

O Queijo Artesanal Serrano, produto típico dos campos de altitude dos estados de Santa Catarina e Rio Grande do Sul, têm como principal característica na fabricação a utilização do leite cru de bovinos. Considerando o sistema de produção e a importância da inocuidade dos alimentos, o presente estudo objetivou determinar um diagnóstico de qualidade e o efeito da contaminação microbológica da água utilizada nas propriedades e do leite empregado na fabricação do queijo.

Orientadora: Sandra Maria Ferraz

Co-orientadora: Eliana Knackfuss Vaz

Lages, 2014

ANO
2014

GIANE HELENITA PONTAROLO | QUALIDADE E INOCUIDADE DO QUEIJO
ARTESANAL SERRANO, DO LEITE E DA ÁGUA UTILIZADOS NA SUA PRODUÇÃO, EM
SANTA CATARINA.



UNIVERSIDADE DO ESTADO DE SANTA CATARINA – UDESC
CENTRO DE CIÊNCIAS AGROVETERINÁRIAS – CAV
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**QUALIDADE E INOCUIDADE DO
QUEIJO ARTESANAL SERRANO, DO
LEITE E DA ÁGUA UTILIZADOS NA
SUA PRODUÇÃO, EM SANTA
CATARINA**

GIANE HELENITA PONTAROLO

LAGES, 2014

GIANE HELENITA PONTAROLO

**QUALIDADE E INOCUIDADE DO QUEIJO ARTESANAL
SERRANO, DO LEITE E DA ÁGUA UTILIZADOS NA SUA
PRODUÇÃO, EM SANTA CATARINA**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós - graduação em Ciência Animal da Universidade do Estado de Santa Catarina, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciência Animal.

Orientadora: Sandra Maria Ferraz

Co-orientadora: Eliana Knackfuss Vaz

**LAGES, SC
2014**

P811q Pontarolo, Giane Helenita
Qualidade e inocuidade do queijo artesanal
serrano, do leite e da água utilizados na sua
produção, em Santa Catarina / Giane Helenita
Pontarolo. - Lages, 2014.

109 p.: il.; 21 cm

Orientadora: Sandra Maria Ferraz

Coorientadora: Eliana Knackfuss Vaz

Bibliografia: p. 98-105

Dissertação (mestrado) - Universidade do
Estado de

Santa Catarina, Centro de Ciências

Agroveterinárias, Programa de Pós-Graduação em
Ciência Animal, Lages, 2014.

1. Boas práticas de fabricação. 2. Análise
microbiológica. 3. Efeito de contaminação. I.
Pontarolo, Giane Helenita. II. Ferraz, Sandra
Maria. III. Universidade do Estado de Santa
Catarina. Programa de Pós-Graduação em Ciência
Animal. IV. Título

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Setorial do
CAV/ UDESC

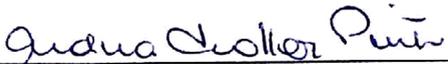
GIANE HELENITA PONTAROLO

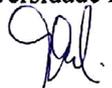
**QUALIDADE E INOCUIDADE DO QUEIJO ARTESANAL
SERRANO, DO LEITE E DA ÁGUA UTILIZADOS NA SUA
PRODUÇÃO, EM SANTA CATARINA**

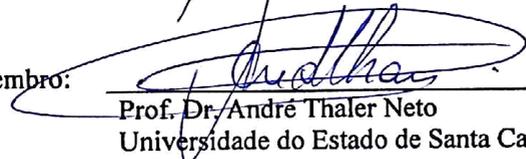
Dissertação apresentada ao Curso de Pós-graduação em Ciência Animal da Universidade do Estado de Santa Catarina, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciência Animal na área de saúde animal.

Banca examinadora:

Orientadora: 
Prof. Dra. Sandra Maria Ferraz
Universidade do Estado de Santa Catarina - UDESC/CAV

Membro: 
Prof. Dra. Andrea Troller Pinto
Universidade Federal do Rio Grande do Sul - UFRGS

Membro: 
Prof. Dr. Adil Knackfuss Vaz
Universidade do Estado de Santa Catarina - UDESC/CAV

Membro: 
Prof. Dr. André Thaler Neto
Universidade do Estado de Santa Catarina - UDESC/CAV

Lages/SC, 10/10/2014

A minha formação pessoal e profissional não poderia ter sido consolidada sem a influência de pessoas que me apoiaram incondicionalmente. Aos meus familiares e amigos.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo dom da vida, oportunidade de crescimento e aprendizagem, superação, realização e sustentação.

À minha família, meu bem mais precioso, aos meus pais, Gilson e Fátima, meus irmãos Giovana, George e Giuliano, meus cunhados, Sandro, Thaís e Suellen, e meus sobrinhos e afilhados amados, Maria Eduarda, João Gabriel, Augusto, Paulo Henrique, Guilherme, Francisco e Gustavo. Meus exemplos de vida e estrutura, incentivo para realização deste sonho com determinação.

Aos meus amigos, sejam antigos ou novos, estando próximo ou distante, o apoio constante foi um diferencial para esta etapa da minha caminhada. Às “amigas pra dar gosto” pelo apoio e incentivo e, oportunidade de descontração nos breves encontros.

Às professoras Sandra Maria Ferraz e Eliana Knackfuss Vaz pela orientação, oportunidade de aprendizagem, transmissão de conhecimentos e principalmente pela confiança para elaboração deste estudo.

Aos colaboradores do CEDIMA, pelo convívio diário, trabalho conjunto, auxílio mútuo e pela experiência obtida. Em especial, á Fernanda, Caroline e Eloisa pelo auxílio e incentivo.

À Epagri, por ter possibilitado a concretização deste estudo, em especial a equipe que desenvolve o Projeto Queijo Artesanal na região Serrana de Santa Catarina, embora o convívio tenha sido breve, às experiências com o projeto foram singulares.

À Associação de Produtores de Queijo Artesanal Serrano da Serra Catarinense, pela disponibilidade de propriedades para a realização do projeto e divulgação dos resultados.

Ao Programa de Pós Graduação em Ciência Animal da Universidade do Estado de Santa Catarina – UDESC pelo oferecimento de ensino de qualidade e gratuito.

Ao professor André Thaler Neto e à doutoranda Dileta Regina Moro Alessio, pelo auxílio no desenvolvimento estatístico dos resultados e pela nova amizade gerada nos inúmeros encontros para a conclusão deste.

Aos amigos que fiz neste período, a todos que fazem parte da minha vida, que compreenderam a minha ausência e torceram por mim.

A vocês eu agradeço e desejo o bem!!

MUITO OBRIGADA!!

“O saber se aprende com os mestres e com os livros. A sabedoria se aprende com a vida e com os humildes.”

Cora Coralina

RESUMO

PONTAROLO, Giane Helenita. **Qualidade e inocuidade do queijo artesanal serrano, do leite e da água utilizados na sua produção, em Santa Catarina.** 2014. 109 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal - Área: Saúde Animal) - Universidade do Estado de Santa Catarina. Programa de Pós - Graduação em Ciência Animal, Lages, 2014.

O queijo artesanal serrano é um produto típico dos campos de altitude dos estados de Santa Catarina e Rio Grande do Sul, tendo como principal característica na fabricação a utilização do leite cru de bovinos. Dessa forma, a qualidade microbiológica fornece informações referentes às características higiênicas de produção e tempo de prateleira do produto. Neste contexto, o presente estudo objetivou diagnosticar a qualidade e inocuidade do queijo artesanal serrano com 14 e 28 dias de maturação, determinar o efeito da contaminação microbiológica da água utilizada nas propriedades e do leite empregado na fabricação, e caracterizar os componentes e qualidade microbiológica do leite, correspondendo os resultados a fatores de produção de 31 propriedades rurais produtoras do queijo artesanal na serra Catarinense, por meio de análises estatísticas multivariadas e univariadas realizadas no *software* SAS[®]. Os resultados obtidos demonstraram heterogeneidade das amostras em relação a componentes físico-químicos e não conformidades microbiológicas em relação a micro-organismos indicadores e patogênicos, reiterando que a qualidade da matéria prima é essencial para obtenção de um produto em conformidade e que contaminações durante o processo de produção e maturação apresentam efeito direto na qualidade do produto maturado no maior intervalo de tempo. Com isso, a adoção de medidas de

boas práticas agropecuárias e de fabricação, adequações ao serviço de inspeção, higienização adequada em todo o processo de produção são fundamentais para reduzir as contagens dos micro-organismos com a finalidade de obter alimentos em conformidade e seguros para o consumidor.

