de fabricação no Estado de Minas Gerais, por um procedimento caseiro, desenvolvidos na cidade do Serro (ROSA, 2004).

3.2 História do leite e queijo artesanal no Paraná

O estado do Paraná é o segundo maior produtor de leite do país com 758 mil litros de leite (Quantidade de leite cru, resfriado ou não, adquirido) só no 2º trimestre de 2019, ficando atrás apenas de Minas Gerais que produziu 1.451.168 litros, o Paraná corresponde cerca de 13% da produção nacional (IBGE, 2019).

As principais bacias leiteiras do Paraná estão no Sudoeste do Estado, sendo a região maior produtora em volume de leite, em 2017 produziu 1,0 bilhões de litros leite. As regiões Sudoeste, Centro-Sul e Sudeste são as bacias leiteiras que mais cresceram nos últimos anos, aumentando a produtividade de leite no Estado e contribuindo para o sucesso do Paraná no cenário leiteiro nacional (EMBRAPA, 2019).

A atividade de produção de leiteira no Paraná é uma ótima opção para o complemento de renda da agricultura familiar, representa a cadeia produtiva mais importante para os agricultores familiares do Estado (EMATER, 2019).

Além da produção leiteira os pequenos agricultores produzem derivados do leite como o queijo mussarela, queijo tipo minas frescal, queijo coalho, requeijão cremoso, iogurte, “petitsuisse”, quark, doce de leite, leite condensado, doce de leite de corte, doce de leite pastoso, doce de leite pastoso com uva, maionese, manteiga, soro com sabor de chocolate, bebida láctea fermentada, ricota, patê de ricota e creme de morango gelado (CRPA, 2019).

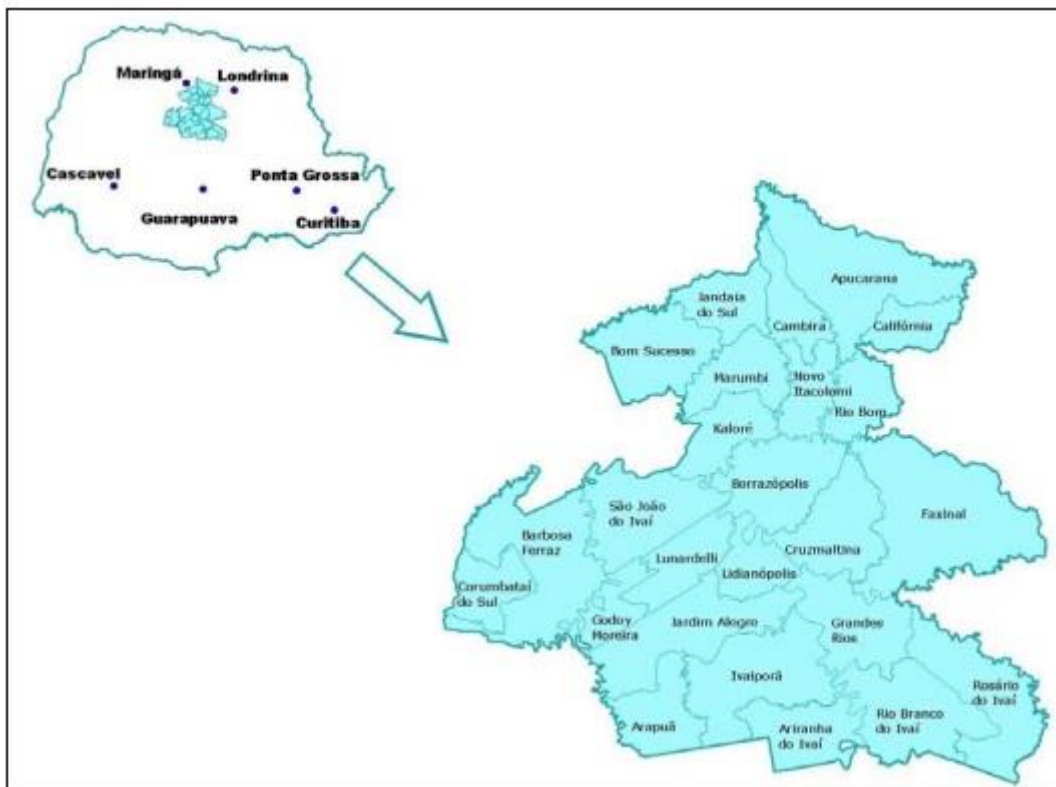
A produção de derivado de leite que se destaca no Estado é a de queijos artesanais, diante dessa produção foi criada a Lei 19.599 de 17 de julho de 2018 – Dispõe sobre a produção e a comercialização dos queijos artesanais no Estado do

Paraná, possibilitando a produção e a venda em todo território paranaense, contribuindo para a culinária local e o turismo (PARANÁ, 2018).

3.3 Microrregião do Vale do Ivaí

Região Vale do Ivaí é constituída por 25 municípios, onde há uma predominância de pequenos agricultores, que congrega exclusivamente da mão-de-obra doméstica, conhecidos como agricultores familiares, atividade econômica que se predomina é o cultivo de cereais para grãos, em seguida como atividade secundária é a criação de bovinos (IPARDES, 2007).

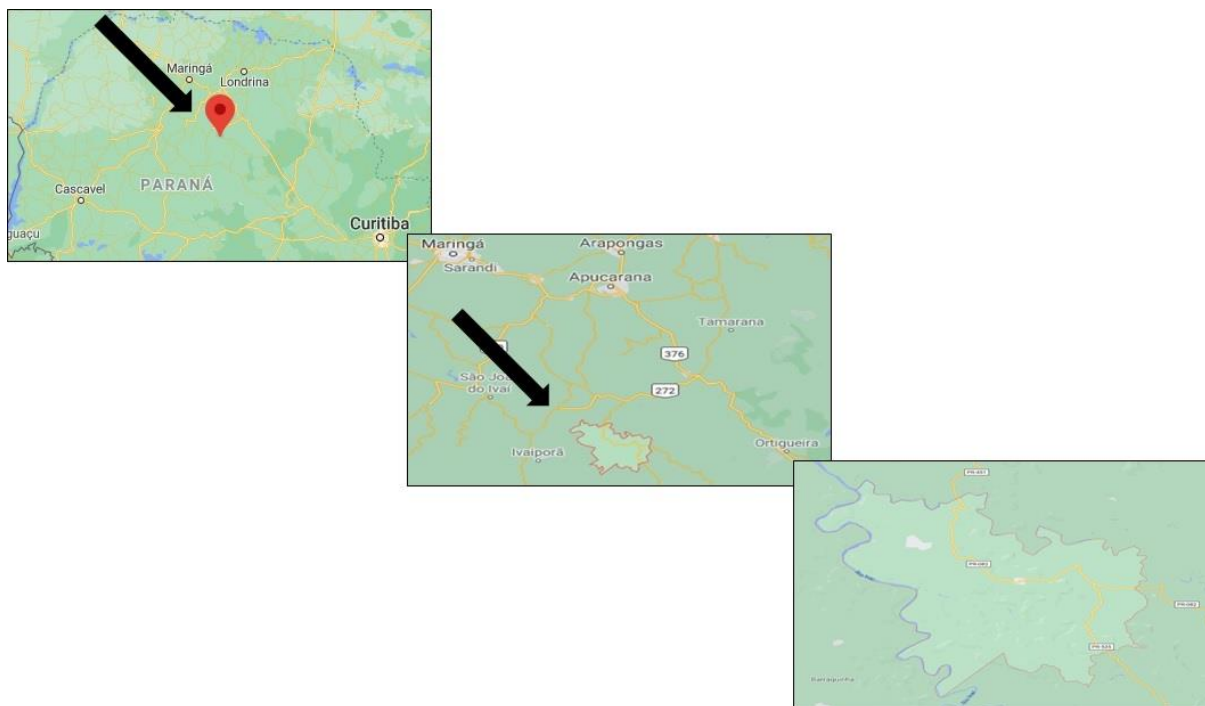
Figura 1 – Mapa de localização do Território Vale do Ivaí – Paraná



Fonte: IPARDES.