Palavras - chave: boas práticas de fabricação; análise microbiológica; efeito de contaminação.

ABSTRACT

PONTAROLO, Giane Helenita. **Quality and safety of serrano handmade cheese, milk and water used in production, in Santa Catarina.** 2014. 109 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal - Área: Saúde Animal) - Universidade do Estado de Santa Catarina. Programa de Pós – Graduação em Ciência Animal, Lages, 2014.

The serrano handmade cheese is a typical product from the altitude high in the states of Santa Catarina and Rio Grande do Sul, the main feature in making the use of raw milk from cattle. Thus, the evaluation of the microbiological quality provides information regarding to the hygienic production characteristics and product shelf life. In this context, the present study aimed to diagnose the quality and safety of serrano handmade cheese with 14 and 28 days of ripening, determine the effect of microbiological contamination of water used and the properties of the milk used in the manufacture and characterize the components and microbiological quality of the milk, the results corresponding to the production of 31 rural properties handmade cheese producers in the hills of Santa Catarina factors through univariate and multivariate statistical analysis performed in SAS[®] software. The results showed heterogeneity of the samples in relation to physico-chemical components, no microbiological conformities in relation to micro-organisms and pathogenic indicators, reiterating that the quality of raw material is essential to obtain a product in compliance and contamination during production and maturation have a direct effect on the quality of the product is matured at longer time intervals. Thus, the adoption of measures of good agricultural and manufacturing practices, adjustments to the inspection service, proper hygiene

throughout the production process are key to reducing the counts of micro-organisms in order to get food accordingly and safe for the consumer.

Key - words: good manufacturing practices; microbiological evaluation; of contamination effect.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Qualidade microbiológica do leite e sua influência na qualidade do queijo com 14 dias de maturação.....	74
Figura 2 - Qualidade microbiológica do leite e sua influência na qualidade do queijo com 28 dias de maturação.....	75
Figura 3 - Qualidade microbiológica do queijo com 14 dias de maturação e sua influência na qualidade do queijo com 28 dias de maturação.	76
Figura 4 - Dispersão das cargas fatoriais da qualidade microbiológica dos queijos, a umidade e a inspeção nos estabelecimentos.....	77
Figura 5 - Correspondência entre qualidade microbiológica dos queijos e o processo de produção, maturação e higiene.	78
Figura 6 - Correspondência entre o rebanho, a produção, a estrutura, o manejo e a contagem bacteriana total no leite.	91
Figura 7 - Correspondência entre técnicas de higiene na ordenha, testes e análise do leite e a contagem de células somáticas e da contagem bacteriana total no leite.....	92

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Frequência de classificação quanto aos teores de umidade e gordura dos queijos artesanais maturados aos 14 e 28 dias produzidos na região serrana de Santa Catarina.....	55
Tabela 2 - Composição físico-química dos queijos maturados aos 14 e 28 dias de propriedades rurais do estado de Santa Catarina.....	56
Tabela 3 – Contagem bacteriana e composição dos queijos no estágio de 14 dias maturação em função da umidade e do peso.	57
Tabela 4 – Contagem bacteriana e composição dos queijos no estágio de 28 dias maturação em função da umidade e do peso.	58
Tabela 5 - Frequência de não conformidade microbiológica quanto aos critérios de contagem de Coliformes Totais, <i>Escherichia coli</i> , <i>Staphylococcus</i> coagulase positiva, e presença de <i>Listeria monocytogenes</i> em queijos artesanais em função do período de maturação.	59
Tabela 6 – Efeito do período de maturação na redução de contagem de Coliformes Totais, <i>Escherichia coli</i> e <i>Staphylococcus</i> coagulase positiva em função de amostras de queijos artesanais em não conformidade microbiológica.	60
Tabela 7 – Contagem bacteriana e composição dos queijos em função do período de maturação.	61
Tabela 8 – Contagem bacteriana da água, do leite e dos queijos maturados aos 14 e 28 dias de propriedades rurais do estado de Santa Catarina.	73
Tabela 9 - Composição, contagem de células somáticas e contagem bacteriana total do leite de propriedades rurais do estado de Santa Catarina.	89

LISTA DE SIGLAS

AOAC	<i>Association of Analytical Communities</i>
APROSERRA	Associação de Produtores de Queijo Artesanal da Serra Catarinense
APT	Água peptonada tamponada
CAV	Centro de Ciências Agroveterinárias
CBT	Contagem bacteriana total
CMT	<i>California mastitis test</i>
CCS	Contagem de células somáticas
CEDIMA	Centro de Diagnóstico microbiológico animal
DTA	Doenças transmitidas por alimentos
EBT	Escore de contagem bacteriana total
ECS	Escore de células somáticas
EPAGRI	Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural
ESD	Extrato seco desengordurado
EST	Extrato seco total
INOX	Aço inoxidável
MAPA	Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento
PVC	Policloreto de vinil
QAS	Queijo artesanal serrano
UDESC	Universidade do Estado de Santa Catarina
UFC	Unidade formadora de colônia

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	31
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	33
2.1 QUEIJO ARTESANAL SERRANO	33
2.2 QUALIDADE E INOCUIDADE	34
2.2.1 Água	35
2.2.2 Leite	35
2.2.3 Queijo	38
2.2.3.1 Maturação	39
2.2.4 Indicadores de Qualidade	40
2.2.4.1 Coliformes totais	40
2.2.4.2 <i>Escherichia coli</i>	41
2.2.5 <i>Salmonella</i> sp.	42
2.2.6 <i>Listeria monocytogenes</i>	43
2.2.7 <i>Staphylococcus</i> coagulase positiva	44
3 QUALIDADE E INOCUIDADE DE QUEIJOS ARTESANAIS PRODUZIDOS NA REGIÃO SERRANA EM SANTA CATARINA	47
3.1 INTRODUÇÃO	50
3.2 MATERIAL E MÉTODOS	52
3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	54
3.4 CONCLUSÃO	62
3.5 REFERÊNCIAS	63
4 QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DA ÁGUA E DO LEITE UTILIZADOS NA FABRICAÇÃO DO QUEIJO ARTESANAL SERRANO EM SANTA CATARINA.....	67
4.1 INTRODUÇÃO	69
4.2 MATERIAL E MÉTODOS	70
4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	72
4.4 CONCLUSÃO	79
4.5 REFERÊNCIAS	80

5 QUALIDADE DO LEITE UTILIZADO PARA A FABRICAÇÃO DO QUEIJO ARTESANAL SERRANO EM SANTA CATARINA	83
5.1 INTRODUÇÃO.....	84
5.2 MATERIAL E MÉTODOS	86
5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	88
5.4 CONCLUSÃO.....	93
5.5 REFERÊNCIAS	93
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	97
REFERÊNCIAS	98
APÊNDICE A	106

1 INTRODUÇÃO

A região da Serra de Santa Catarina possui tradição na produção do Queijo Artesanal Serrano (QAS), que apresenta como principais características a fabricação a partir do leite cru de bovinos, em sua maioria raças de corte e mistas alimentados principalmente com pastagens naturais, e a produção em pequena escala através de mão de obra familiar.

O processo de fabricação transmitido de geração a geração apresenta um contexto histórico, social e econômico tornando o Queijo Artesanal Serrano uma importante fonte de renda para agricultores da região. Embora seja considerado um produto diferenciado e com grande aceitação pelos consumidores, a comercialização dos queijos é realizada com períodos de maturação variáveis, e em sua maioria através da informalidade.

Dessa forma a Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina (EPAGRI) coordena o projeto de Certificação e Qualificação do QAS dos Campos de Altitude de Santa Catarina, abrangendo os 18 municípios da Região Serrana, contemplando a valorização, legalização do produto e a capacitação dos produtores, tendo por objetivo final, a concessão de uma indicação geográfica.

A produção artesanal exige controle de qualidade para obtenção de um produto em conformidade com os padrões microbiológicos e físico-químicos, que garantam a inocuidade do consumidor. Embora o processo básico de fabricação de queijos seja semelhante, variações na origem do leite, nas técnicas de processamento e no tempo de maturação criam uma heterogeneidade de produtos.

A normativa atual autoriza a maturação dos queijos fabricados com leite cru por períodos inferiores a sessenta dias, mediante a realização de estudos técnico-científicos que comprovem que a redução do período de maturação não compromete a qualidade e inocuidade do produto.

Micro-organismos de origens diversas, apresentam relevância em saúde pública pela capacidade de causar toxinfecções alimentares como a *Escherichia coli*, *Staphylococcus* coagulase positiva, *Salmonella* sp. e *Listeria monocytogenes*. A contagem de coliformes totais é utilizada para avaliar condições higiênicas no processo de fabricação.

A água utilizada na propriedade pode resultar na contaminação dos utensílios, do leite no momento da ordenha e do queijo durante o período de fabricação e maturação. O uso do leite cru tende a aumentar o risco de contaminação por micro-organismos patogênicos, uma vez que, a maioria destes micro-organismos poderia ser eliminada pela pasteurização. A ausência de boas práticas agropecuária e de fabricação são fatores que afetam a qualidade do produto final e a inocuidade dos alimentos.

Neste contexto, o presente estudo objetivou desenvolver um diagnóstico da qualidade e inocuidade do QAS produzido com diferentes períodos de maturação, da água utilizada nas propriedades e do leite empregado na fabricação do queijo em propriedades rurais pertencentes à Associação de Produtores de Queijo Artesanal Serrano da Serra Catarinense (APROSERRA).

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 QUEIJO ARTESANAL SERRANO

O QAS é um produto típico dos campos de altitude dos estados de Santa Catarina e do Rio Grande do Sul. Tendo como principal característica na fabricação a utilização do leite cru de bovinos, em sua maioria raças de corte e mista. (CÓRDOVA et al., 2011; CRUZ et al., 2008; KRONE; MENASCHE, 2010). A fabricação de forma artesanal inicia logo após a ordenha com a adição do coalho, acidificação, separação do soro e maturação durante tempo variável (CÓRDOVA et al., 2011).

A Região Serrana Catarinense tem na pecuária uma das principais atividades econômicas, apresentando o maior rebanho bovino de corte do Estado, sendo desenvolvida em sua maioria no sistema de produção extensivo à base de campo nativo. As propriedades envolvidas nesta atividade são em sua maioria agricultores familiares, que tem na produção do QAS uma importante fonte de renda (CÓRDOVA et al., 2011).

A tradição da produção do Queijo Serrano originou-se em meados do século XVIII, período no qual a produção do queijo era uma forma de aproveitar o leite, convertendo-se em produto para subsistência, e na troca por mantimentos que eram trazidos pelos tropeiros (CRUZ et al., 2008; AMBROSINI; FILIPPI, 2008; KRONE; MENASCHE, 2010).

A receita tradicional de fabricação do Queijo Serrano foi passada de geração a geração se perpetuando ao longo do tempo, sem sofrer grandes modificações. O clima característico da região combinado às técnicas artesanais empregadas na fabricação confere ao produto características físicas e organolépticas, que o diferenciam de outros queijos produzidos na região (CÓRDOVA et al., 2011; CRUZ et al., 2008; KRONE; MENASCHE, 2010).

Apesar da importância econômica, social, cultural e histórica do QAS, atualmente sua comercialização é realizada,

em grande parte irregular, com dificuldades em responder às exigências em termos de estrutura sanitária e aspectos fiscais (CRUZ et al., 2008).

2.2 QUALIDADE E INOCUIDADE

A inocuidade é a garantia de que os alimentos não causem danos ao consumidor, quando preparados e ou consumidos adequadamente. Dessa forma a produção de alimentos deve ser isenta de perigo, que são agentes biológicos, químicos ou físicos presentes no alimento ou condição do alimento com potencial para causar efeitos adversos à saúde (ORGANIZAÇÃO PAN AMERICANA DE SAÚDE, 2006).

As doenças transmitidas por alimentos (DTA) representam um sério problema de saúde pública pela sua frequência elevada e pelo grande número de micro-organismos que podem estar envolvidos em surtos. Diversos patógenos alimentares são conhecidos por causarem doenças, sendo veiculados por alimentos e água. A transmissão de muitos patógenos aos seres humanos ocorre pela má conservação dos alimentos e manipulação e distribuição inadequadas. *Salmonella* sp., *Staphylococcus aureus*, *E. coli* são agentes bacterianos expressivos nas ocorrência de DTA em diferentes países, enquanto que *Listeria monocytogenes* é relatada como a principal responsável pelos óbitos relacionados as DTA ocorridas nos Estados Unidos da América. (OLIVEIRA et al., 2010).

A qualidade microbiológica fornece informações que permitem avaliar o alimento quanto às condições de processamento, armazenamento e distribuição para o consumo, como também, sua vida útil e o risco a saúde do consumidor (FRANCO; LANDGRAF, 2008).

Os queijos artesanais necessitam seguir normas rigorosas de higiene. Condições sanitárias inadequadas adotadas no rebanho, controle de qualidade deficiente na

obtenção da matéria prima, no seu beneficiamento e estocagem, podem resultar em um produto não conforme e em risco de infecções e intoxicações aos consumidores. (ZAFFARI; MELLO; COSTA, 2007).

2.2.1 Água

Como princípio geral, na manipulação dos alimentos só deverá ser utilizada água potável, nos estabelecimentos de produtos de origem animal destinados à alimentação humana, é considerada fundamental, a realização de análise da água de abastecimentos, que deve se enquadrar nos padrões microbiológicos e químicos previstos pela normativa nacional. (BRASIL, 1997).

Como padrão de potabilidade da água tratada para consumo humano determina-se a ausência de coliformes termotolerantes e totais em 100 mL da amostra analisada (BRASIL, 2011).

A utilização de reservatórios insuficientemente protegidos pode ocasionar a contaminação da água potável utilizada para limpeza de utensílios, em consequência, resultar na contaminação do leite (ORDÓÑEZ et al, 2005).

2.2.2 Leite

Leite é o produto oriundo da ordenha completa e ininterrupta, em condições de higiene, de vacas sadias, bem alimentadas e descansadas (BRASIL, 2011). É considerado um alimento completo, possuindo alto valor biológico na alimentação humana. Sua composição nutricional o torna um excelente substrato para o crescimento de micro-organismos, dessa forma, o controle de qualidade do leite utilizado como matéria-prima é fundamental para garantir a qualidade dos produtos derivados. (GERMANO, P., 2011) (GERMANO, M., 2011).

Quanto ao aspecto físico-químico, o leite é uma mistura homogênea de grande número de substâncias, sendo a gordura o componente mais variável entre as raças, sendo inversamente proporcional à quantidade de leite produzido. A lactose é o único glicídio livre em quantidades significativas no leite, e é o componente mais abundante e o mais lábil perante a ação microbiana, sendo um bom substrato para as bactérias que a transformam em ácido láctico. As proteínas do leite são classificadas em proteínas do soro e caseínas. A coagulação da caseína por algumas proteases é a base para a indústria de queijos, sendo decisiva nas características sensoriais do produto acabado (ORDÓÑEZ et al, 2005).