3.4 Município de Grandes Rios – PR

O município de Grandes Rios, fica a 400 km da capital Curitiba e 130 km de Londrina, o número de habitantes segundo o IBGE (2018) é de 5. 618, a área total é de 314,2 Km², situada a 584 metros de altitude, Grandes Rios tem as seguintes coordenadas geográficas: Latitude: 24° 7' 44" Sul, Longitude: 51° 28' 47" Oeste.

Figura 2 – Localização de Grandes Rios

Fonte: SOUZA, 2020.

Em Grandes Rios, segundo o último censo do IBGE de 2018 há um efetivo de rebanho de 37.918 de vacas leiteiras, sendo, 1.750 vacas ordenhadas, chegando a produzir 300 mil litros de leite/ano, correspondendo a um valor de produção de 3 milhões de reais. É uma atividade econômica importante para o município gerando mais de 300 empregos diretos e indiretos nesta produção. Os leites produzidos são entregues para dois laticínios que estão inseridos no município, para a produção de queijo mussarela e provolone (IBGE, 2018).

Em 2016 a EMATER fez um levantamento no município de Grandes Rios, para identificar unidades artesanais (comercial), sendo produtos panificados, queijo e vassouras, no município segundo o CAF (Cadastro de Agricultores Familiares) possui 525 agricultores familiares, dentre eles apenas 0,76% produzem queijo artesanais do tipo minas frescal. A agroindústria (laticínios) na produção de queijo mussarela e provolone têm uma produção de 1.300 kg/dia, gerando 500 t/ano, já as unidades artesanais (pequenos agricultores) têm uma produção de 22 kg/dia e gerando 5.100 kg/ano (EMATER, 2016).

A produção de queijo minas frescal artesanal pode estar subestimada, uma vez que a comercialização informal é elevada e não existem registros oficiais que o contabilizam (AMANCIO, 2019).

3.5 Agricultura Familiar

Agricultura Familiar no Brasil é responsável pela a produção de alimentos que são disponibilizados para a população do país, é constituída por pequenos produtos rurais, povos e comunidades tradicionais, assentamentos da reforma agrária, silvicultores, aquicultores, extrativistas e pescadores. No entanto as produções que mais se destaca são: milho, raiz de mandioca, pecuária leiteira, queijo, gado de corte, ovinos, caprinos, olerícolas, feijão, cana, arroz, suínos, aves, café, trigo, mamona, fruticulturas e hortaliças, a diversidade produtiva é uma característica marcante do setor (BRASIL, 2019).

A definição formal da agricultura familiar brasileira está prevista na Lei nº 11.326, de 24 de julho de 2006, que estabelece as diretrizes para a formulação da Política Nacional da Agricultura Familiar e Empreendimentos Familiares Rurais (BRASIL, 2006).

3.6 Boas Práticas de Fabricação

As Boas Práticas de Fabricação ou BPF, são etapas definidas para a segurança e qualidade do produto, é um conjunto de princípios e regras para o correto manuseio de alimentos, abrangendo desde as matérias-primas até o consumo final, de forma garantir a saúde e integridade do consumidor. O principal objetivo das normas de Boas Práticas de Fabricação é combater e evitar contaminações microbiológicas, físicas, químicas, na fabricação dos alimentos (BRASIL, 1997).

Durante o processo das boas práticas a três mandamentos da higienização que são: limpeza (com desinfecção), organização e disciplina, portanto, o processo de trabalho necessita de higienização pessoal, ambiental e operacional, afim de, diminuir contaminações cruzadas, eliminar microrganismos patogênicos e reduzir a níveis aceitáveis microrganismos deteriorantes (BRASIL, 2004).

Sendo assim, toda a empresa deve ter e de fácil acesso a todos os funcionários, os Procedimentos Operacionais Padronizados (POP) e que estejam escritos de forma objetiva que estabelece instruções sequenciais para a realização de operações rotineiras e específicas na produção, armazenamento e transporte de alimentos (BRASIL, 2002).

3.7 Boas Práticas Agropecuárias

A adoção de procedimentos adequados em todas as etapas da produção de leite nas propriedades rurais é conhecida como Boas Práticas na Pecuária de Leite. A ferramenta consiste em um roteiro de situações agrupadas segundo as seis áreas-chave de boas práticas (BP) relacionadas no guia FAO/ IDF: sanidade animal, higiene na ordenha, nutrição (alimentos e água), bem-estar animal, meio ambiente e gestão socioeconômica. (EMBRAPA, 2017).

Para Scalco e Souza (2006), a adoção de boas práticas agropecuárias esbarra, com frequência, na percepção, por parte dos produtores, de que elas não são importantes, ou de que exercem baixo impacto no resultado final do sistema de produção.

Já para Brito e Brito (1998), a qualidade higiênica do leite é influenciada, principalmente, pelo estado sanitário do rebanho, manejo dos animais e dos equipamentos durante a ordenha e a presença de microrganismos, resíduos de drogas e odores estranhos.

3.8 Aspectos legais da produção de Queijo Minas Frescal

O processo legal de produção de queijo minas frescal no Brasil é determinado pelo Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA) sob o Decreto nº 9013 de 29 de março de 2017, que regulamenta a Lei nº 1.283, de 18 de dezembro de 1950 e a Lei nº 7.889, de 23 de novembro de 1989, que dispõe sobre a inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal (BRASIL, 2017).

Art 373. Para fins deste Decreto queijo é o produto lácteo fresco ou maturado que se obtém por meio da separação parcial do soro em relação ao leite ou ao leite reconstituído integral, parcial ou totalmente desnatado – ou de soros lácteos, coagulados pela ação do coalho de enzimas específicas, produzidas por microrganismos específicos, de ácidos orgânicos, isolados ou combinados, todos de qualidade apta para uso alimentar, com ou sem adição de substâncias alimentícias, de especiarias, de condimentos ou de aditivos.

Considerando a necessidade de constante aperfeiçoamento das ações de controle sanitário na área de alimentos, visando a proteção à saúde da população e a regulamentação dos padrões microbiológicos para alimentos, a RDC nº 12 de janeiro de 2001, que dispõe de Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para

alimentos, estabelecendo então, a tolerância máxima e os padrões mínimos para os diferentes grupos de produtos alimentícios sobre microrganismos patogênicos, esta resolução, a ANVISA revogou esta resolução, a legislação que revogou é a RDC nº 331 de, 23 dezembro de 2019 e Instrução Normativa nº 60 de 23 de dezembro de 2019, estabelece as listas de padrões microbiológicos para alimentos. (BRASIL, 2019).

De acordo com a Lei nº 19.599 de 17 de julho de 2018, dispõe sobre a produção e comercialização dos queijos artesanais no Estado do Paraná, considera-se queijo artesanal aquele produzido com leite fresco e cru, em pequena escala de produção, oriundo da própria propriedade leiteira, que se utiliza de micro ou pequena estrutura física, elaborado por métodos tradicionais, com vinculação e valorização territorial, regional ou cultural que lhe conferem identidade (PARANÁ, 2018).