Do ponto de vista microbiológico a produção do leite é o primeiro ponto de controle no processamento de produtos lácteos. A qualidade do leite cru é influenciada por fatores zootécnicos (manejo, alimentação e potencial genético do rebanho) que são responsáveis pelas características de composição do leite e produtividade, e a fatores relacionados à obtenção do leite destacando a qualidade microbiológica, sobretudo da ordenha (GERMANO, P., 2011) (GERMANO, M., 2011).

O leite, proveniente de animais saudáveis, sempre contém um número variável de micro-organismos (10^3 - 10^6 UFC/mL). A variação destas taxas resulta principalmente de fontes do interior do úbere, do exterior do úbere e dos equipamentos e utensílios utilizados na ordenha. A carga contaminante inicial consiste principalmente de micrococos, bactérias corineformes, estreptococos, podendo também conter variedades de bactérias Gram-positivas esporuladas ou não e Gram-negativas. A pele do teto é uma importante fonte de contaminação se estiverem sujas de terra e esterco, produzindo contagens acima de 10^5 UFC/mL, exceto quando limpas e secas adequadamente antes da ordenha. Micro-organismos provenientes do ordenhador podem ser veiculados em

quantidades variáveis através da ordenha manual (ORDÓÑEZ et al, 2005).

A mastite, inflamação da glândula mamária, destaca-se entre os principais problemas que afetam a produção de leite, causando alterações significativas na composição do leite e aumento na contagem de células somáticas (CCS). Estas células estão presentes normalmente no leite, sendo constituídas por leucócitos, principalmente neutrófilos, e células de descamação do epitélio secretor da glândula. Durante a evolução da mastite há um fluxo maior de CCS para a glândula mamária, resultando em perdas no rendimento industrial e diminuição do tempo de prateleira. Os patógenos causadores da mastite podem gerar aumento na contagem total de micro-organismos, tornando a higiene da ordenha o fator de maior importância em programas de prevenção em rebanhos leiteiros (GERMANO, P., 2011) (GERMANO, M., 2011).

A contagem bacteriana total (CBT) é uma medida direta de contaminação do leite, e a CCS é uma medida indireta de inflamação da glândula mamária. Dessa forma, alguns fatores relacionados ao animal também atuam de forma importante e podem explicar por que um produtor pode ser capaz de controlar a CBT e não a CCS (SCHAIK et al., 2005). O monitoramento de CCS realizada periodicamente no rebanho é importante para avaliar a saúde da glândula mamária, propiciando adoção de medidas de controle efetivo de mastites no rebanho leiteiro, maior obtenção de leite com melhor qualidade, e melhora do rendimento na industrialização dos produtos lácteos (LANGONI, 2000).

Mastite, condições inadequadas de ordenha, instalações deficientes e sem higiene para a manipulação, armazenamento, transporte e exposição a altas temperaturas são fatores que contribuem com a má qualidade de produtos lácteos (GERMANO, P., 2011) (GERMANO, M., 2011).

Os requisitos microbiológicos, físicos, químicos e de CCS para leite cru refrigerado são estabelecidos através da

Instrução Normativa nº 62, do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2011).

2.2.3 Queijo

O queijo é produto fresco ou maturado que se obtém por separação parcial do soro do leite coagulado. A designação de queijo fresco é utilizada para o que está pronto para consumo logo após a fabricação e, queijo maturado, o que sofreu as trocas bioquímicas e físicas necessárias e características da variedade do queijo (BRASIL, 1952; BRASIL, 1996). Os diferentes processos de fabricação, os micro-organismos presentes na massa e as condições de maturação provocam mudanças resultando em um produto heterogêneo em propriedades reológicas e sensoriais (ORDÓÑEZ et al., 2005).

Considera-se produto colonial ou artesanal, o que possui um grau de processamento, realizado no interior das propriedades rurais, geralmente pelo produtor ou sua família, através de um processo artesanal de produção (SILVA et al., 2007).

A Portaria nº 146, do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) estabelece a classificação dos queijos quanto ao teor percentual de gordura, em extra gordo (mínimo 60%), gordos (entre 45,0 e 59,9%), semigordo (entre 25,0 e 44,9%), magros (entre 10,0 e 24,9%) e desnatados (menos de 10,0%). De acordo com o conteúdo de umidade, os queijos são classificados em: baixa umidade (até 35,9%), média umidade (entre 36,0 e 45,9%), alta umidade (entre 46,0 e 54,9%) e muita alta umidade (mínimo 55,0%) (BRASIL, 1996). A classificação quanto ao teor de umidade é utilizada também para definição dos parâmetros microbiológicos dos queijos, estabelecidos através da Resolução nº 12, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (BRASIL, 2001).

Os micro-organismos contaminantes podem causar doenças, ocasionar alterações físico-químicas e sensoriais no produto e influenciar na eficiência dos processos utilizados no seu beneficiamento (ZAFFARI; MELLO; COSTA; 2007).

Os principais micro-organismos deterioradores de queijos são os coliformes, ocasionadores do estufamento precoce, e os micro-organismos anaeróbios do gênero *Clostridium*, que resultam no estufamento tardio. A presença destes micro-organismos está diretamente associada à higiene de produção e à qualidade da matéria-prima (GERMANO, P., 2011) (GERMANO, M., 2011). O estufamento ocorre devido ao gás produzido, gerando rachaduras nos queijos ou pequenos orifícios irregulares na massa devido à atividade metabólica dos micro-organismos. Os coliformes competem com as bactérias lácticas quando o pH é elevado, como no leite, mas a medida que a acidez aumenta e a atividade de água diminui esses micro-organismos começam a diminuir até desaparecerem (ORDÓÑEZ et al., 2005).

2.2.3.1 Maturação

A maturação é um processo durante o qual se modificam as características físicas e químicas do queijo gerando substâncias responsáveis pelo sabor e aroma. Os queijos são submetidos durante determinado tempo, a temperatura e umidade relativa definidas, variando de acordo com o tipo do queijo (ORDÓÑEZ et al., 2005).

Durante a maturação acumulam-se substâncias que contribuem para o sabor e aroma tais como peptídeos, aminoácidos livres, aminas, cetonas, aldeídos e ácidos graxos livres. Estes compostos surgem em consequências das transformações de componentes do leite (lactose, proteínas e lipídeos), caracterizando o início do processo de maturação através de fenômenos hidrolíticos como a glicólise, proteólise e lipólise (ORDÓÑEZ et al., 2005; PERRY, 2004).

Embora o processo básico de fabricação de queijos seja semelhante, variações na origem do leite, nas técnicas de processamento e no tempo de maturação criam uma heterogeneidade de produtos (PERRY, 2004; KRONE; MENASCHE, 2010).

Na utilização do leite cru, a fermentação da lactose é realizada por bactérias lácticas autóctones, sendo assim todos os micro-organismos presentes no leite passam a coalhada e participam dos fenômenos bioquímicos que ocorrem durante a maturação. Alguns se multiplicam rapidamente (lactococos), alguns em etapas mais avançadas da maturação (lactobacilos e microbiota secundária) e outros têm o crescimento inibido ou desaparecem durante a maturação (ORDÓÑEZ et al., 2005).

A normativa atual permite que os queijos artesanais tradicionalmente elaborados a partir de leite cru sejam maturados por um período inferior a sessenta dias, quando estudos técnico-científicos comprovarem que a redução do período de maturação não compromete a qualidade e a inocuidade do produto (BRASIL, 2013).

2.2.4 Indicadores de Qualidade

Indicadores da qualidade microbiológica são micro-organismos ou produtos de seu metabolismo, cuja presença em determinados alimentos, e em certos níveis, costuma ser utilizada para avaliar a qualidade, estabelecendo a vida de prateleira do produto (JAY, 2005).

2.2.4.1 Coliformes totais

O grupo dos coliformes totais é um subgrupo da família *Enterobacteriaceae*, no qual as espécies são capazes de fermentar a lactose com produção de gás, em 24 a 48 horas a 35°C. Pertencem a este grupo bactérias que tem como habitat primário o trato gastrointestinal de humanos e animais como a

Escherichia coli, como também bactérias que estão presente no ambiente; como espécies de *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Klebsiella* e *Serratia*, dentre outras (SILVA et al., 2010). São bacilos Gram-negativos e não formadores de esporos (FRANCO; LANDGRAF, 2008).

2.2.4.2 *Escherichia coli*

O grupo dos coliformes termotolerantes é um subgrupo dos coliformes totais, no qual as espécies são capazes de fermentar a lactose em 24 horas a 44,5-45,5°C, com produção de gás (SILVA et al., 2010).

Escherichia coli pertence ao grupo de coliformes totais e ao de termotolerantes. Tem como habitat natural o trato intestinal de animais de sangue quente, embora possa ser introduzida nos alimentos a partir de fontes não fecais (SILVA et al., 2010).

E. coli, coliformes termotolerantes, coliformes totais ou enterobactérias podendo ser encontrados em reservatórios ambientais. Enterobactérias e coliformes são indicadores das condições de higiene dos processos de fabricação, porque são facilmente inativados pelos sanitizantes. Coliformes são indicadores de falha de processo ou de contaminação pós-processo em alimentos pasteurizados, porque são facilmente destruídos por tratamentos térmicos. *E. coli* é indicador de contaminação fecal em alimentos “in natura” (SILVA et al., 2010).

Em estudo de avaliação da qualidade microbiológica de queijos artesanais, Melo et al. (2013), observaram que, das 108 amostras de queijo artesanal analisadas na Serra Catarinense, 37 (34,26%) e 39 (36,11%) apresentaram contagens acima de 10^3 UFC/g para coliformes totais e *E. coli*, respectivamente, estando acima dos padrões estabelecidos pela normativa vigente para queijos de média umidade.

Em avaliação da qualidade microbiológica de 60 amostras de queijo minas frescal em Jaboticabal-SP, sendo, 30 amostras de produção artesanal e 30 de produção industrial, Salotti et al. (2006), constataram desacordo com o estabelecido pela normativa: quanto a presença de coliformes termotolerantes em 83,4% das amostras artesanais e em 66,7% das amostras industriais.

2.2.5 *Salmonella* sp.

As infecções provocadas por bactérias do gênero *Salmonella* são consideradas as causa mais importantes de doenças transmitidas por alimentos (GERMANO, P., 2011) (GERMANO, M., 2011).

O gênero *Salmonella* pertence à família *Enterobacteriaceae*, compreende bacilos Gram-negativos não produtores de esporos. A taxonomia do gênero *Salmonella* é baseada na composição de seus antígenos somáticos (O), os flagelares (H) e os capsulares (Vi) (FRANCO; LANDGRAF, 2008). A variedade de polissacarídeos da parede celular das bactérias Gram-negativas determina a base química dos antígenos somáticos. A parede celular é composta por uma camada interna de peptidoglicano, seguida de uma dupla camada lipídica externa, composta por lipoproteínas, fosfolipídios e lipopolissacarídeos (LPS). Os LPS são divididos em três porções, o lipídio A (interno), o core (intermediário) e a região antigênica O (cadeia polissacarídica externa). O lipídio A é a causa predominante dos efeitos endotóxicos do LPS, enquanto a cadeia polissacarídica é a parte imunologicamente dominante da molécula (SILVA et al., 2010).

As salmonelas multiplicam-se em temperaturas entre 7 e 49,5°C, sendo 37°C a temperatura ótima de desenvolvimento. Em 4 horas, o alimento contaminado transforma-se em infectantes. Após a ingestão do alimento infectante, as salmonelas, penetram o epitélio do intestino

delgado provocando inflamação, tendo como período de incubação médio 18 horas. Manifestasse clinicamente por cólicas abdominais, náuseas, vômitos, diarreia, calafrios, febre e cefaleia (GERMANO, P., 2011) (GERMANO, M., 2011).

O principal habitat das salmonelas é o trato intestinal de humanos e animais, sendo uma bactéria de ampla ocorrência em animais e, no ambiente. As principais fontes são: a água, o solo, as fezes de animais, os insetos e as superfícies de equipamentos e utensílios de fabricas e cozinhas. A doença geralmente é contraída através do consumo de alimentos contaminados de origem animal (SILVA et al., 2010). Alimentos com alto teor de umidade e alta porcentagem de proteína, como produtos lácteos, carnes e seus derivados frequentemente estão envolvidos em surtos (GERMANO; P., 2011) (GERMANO, M., 2011). As cepas frequentemente envolvidas em doenças humanas são as de *S. enterica* subsp. *enterica*, respondendo por 99% da salmoneloses humanas (SILVA et al., 2010). O padrão exigidos pela normativa estabelece ausência de *Salmonella* sp. em amostra de 25g do alimento (BRASIL, 2001).

2.2.6 *Listeria monocytogenes*

Os membros do gênero *Listeria* são definidos como pequenos bastonetes Gram-positivos não esporogênicos, catalase positivo e não produtores de ácido sulfídrico (H₂S). São classificadas como psicotolerantes em função da capacidade de se multiplicar em temperaturas de refrigeração. O gênero é constituído por seis espécies: *L. monocytogenes*, *L. seeligeri*, *L. ivannovii*, *L. innocua*, *L. grayi* e *L. welshimeri*, desta *L. monocytogenes* é inquestionavelmente patogênica para o homem (SILVA et al., 2010).

As listérias são encontradas no ambiente onde podem sobreviver e multiplicar-se, acometendo diversas espécies animais e o homem (GERMANO, P., 2011) (GERMANO, M.,

2011). Listeriose é a denominação de um grupo de desordens causadas por *L. monocytogenes* que incluem septicemia, meningite, encefalite, infecção cervical ou intrauterina em gestantes, podendo provocar aborto ou nascimento prematuro. Tem como principais grupos suscetíveis: mulheres grávidas, indivíduos imunossuprimidos e idosos (SILVA et al., 2010).

A transmissão está associada à ingestão de leite contaminado, queijos, sorvetes, água, vegetais crus, patês de carnes, molhos de carne crua fermentada, aves cruas ou cozidas, peixes e frutos do mar (SILVA et al., 2010). A contaminação dos alimentos por *L. monocytogenes* pode ser ambiental e originária das instalações, devido à capacidade da bactéria sobreviver em condições adversas (GERMANO, P., 2011) (GERMANO, M., 2011).

Considerando a importância deste micro-organismo em produtos lácteos, a normativa brasileira estabelece ausência desse patógeno em 25g de queijos com média, alta e muito alta umidade (BRASIL, 2001).

Em estudo microbiológico na Serra Catarinense, Melo et al. (2013), isolaram *Listeria* sp. em 19,44% (21/108) das amostras analisadas de queijo artesanal, sendo 16,66% (18) identificadas como *Listeria innocua* e 2,77% (3) como *Listeria monocytogenes*, tornando o produto impróprio para o consumo humano e fora dos padrões exigidos pela normativa.

2.2.7 *Staphylococcus* coagulase positiva

As bactérias pertencentes ao gênero *Staphylococcus* são Gram-positivos, pertencentes à família *Micrococcaceae* e devido à divisão em diferentes planos, aparecem na forma de cacho de uva quando vistos ao microscópio. São anaeróbias facultativas, com crescimento favorecido em condições aeróbias, produzindo catalase. As espécies que apresentam importância potencial em microbiologia de alimentos são: *S. aureus*, *S. hyicus*, *S. chromogens* e *S. intermedius*, sendo

somente *S. chromogens* negativo ao teste de coagulase. *S. aureus* está associado com maior frequência á doenças estafilocócicas (FRANCO; LANDGRAF, 2008).

As bactérias do gênero *Staphylococcus* são habitantes usuais da pele, membranas mucosas, do trato respiratório superior e do intestino do homem. *S. aureus* é considerado o mais frequente envolvido em surtos de toxinfecção, devido ação de manipuladores durante o processamento e o risco de contaminação das matérias-primas (GERMANO, P., 2011) (GERMANO, M., 2011).