Por meio da Lei 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, ou seja, foi permitido a “comercialização interestadual dos produtos artesanais de origem animal, desde que possuíssem o selo ARTE e que fossem submetidos a inspeção e fiscalização de órgãos de saúde pública dos Estados e do Distrito Federal” (CAMPOS, 2019).

3.9 Caracterização do Queijo Minas Frescal

O queijo minas frescal é um queijo semi-gordo, de muito alta umidade, a ser consumido fresco, de acordo com a classificação estabelecida no Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Queijos está prevista em Instrução Normativa nº 04 de março de 2004 (BRASIL, 2004).

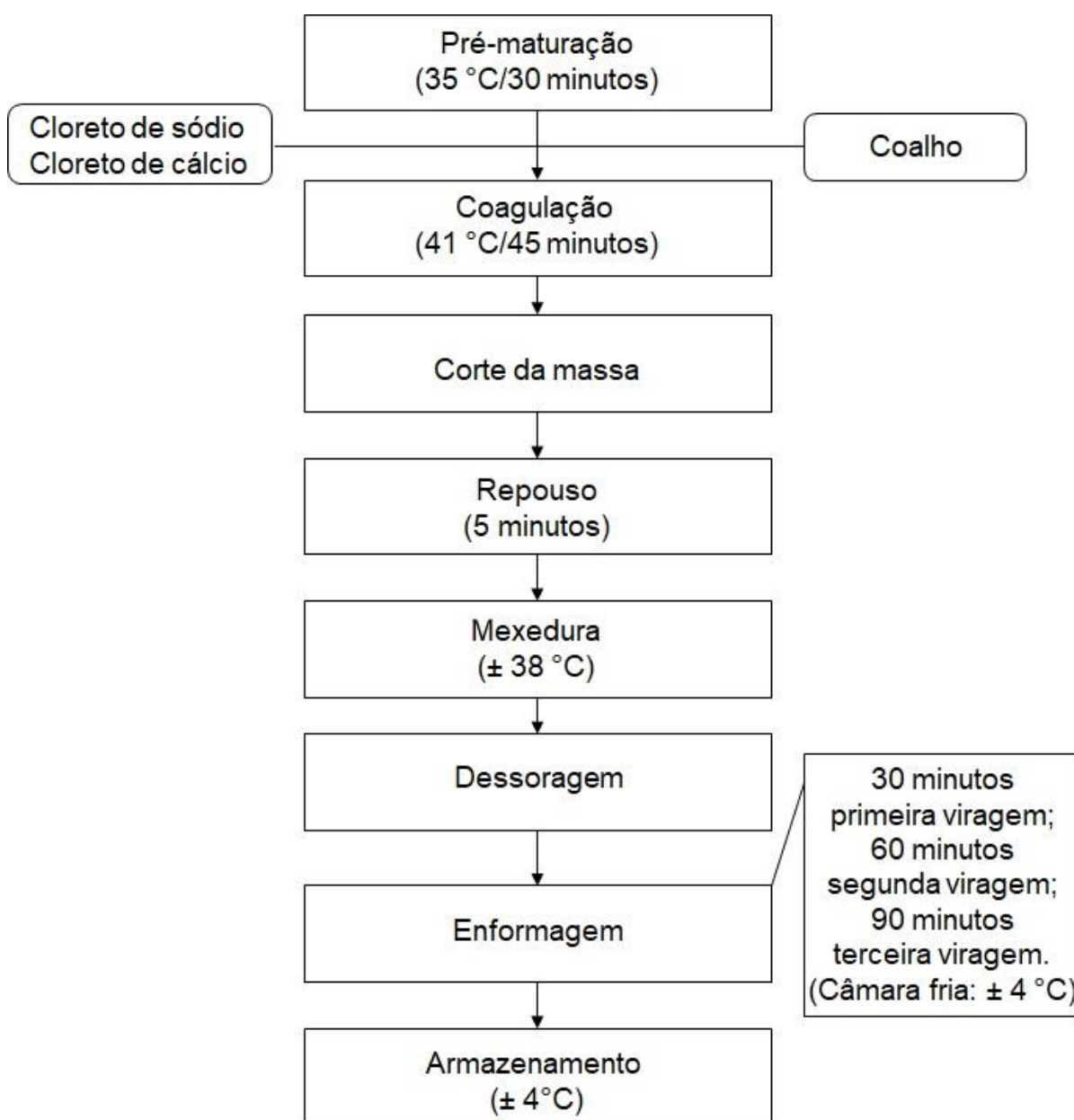
O procedimento de fabricação envolve as seguintes etapas básicas: 1. Coagulação do leite: pode ser feita diretamente pela microbiota do leite, ou pela adição de cultivo bacteriano apropriado (coalho ou fermento). Após um período de tempo, o leite fermentado transforma-se na coalhada; 2. Corte da coalhada, para liberação do lactosoro; 3. A massa obtida é colocada em formas e prensada, ou não, dependendo do queijo; 4. O queijo é salgado e, em seguida, embalado (PERRY, 2004).

O queijo é tipicamente mineiro, é um dos mais consumidos no país. É produzido com leite de vaca pasteurizado ou não; tem pouca acidez e sua durabilidade é pequena - em torno de 9 dias, sob refrigeração. É classificado como um queijo

macio, semi-gordo, de alta umidade. Tem cor esbranquiçada e odor suave, característico. Deve ter formato cilíndrico e pesar entre 0,3 e 5 kg (FURTADO, 1991).

O escurecimento da casca do queijo mediante aquecimento se dá devido à reação de escurecimento não enzimático, ocorrendo o processo de proteólise promovida pelas enzimas do coalho e culturas lácticas, e havendo acúmulo de açúcares, como a lactose e a galactose conhecida como reação de Maillard (MACHADO, 2010).

Figura 3 – Fluxograma do processo do queijo minas frescal tradicional.



Fonte: GOMES; PRUDÊNCIO; SILVA (2010).

Na Figura 3 é apresentado o fluxograma do processamento do queijo minas frescal tradicional processado com coagulante microbiano.

3.10 Microbiologia do Queijo Minas Frescal

Alimento seguro é aquele que não causa danos à saúde quando consumido de acordo com o uso intencional. Só é garantido a partir das boas práticas que permitem o controle de qualquer agente biológico, físico e químico, que em contato com o alimento, promova risco de contaminação (LOPES, *et al.*, 2020).

A característica de um produto consiste na qualidade em atender as necessidades dos consumidores e assim fornecerem uma relação de satisfação (RESENDE, 2014).

Para Chaves (1993), a qualidade vai muito além do que é possível verificar a olho nu a um produto, a qualidade parte do princípio de que é necessário se ter um alimento seguro para seu consumo.

O leite utilizado na fabricação de queijos frescos tem que ser pasteurizado. Já para os queijos maturados, pode-se utilizar o leite cru desde que sejam respeitados os prazos de maturação e utilizadas as boas práticas de fabricação, que incluem desde a exigência de só utilizar leite de alta qualidade até rigorosa higiene no local de produção (PERRY, 2004).

Provavelmente o leite é o mais completo alimento encontrado pronto para consumo. Em sua composição, encontram-se, biologicamente equilibrados, todos os elementos e nutrientes necessários para suprir as necessidades do organismo humano, pois contém uma série de componentes essenciais: sais minerais, nutrientes, açúcares e gorduras, além de prover boa parte do cálcio necessário à estrutura óssea (NETTO, 2011).