S. aureus ocasiona uma intoxicação através da ingestão de toxinas formadas no alimento. As toxinas são proteínas de baixo peso molecular, resistentes à cocção e às enzimas proteolíticas. A ingestão de uma dose menor que 1µg pode provocar os sintomas da intoxicação e essa quantidade é atingida quando a população de *S. aureus* alcança valores acima de 10^5 UFC/g de alimento (SILVA et al., 2010).

Os estafilococos são bactérias mesófilas apresentando temperatura de crescimento na faixa de 7°C a 47,8°C, as enterotoxinas são produzidas entre 10 °C e 46 °C, com ótimo entre 40°C e 45°C. As bactérias deste gênero são tolerantes a concentrações de 10% a 20% de Cloreto de sódio (NaCl) e a nitratos, tal característica possibilita a sobrevivência deste patógeno em alimento curados (FRANCO; LANDGRAF, 2008).

Os alimentos envolvidos apresentam elevado teor de umidade e alta porcentagem de proteína, como carnes e produtos derivados, ovos, leite e derivados e alimentos que requerem manipulação durante o seu preparo (GERMANO, P., 2011) (GERMANO, M., 2011).

Pelisser et al. (2009) objetivando avaliar a presença de *Staphylococcus* coagulase positiva em carnes e produtos derivados do leite comercializado em Santa Catarina , SC, encontraram presença de *Staphylococcus* coagulase positiva em 33 de 72 amostras analisadas, sendo que em 28,8% de amostras

contaminadas apresentaram contagens com níveis acima de 10^3 UFC/g. Das 30 amostras de queijos americano e coloniais analisadas, 19 apresentaram contaminação por *Staphylococcus* coagulase positiva, e em seis amostras de queijo colonial, a contagem foi acima de 10^5 UFC/g, sendo provável a presença de enterotoxina estafilocócica.

3 QUALIDADE E INOCUIDADE DE QUEIJOS ARTESANAIS PRODUZIDOS NA REGIÃO SERRANA EM SANTA CATARINA

RESUMO

O queijo artesanal serrano, produzido a partir de leite cru de bovinos, é um produto típico dos campos de altitude dos estados de Santa Catarina e do Rio Grande do Sul. Embora haja um contexto histórico e cultural, a comercialização vem sendo realizada de forma irregular. Tendo em vista que os queijos artesanais necessitam seguir normas rigorosas de higiene, o presente estudo objetivou desenvolver um diagnóstico da qualidade e inocuidade dos queijos com 14 e 28 dias de maturação produzido em 31 propriedades da Serra Catarinense. Análises quantitativas de Coliformes totais, *Escherichia coli* e *Staphylococcus coagulase positiva*; pesquisa de *Salmonella* sp. e *Listeria monocytogenes*, foram realizadas no Centro de Diagnóstico Microbiológico Animal da UDESC em Lages. Os queijos também foram avaliados em relação aos percentuais de gordura, acidez, sal, umidade e proteína, no Núcleo de Tecnologia de Alimentos da UDESC. Os dados foram submetidos às análises estatísticas realizadas no *software* SAS[®]. Com isso, 74,19% (23) e 64,52% (20) das amostras, aos 14 e 28 dias de maturação respectivamente, apresentaram limites acima do disposto para coliformes totais, evidenciando irregularidades em condições higiênicas na fabricação. Em relação aos parâmetros de conformidade, nas diferentes classes de umidade, 45,16% (14) e 48,39% (15) das amostras de queijos aos 14 e 28 dias de maturação respectivamente, apresentaram contagem superiores ao aceitável para conformidade na quantificação de *E. coli*. Segundo, os parâmetros para quantificação de *Staphylococcus coagulase positiva* 54,84% (17) e 51,61% (16) das amostras de queijos apresentaram, aos 14 e 28 dias de maturação respectivamente,

valores acima de 10^3 UFC/g. Observou-se ausência de *Salmonella* sp. em 25 g das amostras avaliadas, estando em conformidade com os parâmetros estabelecidos pela normativa. Porém, *Listeria monocytogenes* sorovar 4b foi isolada em 3,23% (1) e 6,45% (2) das amostras, aos 14 e 28 dias de maturação respectivamente, em queijos com média e alta umidade, tornando o alimento impróprio para consumo humano, sendo um grande perigo a saúde do consumidor. O período de maturação demonstrou ser ineficaz para redução significativa de micro-organismos ao nível de conformidade. Em relação à umidade os resultados obtidos demonstraram queijos enquadrados em três parâmetros de classificação; baixa, média e alta, predominando queijos com média umidade aos 14 dias de maturação e, média e baixa umidade aos 28 dias de maturação. Em relação aos teores de gordura houve a predominância de queijos semigordos nos dois períodos de maturação, embora as amostras foram enquadradas em queijos magro, semigordo e gordo. As principais variações na composição entre as amostras avaliadas ocorreram nos teores de sal e acidez. O processo de maturação não demonstrou ser efetivo na redução de contaminações microbiológicas a níveis de conformidade. Considerando, a heterogeneidade dos queijos analisados, as frequências de não conformidades, em relação a micro-organismos indicadores e a presença de patogênicos nas amostras analisadas, o presente estudo indica a necessidade de adequação do sistema de produção do queijo artesanal serrano mediante a profissionalização do produtor e adoção de medidas de boas práticas de fabricação.

Palavras chaves: *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* sp. *Staphylococcus* coagulase positiva, coliformes totais, *Escherichia coli*.

ABSTRACT

The serrano handmade cheese produced from raw milk from cattle, is a typical product from the altitude high in the states of Santa Catarina and Rio Grande do Sul. Though there is a historical and cultural context, marketing is being done irregular . Given that handmade cheeses need to follow strict hygiene standards, the present study aimed to develop a diagnostic of the quality and safety of cheeses with 14 and 28 days of ripening produced in 31 properties Serra Catarinense. Quantitative analysis of total coliforms, *Escherichia coli* and *Staphylococcus* coagulase positive; identification *Salmonella* sp. and *Listeria monocytogenes*, were performed at the Microbiological Diagnosis of Animal UDESC in Lages. The cheeses were also evaluated in relation to the percentage of fat, acidity, salt, humidity and protein, the Center for Food Technology (UDESC). Data were subjected to univariate statistical analyzes in SAS ® software. Thus, 74.19% (23) and 64.52% (20) of the samples at 14 and 28 days of ripening, respectively, were above the limits provided for total coliforms, highlighting irregularities in hygienic conditions in manufacturing. Regarding compliance parameters, the different classes of humidity, 45.16% (14) and 48.39% (15) of cheese samples at 14 and 28 days of ripening, respectively, had higher counts to acceptable for compliance in quantifying *E. coli*. The parameters for the quantification of *Staphylococcus* coagulase positive 54.84% (17) and 51.61% (16) of cheese samples presented at 14 and 28 days of ripening, respectively, and values above 10^3 CFU / g. Observed absence of *Salmonella* sp. 25 g of the samples, being in accordance with the parameters established by law. However, serovar 4b *Listeria monocytogenes* was isolated in 3.23% (1) and 6.45% (2) the samples at 14 and 28 days of ripening, respectively, in cheeses with average and high humidity, making the food improper for consumption of

human, as posing danger to consumers' health. The maturation period has proved to be ineffective in significant reduction of micro -organisms the level of compliance. Regarding the humidity results showed cheeses within three classification parameters; low, medium and high, with average humidity predominating cheeses at 14 days of ripening, and medium and low humidity after 28 days of ripening. In relation to content of fat, there was a predominance of semi fat cheeses in both periods of maturation. The main changes in the composition between the analyzed samples occurred in the levels of salt and acidity. The maturation process has not to be effective in reducing microbiological contamination to levels of compliance. Considering the heterogeneity of the cheeses analyzed, the frequencies of non-conformities in relation to indicator micro-organisms and the presence of pathogens in the samples analyzed, this study indicates the need to adapt the production system serrano handmade cheese through the professionalization of the producer and the adoption of measures of good manufacturing practices.

Key words: *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* sp. *Staphylococcus* coagulase positive, total coliforms, *Escherichia coli*.

3.1 INTRODUÇÃO

O queijo artesanal serrano (QAS) é um produto típico dos campos de altitude dos estados de Santa Catarina e do Rio Grande do Sul. Tendo como principal característica na fabricação a utilização do leite cru, em sua maioria de raças de corte e mista. (CÓRDOVA et al., 2011; CRUZ et al., 2008; KRONE; MENASCHE, 2010). A produção tradicional originou em meados do século XVIII, período no qual a produção do queijo era uma forma de aproveitar o leite,

convertendo em produto para subsistência, e utilização na troca por mantimentos que eram trazidos pelos tropeiros (CRUZ et al., 2008; AMBROSINI; FILIPPI, 2008; KRONE; MENASCHE, 2010).

A receita tradicional de fabricação do QAS foi transmitida entre gerações se perpetuando ao longo do tempo, sem sofrer grandes modificações. O clima característico da região combinado às técnicas artesanais empregadas na fabricação confere ao produto características físicas e organolépticas, que o diferenciam de outros queijos produzidos na região (CÓRDOVA et al., 2011; CRUZ et al., 2008; KRONE; MENASCHE, 2010). Apesar da importância econômica, social, cultural e histórica do QAS, atualmente sua comercialização é realizada, em grande parte de forma irregular, com dificuldades em responder às exigências em termos de estrutura sanitária e aspectos fiscais (CRUZ et al., 2008). Embora o processo básico de fabricação de queijos seja semelhante, variações na produção do leite, nas técnicas de processamento e no tempo de maturação criam uma heterogeneidade de produtos (PERRY, 2004; KRONE; MENASCHE, 2010).

Os queijos artesanais necessitam seguir normas rigorosas de higiene. Condições sanitárias inadequadas adotadas no rebanho, controle de qualidade deficiente na obtenção da matéria prima, no seu beneficiamento e estocagem, podem resultar em um produto não conforme e em risco de infecções e intoxicações aos consumidores. (ZAFFARI; MELLO; COSTA; 2007). Portanto, a normativa atual permite que os queijos artesanais tradicionalmente elaborados a partir de leite cru sejam maturados por um período inferior a sessenta dias, quando estudos técnico-científicos comprovarem que a redução do período de maturação não compromete a qualidade e a inocuidade do produto (BRASIL, 2013).

Neste contexto, o presente estudo objetivou desenvolver um diagnóstico da qualidade e inocuidade do QAS produzido com diferentes períodos de maturação, em propriedades rurais pertencentes à Associação de Produtores de Queijo Artesanal Serrano da Serra Catarinense.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi realizada em 31 propriedades rurais pertencentes à Associação de Produtores de Queijo Artesanal Serrano da Serra Catarinense, nas quais foram coletadas amostras de queijos com 14 e 28 dias de maturação, totalizando 62 amostras.

Os queijos foram embalados em papel craft identificados e acondicionados em caixas isotérmicas para o transporte até aos laboratórios Centro de Diagnóstico Microbiológico Animal (CEDIMA) da UDESC em Lages, para as análises quantitativas de Coliformes totais, *Escherichia coli* e *Staphylococcus coagulase positiva*; pesquisa de *Salmonella* sp. e *Listeria monocytogenes*, e Núcleo de Tecnologia de Alimentos da UDESC (NUTA), para determinação de percentagem de gordura, acidez (ácido láctico), sal (NaCl), umidade e proteína, conforme a Instrução Normativa nº 68 do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2006).

Ao chegarem ao laboratório CEDIMA os queijos eram pesados, em seguida era removida assepticamente parte externa, obtendo-se amostras de 25g e 10g da parte interna de cada queijo.

A estas amostras foram adicionadas 225 mL de água peptonada tamponada 1% (APT) estéril e 90 mL de caldo *University of Vermont* (UVM), respectivamente, seguida da homogeneização em *Stomacher*^{ITR} por dois minutos. As diluições foram realizadas em tubos contendo 9,0 mL de solução salina (0,85%) estéril, para contagem de Coliformes

totais, *Escherichia coli* e *Staphylococcus* coagulase positiva. Logo depois de homogeneizadas, as amostras foram submetidas aos protocolos de identificação e quantificação descritos por Silva et al. (2010). Foram utilizadas como controle positivo em todos os procedimentos *L. monocytogenes* (ATCC 7644), *Salmonella* sp. (ATCC 8327), *S. aureus* (ATCC 29213) e *E. coli* (ATCC 25922).

Para identificação e quantificação de Coliformes totais e *E. coli* utilizou-se o sistema *Petrifilm*TM, método oficial da *Association of Analytical Communities* (AOAC) nº 991.14 (SILVA et al., 2010). O resultado foi obtido pela contagem das colônias e expressos em UFC/g conforme a diluição.

A identificação e quantificação de *Staphylococcus* coagulase positiva foi realizada segundo a Instrução normativa nº 62 do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2003). O resultado foi expresso após cálculo de confirmação de colônias típicas.

A pesquisa de *Salmonella* sp. foi conduzida segundo Silva et al. (2010) de acordo com a *International Organization for Standardization* 6579 (2007). Os isolados com perfil bioquímico compatíveis com *Salmonella* sp. foram confirmados pela prova de aglutinação com soro polivalente somático. Após a confirmação bioquímica e sorológica as cepas sugestivas, foram encaminhadas para sorotipificação na Fundação Instituto Oswaldo Cruz (FIOCRUZ).

A pesquisa de *Listeria monocytogenes* foi realizada segundo Silva et al. (2010) conforme metodologia do *United States Department of Agriculture* (2009), os isolados identificados foram enviados para sorotipificação na Fundação Instituto Oswaldo Cruz (FIOCRUZ).

Os resultados das análises microbiológicas dos queijos foram comparados com valores de referência do Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos, padronizados pela RDC nº 12 (Brasil, 2001) da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e, para coliformes

totais e classificação quanto aos teores de umidade e gordura através dos Regulamentos Técnicos de identidade e Qualidade dos Produtos Lácteos estabelecidos pela Portaria nº 146 do MAPA (BRASIL, 1996).

Os dados foram analisados utilizando o *software* SAS[®] (SAS Institute, 2002). As variáveis microbiológicas sofreram transformação logarítmica (\log_{10}) visando obter normalidade. Foram analisadas utilizando-se análise descritiva, e para a conformidade dos queijos utilizou-se a regressão logística. Avaliação de efeito do período de maturação nas amostras em não conformidade foi analisada por teste de qui quadrado a nível de significância de 5%. Os dados microbiológicos, e físico-químicos dos queijos aos 14 e 28 dias de maturação foram submetidos a análise de variância. Para análise de variância de composição dos queijos dentro do mesmo período de maturação foram efetuadas classes de umidade conforme parâmetros estabelecidos para classificação dos queijos conforme a portaria nº 146 (BRASIL, 1996), e classes de acordo com o peso menor ou igual a 1kg e maior que 1kg.

3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os queijos artesanais foram classificados em relação aos teores de gordura e umidade nos períodos de maturação avaliados (Tabela 1). Em relação à umidade os resultados obtidos demonstraram queijos enquadrados em três parâmetros de classificação; baixa, média e alta, predominando queijos com média umidade aos 14 dias de maturação e, média e baixa umidade aos 28 dias de maturação. Em relação aos teores de gordura houve a predominância de queijos semigordos nos dois períodos de maturação.

Recentemente, o Consórcio Intermunicipal Serra Catarinense (CISAMA) aprovou por meio da Instrução Normativa nº 01 o Regulamento Técnico para Fixação de Identidade do Queijo Serrano (CISAMA, 2014), o qual

caracteriza este produto com baixa a média umidade e semigordo. Dessa forma, somente os queijos aos 14 dias de maturação apresentaram valores em relação a umidade fora deste parâmetro, e em relação a gordura houveram variações na classificação nos dois períodos avaliados.