O leite é a matéria prima fundamental para a produção do queijo, portando esse leite deve ser de excelente qualidade, livre de quaisquer perigos, seja ele, físico, químico ou biológico, visto que ele é utilizado “in natura” (RESENDE, 2014).

A produção do queijo minas frescal na maior parte é produzida por leite cru, a sua inocuidade não pode ser totalmente assegurada. Portanto, quando há procedimentos que apresenta ausência das boas práticas, as etapas do processamento estão sujeitas a muitas fontes de contaminações, comprometendo diretamente a sua qualidade e afetando a saúde do consumidor. Desta forma focando principalmente nos perigos biológicos, os produtos que não são produzidos com os cuidados higiênico-sanitários necessariamente podem apresentar risco à saúde do consumidor (PINTO *et al.*, 2009).

Os microrganismos relacionados com contaminação do leite e dos produtos lácteos são vários, entre eles estão a *Salmonella spp.*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* e *Escherichia coli* (AMANCIO, 2019).

3.11 Coliformes totais (30 °C)

Coliformes totais são bastonetes gram-negativos, não esporulados, diferenciados como aeróbios ou anaeróbios facultativos, capazes de fermentar lactose gerando como produto ácido e gás a temperaturas mesófilas de 32 °C sendo encontrados em fezes, solos e vegetais (FRANCO; LANDGRAF, 2007).

O índice de coliformes totais é excelente marcador de verificação da condição higiênico-sanitários empregada durante o processo de produção ou se a contaminação da matéria-prima. As espécies entéricas pertencentes a o gênero estão *Escherichia*, *Enterobacter*, *Citrobacter* e *Klebsiella* (SILVA *et al.*, 2007).

3.12 Coliformes termotolerantes (45 °C)

O grupo dos coliformes termotolerantes é restrito a aqueles microrganismos que são capazes de fermentar a lactose produzindo gás em 24 horas a 45 °C e dentro deste microrganismo está a bactéria *Escherichia coli* (SILVA *et al.*, 2007).

3.13 *Escherichia coli*

Esse microrganismo é um indicador de contaminação fecal na água e em alimentos relacionados exclusivamente com vestígios de fezes. Diante disso, a *E. coli* tem uma importância para a saúde pública e à sua recorrência em doenças entéricas que afetam estômago e intestino (DRUMOND, *et al.*, 2017).

A *E. coli* que é uma bactéria patogênica e causa gastroenterites agudas, existem cinco classificação de cepas da *E. coli*, que são elas: EPEC (*E. coli* enteropatogênica clássica) é responsável por diarreia infantil aguda; EIEC (*E. coli* enteroinvasiva) essa invade as mucosas, causando ulceração e inflamação do intestino grosso; ETEC (*E. coli* enteroxigênica) é agente de diarreias infantis, doenças severas como a cólera e a diarreia dos viajantes; EHEC (*E. coli* entero-hemorrágica) responsável por diarreia sanguinolentas e colites e por último a EAaggEC (*E. coli* enterogregativa) conforme o padrão de aderência das células (SILVA *et al.*, 2007).

4 METODOLOGIA

4.1 Tipo de Estudo

O estudo é transversal e experimental de caráter quantitativo por investigar resultados numéricos.

4.2 Local de Estudo

A produção de queijo minas frescal dos agricultores familiares do município de Grandes Rios – PR, nesta localidade apresenta quatro pequenos produtores de queijo minas frescal, sem pasteurização do leite, sendo realizado o estudo com 50% dos produtores de queijos.

4.3 Amostras

As amostras de leites sem pasteurização e queijos minas frescal foram adquiridos de dois produtores e acondicionadas em sacos plásticos estéril e frascos plásticos estéreis de 200 ml e identificadas corretamente e armazenada em caixa térmica com placas gelo artificial na temperatura entre – 2 °C à 9 °C e encaminhadas para o laboratório de microbiologia da Faculdade de Apucarana (FAP), utilizando apenas 25 g de cada queijo e 25 ml de cada leite.

Foram coletadas as duas amostras no dia 12 de agosto de 2020 e identificadas por QP1 – Queijo do Produtor 1, QP2 – Queijo do Produtor 2 e LP1 – Leite do Produtor 1, LP2 – Leite do Produtor 2.

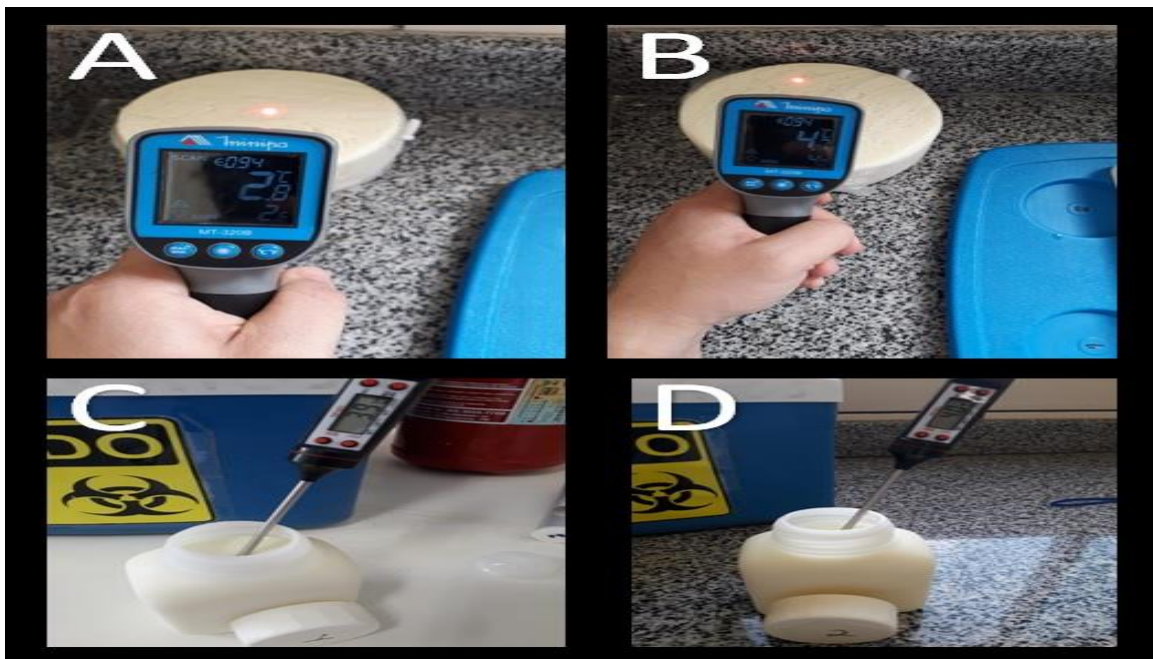
Figura 4 – Amostras sendo acondicionadas em caixa térmica no município de Grandes Rios - PR.



Fonte: SOUZA, 2020.

A cidade de Grandes Rios está aproximadamente 100 quilômetros de distância do Faculdade de Apucarana, a viagem com as amostras foi de uma hora e vinte minutos.

Figura 5 – Amostras no Laboratório da Faculdade de Apucarana – FAP.



Legenda: Figura A, queijo produtor 1; Figura B, queijo produtor 2; Figura C leite produtor 1; Figura D, leite produtor 2.

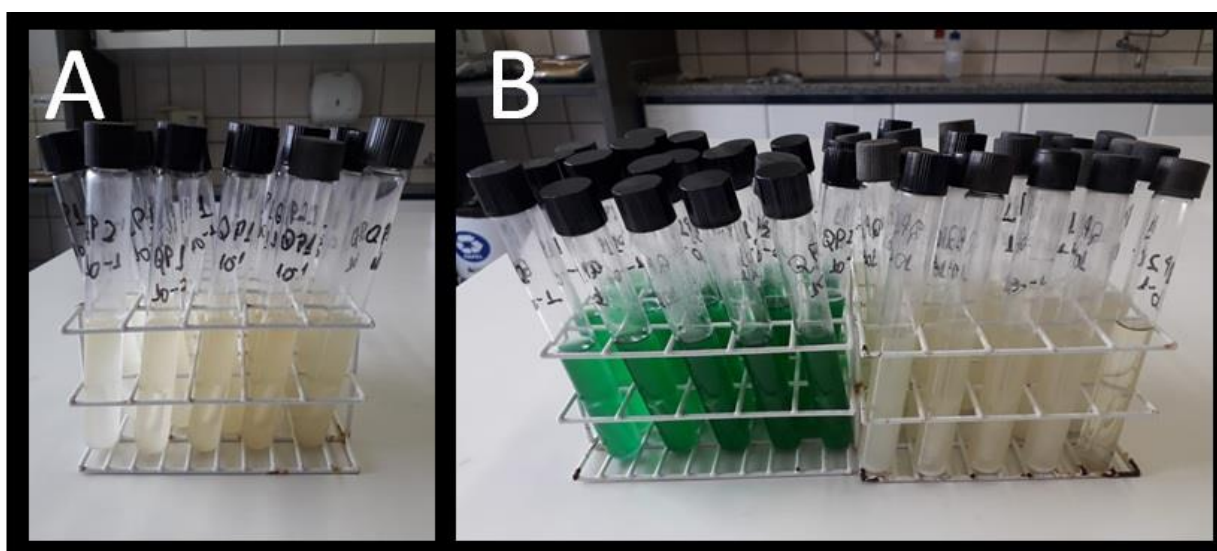
Fonte: SOUZA, 2020.

Foram utilizados dois aparelhos para aferição da temperatura dos produtos, para leite foi utilizado um termômetro digital culinário espeto plástico inox da marca Clink Comércio de Importação e Exportação LTDA e para aferição do queijo utilizou um termômetro digital infravermelho modelo MT-320B da marca Minipa.

4.4 Análise microbiológicas

As análises microbiológicas foram determinadas pela a técnica de tubos múltiplos, realizando diluição seriada de 10^{-1} até 10^{-3} , todas com três repetições. Após as diluições, foram inoculados em caldo Lauril Sulfato Triptose (LST) em concentração simples contendo tubos de Duran (Figura 6 A), em seguida incubadas em estufa a 36 ± 1 °C por $24-48 \pm 2$ h.

Figura 6 – Meios de Cultura



Legenda: Figura A, meios Lauril Sulfato Triptose (LST); figura B, da esquerda para direita, meios verdes brilhantes e meios EC.

Fonte: SOUZA, 2020.

Os tubos que apresentarem resultados positivos para LST, foram transferidas uma alçada para os caldos, Verde Brillante Bile 2% (VB) para contagem de coliformes totais, estes incubados em estufa a 35 ± 1 °C por $24-48 \pm 2$ h, outra alçada para o caldo E. coli (EC) para contagem de coliformes termotolerantes (Figura 6 B), estes incubados a 42 ± 1 °C por $24-48 \pm 2$ h. Após período, realizado a contagem de NMP/ml e NMP/g para os tubos positivos (crescimento e formação de gás).

De cada tubo de EC com produção de gás em 48 ± 2 h, foram estriadas (esgotamento) uma alçada em placa de Ágar Levine Eosina Azul de Metileno (L-EMB)

e incubadas as placas a 35 ± 1 °C por $24-48\pm 2$ h, observado o desenvolvimento de colônias típicas de *E. coli* (nucleadas com centro preto, com ou sem brilho metálico).

5 RESULTADOS

Ao final foram obtidos os seguintes resultados para Coliformes totais, Coliformes termotolerantes e *E.coli*, consideradas como inadequadas.

Tabela 1 – Contagem de coliformes totais

Amostra dos produtores	NMP/ml ou g
Queijo produtor 1	43
Leite produtor 1	240
Queijo produtor 2	23
Leite produtor 2	240

Fonte: SOUZA, 2020.

Todas amostras analisadas apresentaram coliformes totais (tabela 1). As amostras dos queijos do produtor 1 e 2 apresentaram menor NPM/g, devido que, o queijo passa por um tratamento térmico antes de ser produzido, porém, esses aquecimentos não foram o suficiente para eliminar totalmente os microrganismos. As amostras de leites apresentam a mesma quantidade de NMP/ml, visto que, os leites não passaram por nenhum tratamento térmico e foram obtidos da forma cru, sem pasteurização.

Todas amostras apresentam contaminação microbiológica acima dos padrões estabelecidos na Instrução Normativa nº 60 de, 23 de dezembro de 2019, essa resolução não estabelece critérios para enumeração de coliformes totais nesse tipo de queijo, entretanto esses micro-organismos quando presentes em altas contagens indicam condições de higiene insatisfatórias.

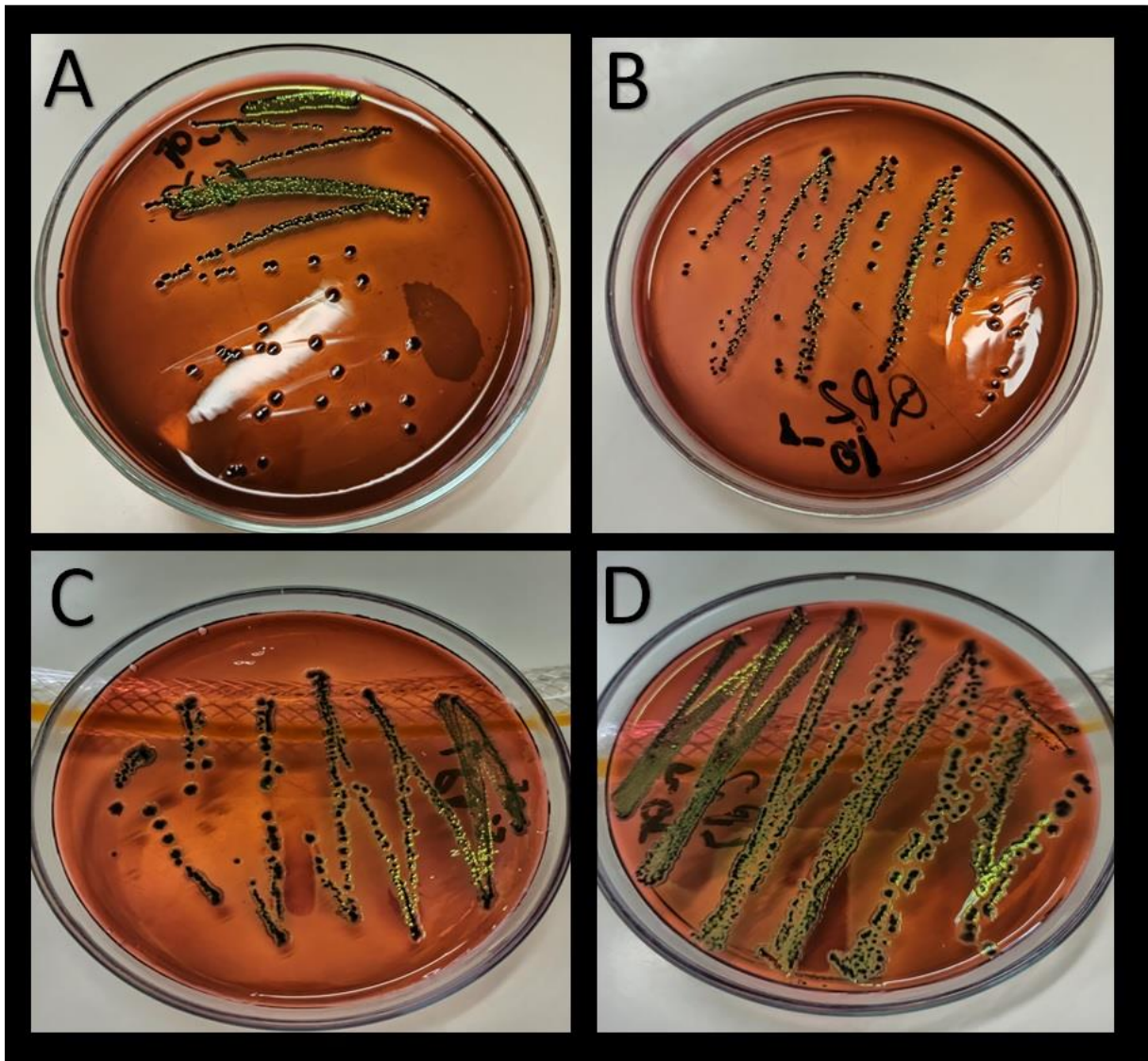
Tabela 2 – Contagem de coliformes termotolerantes

Amostra dos produtores	NMP/ ml ou g
Queijo produtor 1	15
Leite produtor 1	240
Queijo produtor 2	23
Leite produtor 2	460

Fonte: SOUZA, 2020.

Nas amostras analisadas para coliformes termotolerantes, todas apresentaram contaminação de microrganismos patogênicos, amostra do Leite produtor 2 obteve a maior quantidade de NMP/ml, portanto, todas amostras apresentam NMP/ml ou g acima dos padrões estabelecidos por legislação vigente.

Figura 7 – Crescimento bacteriano no Petrifilm-EC Escherichia coli.



Legenda: Figura A, queijo produtor 1; Figura B, queijo produtor 2; Figura C, leite produtor 1; Figura D, leite produtor 2.

Fonte: SOUZA, 2020.

Os resultados para placa de Ágar Levine Eosina Azul de Metileno das 4 amostras, todas apresentaram resultados positivos para *E. coli* como podemos ver na Figura 7, as placas apresentam desenvolvimento de colônias típicas de *E. coli*, nucleadas com centro preto, com brilho metálico.

6 DISCUSSÃO

O queijo tipo Minas padrão artesanal é produzido a partir de leite cru, ou seja, sem passar por tratamento térmico, sendo que sua produção consiste em uma atividade tradicional em várias regiões do Brasil, além de ser uma importante atividade geradora de renda para os pequenos produtores rurais (AMORIM, *et al.*, 2014)

Dessa forma a produção de queijos requer muito cuidado, desde a, saúde animal, ordenha, transporte, manipulação, saúde dos manipuladores, utensílios e armazenamentos, em alguns desses processos pode ocorrer uma contaminação por microrganismo. Na tabela 1, pode se observar que, os queijos do produtor 1, apresenta 15 NMP/g e o produtor 2, apresenta 23 NMP/g, contagem superiores a legislação vigente, apresentando uma contaminação microbiológica por coliformes totais. O leite que é a matéria prima principal para a produção do queijo, na tabela 1, também apresenta contagens bacterianas maiores que a quantidades toleradas por legislação, os leites dos produtores 1 e 2 com 240 NMP/ml.

Para Resende (2014), a presença de coliformes pode estar relacionada à contaminação do produto por material fecal proveniente da má higienização dos animais, instalações ou manipuladores demonstrando a necessidade de adequação e aplicação de boas práticas na fabricação dos queijos bem como na obtenção da matéria-prima, transporte e comercialização dos produtos. Ao desenvolver o trabalho na região de Grandes Rios, observou que 100% (2/2) das amostras de leite apresentaram coliformes totais.

Alguns autores verificaram que a contaminação do leite, do queijo podem estar relacionados com as águas das propriedades, sendo que, as propriedades são abastecidas por nascentes naturais como poços e minas d' água e muitas vezes sendo a água responsável pelo carreamento dos micro-organismos (ARAÚJO, 2004; PINTO *et al.*, 2009).

De acordo Sobral, *et al.* (2017), a contaminação do leite e do queijo por estes microrganismos pode ter procedência na falta de higiene do ordenhador ou do manipulador na fabricação do queijo, nas más condições de limpeza e sanitização das instalações e equipamentos, e na utilização de água contaminada, ou seja, condições precárias de higiene praticadas nas diferentes fases de obtenção do leite, fabricação e comercialização do queijo.

Segundo Sales (2015) o leite, apesar de ser veiculador de diversas bactérias potencialmente patogênicas, é responsável também em grande parte pela microbiota desejável que está presente no queijo artesanal.

Dessa forma, focando principalmente nos perigos biológicos, a produção que não são fabricados com cuidados higiênico-sanitários, podem apresentar risco a saúde dos consumidores dessa localidade.

De acordo com a Portaria n.º 146/1996 do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento, o limite máximo considerado aceitável de coliformes totais em queijo de muito alta umidade é de 10^{-3} NMP/g (BRASIL, 1996).

Um estudo realizado por Okura e Marin (2014) avaliou a presença de *E.coli* em queijos minas frescal, na região Sudoeste de Minas Gerais, onde se constatou que 30% das amostras credenciadas no SIF e 70% não credenciados estavam impróprias para o consumo humano, devido apresentar contaminação por *E.coli*.

Resende (2014) destaca-se que as doenças transmitidas por alimentos, é caracterizada por ingestão de células viáveis da bactéria patogênica que estão presentes nos alimentos, pode ocorrer uma aderência desde à mucosa intestinal e consequente colonização dessas bactérias invasivas como é o caso da *E. coli*.

Propõe-se aos produtores, para impedir a contaminação do queijo minas frescal, devem cumprir uma série de requisitos sanitários da legislação que incluem construção de uma estrutura física harmônico com a produção de alimentos, participar de cursos de boas práticas de fabricação, manter exames de saúde dos manipuladores atualizados, vacinar o rebanho e realizar exames de sanidade nos animais, tratar a água de abastecimento da queijaria e realizar análises laboratoriais dos queijos.

7 CONCLUSÃO

Na análise microbiológica dos queijos minas frescal dos agricultores do município de Grandes Rios – PR, apresentaram baixa qualidade microbiológica e não conformidade com a legislação brasileira, ou seja, os limites toleráveis pela a RDC 331/19 e IN 60/2019, encontra-se insatisfatório para o consumo humano, devido que, apresentam contaminação de *E.coli*.

Conclui-se que os produtores necessitam de políticas públicas relacionadas com a qualificação técnica em boas práticas de fabricação e boas práticas agropecuárias, fomentando uma educação sanitária.

REFERÊNCIA

- ABIQ. Associação Brasileira das Indústrias de Queijos. Minas Frescal. 2019. Disponível em https://www.abiq.com.br/queijos_ler.asp?codigo=1925&codigo_categoria=16&codigo_subcategoria=37> Acesso em 03 de set. de 2020.
- AMANCIO R. D. **Condições higiênico-sanitárias e percepção de risco dos agentes envolvidos no sistema produtivo, comercialização e consumo de Queijo Minas Frescal**. Tese (Doutorado Ciência e Tecnologia de Alimentos) Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba – SP, 2019.
- Amorim ALBC, Couto EP, Santana AP, Ribeiro JL, Ferreira MA. Avaliação da qualidade microbiológica de queijos do tipo Minas padrão de produção industrial, artesanal e informal. **Rev Inst Adolfo Lutz**. São Paulo, 2014.
- ARAÚJO, R.A.B.M. **Diagnóstico socioeconômico, cultural e avaliação dos parâmetros físico-químicos e microbiológicos do queijo Minas artesanal da região de Araxá**. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Viçosa, MG: UFV, 121p. 2004.
- BRASIL, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Portaria SVS/MS nº 326, de 30 de julho de 1997. Condições Higiênicas Sanitárias e de Boas Práticas de Fabricação para Estabelecimentos Produtores/Industrializadores de Alimentos. Disponível em < <http://portal.anvisa.gov.br/documents/33916/388704/Portaria%2BSVS-MS%2BN.%2B326%2Bde%2B30%2Bde%2BJulho%2Bde%2B1997.pdf/87a1ab03-0650-4e67-9f31-59d8be3de167>>. Acesso em 21 de mai. de 2020.
- BRASIL, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 12 de janeiro de 2001 - Regulamento Técnico Sobre Padrões Microbiológicos Para Alimentos. Disponível em http://portal.anvisa.gov.br/documents/33880/2568070/RDC_12_2001.pdf/15ffddf6-3767-4527-bfac-740a0400829b> Acesso em 21 de mai. de 2020.
- BRASIL, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC Nº 216, de 15 de setembro de 2004. Dispõe sobre Regulamento Técnico de Boas Práticas para Serviços de Alimentação. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/documents/33916/388704/RESOLU%25C3%2587%25C3%2583O-RDC%2BN%2B216%2BDE%2B15%2BDE%2BSETEMBRO%2BDE%2B2004.pdf/23701496-925d-4d4d-99aa-9d479b316c4b>>. Acesso em 21 de mai. de 2020.
- BRASIL, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 275, de 21 de outubro de 2002. Dispõe sobre o Regulamento Técnico de Procedimentos Operacionais Padronizados aplicados aos Estabelecimentos Produtores/Industrializadores de Alimentos e a Lista de Verificação das Boas Práticas de Fabricação em Estabelecimentos Produtores/Industrializadores de Alimentos. Disponível em http://portal.anvisa.gov.br/documents/10181/2718376/RDC_275_2002_COMP.pdf/ce9dac0-ae57-4de2-8cf9-e286a383f254>. Acesso em 21 de mai. de 2020.

BRASIL, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da Diretoria Colegiada - RDC nº 331, de 23 de dezembro de 2019. Dispõe sobre os padrões microbiológicos de alimentos e sua aplicação. Disponível em <http://portal.anvisa.gov.br/documents/10181/4660474/RDC_331_2019_COMP.pdf/c9282210-371f-4fb6-b343-7622ca9ec493> Acesso em 22 de ago. de 2020.

BRASIL. Instrução Normativa Nº 4 de 01 de março de 2004. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Queijos. Disponível em: <<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=5974>> Acesso em 22 de mai. de 2020.

BRASIL. Instrução Normativa Nº 60 de, 23 de dezembro de 2019. Estabelece as listas de padrões microbiológicos para alimentos. Disponível em <<https://www.in.gov.br/web/dou/-/instrucao-normativa-n-60-de-23-de-dezembro-de-2019-235332356>> Acesso em 22 de ago. de 2020.

BRASIL. Lei nº 11.326, de 24 de julho de 2006. Estabelece as diretrizes para a formulação da Política Nacional da Agricultura Familiar e Empreendimentos Familiares Rurais. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/ato2004-2006/2006/lei/l11326.htm>. Acesso em 22 de mai. de 2020.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Agricultura familiar. Disponível em: <<http://antigo.agricultura.gov.br/assuntos/agricultura-familiar/agricultura-familiar-1>> Acesso em 22 de mai. de 2020.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº 146 de 07 de março de 1996. Aprova o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Queijos. Disponível em: <http://www.dourados.ms.gov.br/wp-content/uploads/2016/05/RTIQ-Leite-Completo-PORTARIA-146_96-ok.pdf> Acesso em 04 de set. de 2020.

BRITO, J.R.F.; BRITO, M.A. VP. Conceitos básicos da qualidade. In: BRITO, J.R.F.; DIAS, J.c. Ed. A qualidade do leite. Juiz de Fora: Embrapa, São Paulo: Tortuga, 1998a. p.46-50, 59-66.

CAMPOS G. Z. **Avaliação Microbiológica de queijos minas artesanais provenientes da Serra da Canastra durante e após o período de maturação.** 2019. p90. Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-graduação em Ciências dos Alimentos. Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, SP, 2019.

CENTRO PARANAENSE DE REFERÊNCIA EM AGROECOLOGIA – CPRA. Produção artesanal de alimentos: derivados de Leite. Disponível em <<http://www.cpra.pr.gov.br/modules/conteudo/conteudo.php?conteudo=164>> Acesso em 08 de out. 2019.

CORREIA V. T. V; ASSIS I. C. L. Queijos Artesanais: Revisão de literatura. **Revista Eletrônica Nutri Time**, Sete Lagoas, 2017.

DIAS, J. C. As raízes leiteiras do Brasil. 11^a. ed. São Paulo: Barleus, 2012. EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA – EMBRAPA. BOVINOCULTURA DE LEITE Prognóstico Ano 2017/18 - Aspectos do Brasil e Paraná. Disponível em

<http://www.agricultura.pr.gov.br/sites/default/arquivos_restritos/files/documento/2019-09/leite_2019_v1.pdf> Acesso em 09 de out. 2019.

DIREÇÃO GERAL DE AGRICULTURA E DESENVOLVIMENTO RURAL – DGADR. Produtos Tradicionais Portugueses – Produtos agrícolas, gêneros alimentícios e pratos preparados, 1994. Disponível em:

<<https://tradicional.dgadr.gov.pt/pt/cat/queijos-e-produtos-lacteos/85-queijo-sao-jorge-dop>> Acesso em 21 de mai. de 2020.

DIREÇÃO REGIONAL DE AGRICULTURA E PESCAS DO CENTRO – DRAPC. Queijo Serra da Estrela e Serra da Estrela Velho – DOP, 2008. Disponível em:

<https://ptqc.drapc.gov.pt/documentos/queijo_serra_estrela.pdf> Acesso em 21 de mai. de 2020.

DRUMOUND, S. N; *et al.* **Identificação molecular de Escherichia coli diarreogênica na Bacia Hidrográfica do Rio Xopotó na região do Alto Rio Doce.** Sanitary Engineering Journal. 2017.

FAO/IDF. FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS/INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION. **Guia de Boas Práticas na Pecuária de Leite.** Produção e Saúde animal Diretrizes. Roma: FAO, 2013. v. 8, 40 p.

FEITOSA T; BORGES M. F; NASSU R. T; AZEVEDO E. H. F; MUNIZ C. R. Pesquisa de Samonella sp., Listeria sp. e microrganismos indicadores higiênicos-sanitários em queijos produzidos no Estado do Rio Grande no Norte. **Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos.** Campinas, 2003.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (FAO). Dairy Production and Products – Milk Production. Disponível em <<http://www.fao.org/dairy-production-products/en/#.V3AZwbgrLIV>> Acesso em 07 de out. 2019.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (FAO). Gateway to dairy production and products - Milk composition. Disponível em <<http://www.fao.org/dairy-production-products/products/milk-composition/en/>> Acesso em 07 de out. 2019.

FREITAS, M. P., **Avaliação microbiológica de queijos artesanais produzidos na cidade de Taió,** Santa Satarina. 2015.

FURTADO, M.M. **A Arte e a Ciência do Queijo.** (2a ed.). São Paulo: Editora Globo, 1991, 297p

FRANCO, B. D. G de M; LANDGRAF, M. **Microbiologia de alimentos**. São Paulo: Atheneu 2007.

GOMEZ, J, P; PRUDÊNCIO, S. H; SILVA, R, S, S, F. **Queijo tipo minas frescal com derivados de soja: características físicas, químicas e sensoriais**. Ciênc. Tecnol. Aliment., Campinas, 30(Supl.1): 77-85, maio 2010.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Pesquisa Trimestral do Leite - 2º trimestre 2018, Paraná, 2019.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Pesquisa Trimestral do Leite - 2º trimestre 2019, Paraná, 2019.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Pecuária. Disponível em <<https://cidades.ibge.gov.br/brasil/pr/grandes-rios/pesquisa/18/16459>> Acesso em 10 de out. 2019.

INSTITUTO PARANAENSE DE ASSISTÊNCIA TÉCNICA E EXTENSÃO RURAL – EMATER. Município de Grandes Rios. Levantamento realizado em 2016. Curitiba, 2016.

INSTITUTO PARANAENSE DE ASSISTÊNCIA TÉCNICA E EXTENSÃO RURAL – EMATER. Projeto Bovinocultura de Leite. Disponível em <<http://www.emater.pr.gov.br/modules/conteudo/conteudo.php?conteudo=68>> Acesso em 08 de out. 2019.

INSTITUTO PARANAENSE DE DESENVOLVIMENTO ECONÔMICO E SOCIAL – IPARDES. Diagnóstico socioeconômico do território vale do Ivaí - 1ª Fase - Caracterização Global. Curitiba, 2007.

INSTITUTO DO PATRIMÔNIO HISTÓRICO E ARTÍSTICO NACIONAL – IPHAN. Queijo artesanal de minas, patrimônio cultural do Brasil, v. 1, 2006. p11 Disponível em: <http://portal.iphan.gov.br/uploads/ckfinder/arquivos/Dossie_modos_fazer_queijo_minas.pdf> Acesso em: 21 de mai 2020.

HOFFMAN, F.L.; CRUZ, C.H.G.; VINTURIM, T.M. Qualidade microbiológica de queijos comercializados na região de São José do Rio Preto, SP. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**. 1995.

LOPES L. O; SILVA R; GUIMARÃES J. T; COUTINHO N. M; PIMENTEL T. C; ESNERINO E. A; DUARTE M. C. K. H; AZEREDO D. R. P; CRUZ A. G. **Food Defense: conceitos e aplicações na garantia de qualidade de leite e derivados**. Disponível em <<https://foodsafetybrazil.org/food-defense-garantia-de-qualidade-leite/>> Acesso em 22 de mai. de 2020.

OKURA, M. H.; MARIN, J. M. Survey of Minas frescal cheese from Southwest Minas Gerais for virulence factors and antimicrobial resistance in Escherichia coli isolates. **Ciência Rural**, v. 44, n. 8, p. 1506-1511, 2014.

MACHADO, G. M. **Viabilidade Tecnológica do Uso de Ácido Lático na Elaboração de Queijo de Coalho**. Dissertação (Mestrado Profissional em Ciência e Tecnologia do Leite e Derivados). 81p. Universidade Federal de Juiz de Fora. 2010.

NETTO M. M. **A geográfica do queijo minas artesanal**. Tese (doutorado) Universidade Estadual Paulista, Instituto de Geociências e Ciências Exatas. Rio Claro – SP, 2011.

PARANÁ, Lei nº 19.599 de 17 de julho de 2018 - Dispõe sobre a produção e a comercialização dos queijos artesanais no Estado do Paraná. Curitiba, 2018. SERVIÇO BRASILEIRO DE APOIO ÀS MICRO E PEQUENAS EMPRESAS. SEBRAE. Queijos Nacionais: estudos de mercado. SEBRAE/ESPM.SEBRAE, 2008.

PERRY, K. S. P. Queijos: Aspectos Químicos, Bioquímicos E Microbiológicos. Química Nova, São Paulo, v. 2, n. 27, p.293-300, abr. 2004. Bimestral. Disponível em http://quimicanova.sbq.org.br/audiencia_pdf.asp?aid2=3951&nomeArquivo=Vol27No2_293_19-DV03033.pdf>. Acesso em 21 de ago. de 2020.

PINTO, M. S. **Diagnostico socioeconômico, cultural e avaliação dos parâmetros físico-químicos e microbiológicos do queijo Minas artesanal do Serro**. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos), 134f. Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, 2004.

PINTO, M. S.; FERREIRA, C.L.L.F.; MARTINS, J.M.; TEODORO, V.A.M.; PIRES, A.C.S.; FONTES, L.B.A.; VARGAS, P.I.R. Segurança alimentar do queijo Minas Artesanal do Serro, Minas Gerais, em função da adoção de boas práticas de fabricação. **Pesq. Agropec. Trop.**, Goiânia, v. 39, n. 4, p. 342-347, out/dez. 2009. Disponível em: <<https://www.revistas.ufg.br/index.php/pat/article/view/4509/5901>> Acesso em 26 de ago. de 2020.

RESENDE, E, C. **Aspectos sensoriais e microbiológicos do queijo minas artesanal da microrregião Campo das Vertentes**. Universidade Federal de Juiz de Fora – Programa de Mestrado Profissional em Ciência e Tecnologia do Leite e Derivados. Juiz de Fora – MG, 2014.

ROSA, P. R. **Efeitos da atmosfera modificada e da irradiação sobre as características microbiológicas, físicas-químicas e sensoriais do queijo minas frescal**. 2004. 140p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia dos Alimentos) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba – SP, 2004.

SALES, G, A. **Caracterização microbiológica e físico-química de queijo minas artesanal da microrregião de Araxá - MG durante a maturação em diferentes épocas do ano**. 107p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG, 2015.

SEBRAE. Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas. Queijos Nacionais: estudos de mercado. SEBRAE/ESPM.SEBRAE, 2008.

SCALCO, A. R.; SOUZA, R. C. **Qualidade na cadeia de produção de leite: diagnóstico e proposição de melhorias**. Organizações Rurais & Agroindustriais, Lavras, v. 8, n. 3, p. 368-377, 2006.

SILVA, N. et al. **Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos e Água**. 4º ed. São Paulo: Varela, p. 261-2, 2007.

SOBRAL, D. et al. Principais defeitos em queijo minas artesanal: uma revisão. **Rev. Inst. Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 72, n. 2, p. 108-120, abr/jun, 2017.

VILELA, D.; LEITE, J. L. B.; RESENDE, J. C. **Políticas para o leite no Brasil: passado presente e futuro**. In: Santos, G. T.; Jobim, C. C.; Damasceno, J. C. SulLeite Simpósio sobre Sustentabilidade da Pecuária Leiteira na Região Sul do Brasil, 2002, Maringá. Anais... Maringá: UEM/CCA/DZO-NUPEL, 2002.

VILELA, D.; LEITE, J. L. B.; RESENDE, J. C.; ALVES, E. **Revista de Política Agrícola: Evolução do Leite no Brasil em cinco décadas**. EMBRAPA, 2017.