Tabela 1 - Frequência de classificação quanto aos teores de umidade e gordura dos queijos artesanais maturados aos 14 e 28 dias produzidos na região serrana de Santa Catarina.

Variável	14 dias	28 dias	Parâmetros
	Umidade		
Alta	5 (16,13%)	0	46 - 54,9%
Média	18 (58,06%)	16 (51,61%)	36 - 45,9%
Baixa	8 (25,81%)	15 (48,39%)	até 35,9%
	Gordura		
Gordo	1 (3,23%)	1 (3,23%)	45 - 59,9%
Semigordo	23(74,19%)	28 (90,32%)	25 - 44,9%
Magro	7 (22,58%)	2 (6,45%)	10 - 24,9%

Fonte: Produção do próprio autor (2014).

Nota: Foram avaliadas 31 amostras por período de maturação.

Observou-se heterogeneidade das amostras nos teores de sal e acidez aos 14 e 28 dias de maturação (Tabela 2), estando relacionados aos diferentes sistemas de produção e condições higiênicas adotadas nas propriedades. Na utilização do leite cru, a fermentação da lactose é realizada por bactérias lácticas autóctones, com conseqüente produção de ácido láctico. Sendo assim todos os micro-organismos presentes no leite passam a coalhada e participam dos fenômenos bioquímicos que ocorrem durante a maturação (ORDÓÑEZ et al., 2005; PERRY 2004). Dessa forma, alterações na microbiota e contaminações interferem na concentração de ácido láctico e conseqüentemente nos processos de maturação. A acidez exerce grande influência na maturação e na textura do queijo, o controle do pH durante o processo de fabricação e, em especial, nos primeiros dias de maturação é de relevância para assegurar a qualidade do produto (IDE E BENEDET, 2001).

Tabela 2 - Composição físico-química dos queijos maturados aos 14 e 28 dias de propriedades rurais do estado de Santa Catarina.

Variável	Mínimo	Média	Máximo	DP
Queijo 14 dias (%)				
Gordura	19,82	28,63	45,32	5,58
Proteína	20,16	25,32	33,30	2,43
Acidez (ácido láctico)	0,16	0,27	0,58	0,10
Sal (NaCl)	0,52	0,87	1,81	0,31
Umidade	29,86	40,59	49,88	4,73
Queijo 28 dias (%)				
Gordura	24,35	33,47	45,32	5,21
Proteína	22,69	26,80	34,92	2,72
Acidez (ácido láctico)	0,09	0,32	0,93	0,24
Sal (NaCl)	0,58	1,03	2,04	0,40
Umidade	25,17	36,42	45,77	5,62

Fonte: Produção do próprio autor, 2014.

Nota: Foram avaliadas 31 amostras por período de maturação.

Conforme Pereira et al. (2014) o cloreto de sódio (NaCl) é utilizado como conservante no queijo por contribuir para o controle do crescimento e atividade microbiana, mediante a redução da atividade da água prevenindo o desenvolvimento de micro-organismos no alimento. Segundo Córdova et. (2011), na produção do queijo artesanal serrano a concentração de sal adicionada varia entre 1 a 5% por litro de leite.

Em relação aos teores de gordura, proteína e umidade as amostras apresentaram homogeneidade nos dois períodos de maturação, Os resultados obtidos estão dentro de uma faixa de variação normal, a partir do momento que os coeficientes de variação dos diferentes parâmetros físico-químicos observados estão na maioria com valores de até 30%, o que é considerado normal, segundo Sampaio (1998) para respostas obtidas na área biológica.

As variações significativas nos queijos com 14 dias de maturação ocorreram nos teores de gordura em função da umidade, demonstrando valores inversos, ou seja, quanto maior a umidade menor a concentração de gordura (Tabela 3).

Tabela 3 - Contagem bacteriana e composição dos queijos no estágio de 14 dias maturação em função da umidade e do peso.

Variável	Umidade			P
	Baixa	Média	Alta	
Coliformes totais ⁽¹⁾	3,92	4,76	3,47	=0,2131
<i>E. coli</i> ⁽¹⁾	2,71	3,18	1,74	=0,4191
<i>Staphylococcus coagulase</i> positiva ⁽¹⁾	2,51	3,54	1,91	=0,3000
Gordura (%)	34,42 a	27,63 b	22,72 c	<0,0001
Proteína (%)	26,37	25,14	24,35	=0,3744
Sal (%)	1,04	0,82	0,83	=0,2658
Acidez (%)	0,32	0,26	0,26	=0,3628
Peso (kg)	895,74	1002,87	1271,28	=0,0859

Variável	Peso		P
	≤ 1kg	> 1kg	
Coliformes totais ⁽¹⁾	3,86	4,23	=0,5472
<i>E. coli</i> ⁽¹⁾	1,92	3,16	=0,1370
<i>Staphylococcus coagulase</i> positiva ⁽¹⁾	1,96	3,34	=0,1274
Gordura (%)	29,51	27,01	=0,0709
Proteína (%)	25,03	25,54	=0,5918
Sal (%)	0,84	0,95	=0,3685
Acidez (%)	0,26	0,30	=0,4223
Umidade (%)	38,61	42,69	=0,0135

Fonte: Produção do próprio autor, 2014.

Notas: Foram avaliadas 31 amostras por período de maturação.

Valores com letras diferentes, nas linhas, diferem entre si pelo teste Tukey a 5%.

⁽¹⁾ Logaritmo de base 10/grama.

Variações nos teor de gordura correspondem à variabilidade de composição da matéria prima para produção dos queijos, obtida com diferenças raciais e alimentar dos rebanhos. Porém a percentual de sólidos é inversa ao teor de umidade, quanto menor a umidade, ou seja, a quantidade de água no alimento, maior a concentração de sólidos.

As variações significativas nos queijos com 28 dias de maturação ocorreram nos teores de umidade e peso (Tabela 4). Variações em relação ao peso demonstram a falta de padronização dos produtos. A redução de umidade é um

fenômeno natural observado ao longo do período de maturação com perda de água.

Tabela 4 - Contagem bacteriana e composição dos queijos no estágio de 28 dias maturação em função da umidade e do peso.

Variável	Umidade		P
	Baixa	Média	
Coliformes totais ⁽¹⁾	3,44	3,49	=0,9473
<i>E. coli</i> ⁽¹⁾	2,52	2,31	=0,8006
<i>Staphylococcus</i> coagulase positiva ⁽¹⁾	2,12	2,77	=0,4823
Gordura (%)	35,33	31,89	=0,1025
Proteína (%)	26,20	27,73	=0,1615
Sal (%)	1,02	1,03	=0,9429
Acidez (%)	0,31	0,32	=0,9091
Peso (kg)	830,83	1160,95	=0,0039

Variável	Peso		P
	≤ 1kg	> 1kg	
Coliformes totais ⁽¹⁾	3,51	3,42	=0,8986
<i>E. coli</i> ⁽¹⁾	2,47	2,37	=0,9063
<i>Staphylococcus</i> coagulase positiva ⁽¹⁾	2,33	2,56	=0,8062
Gordura (%)	32,75	34,47	=0,4176
Proteína (%)	26,16	27,76	=0,1538
Sal (%)	1,05	1,00	=0,7427
Acidez (%)	0,34	0,30	=0,6923
Umidade (%)	34,12	40,06	=0,0025

Fonte: Produção do próprio autor, 2014.

Nota: Foram avaliadas 31 amostras por período de maturação.

⁽¹⁾ Logaritmo de base 10/grama.

Conforme Ide e Benedet (2001) percentuais de umidade heterogêneos apresentam como causas prováveis a variação de temperatura e umidade relativa do ar da região, e também diversidades na formulação e fabricação dos queijos artesanais. Embora o processo básico de fabricação de queijos seja semelhante, variações na origem do leite, nas técnicas de processamento e no tempo de maturação criam uma heterogeneidade de produtos (PERRY, 2004; KRONE; MENASCHE, 2010).

Considerando estudos conduzidos na Serra Catarinense por Ide e Benedet (2001) e Melo et al. (2013), torna-se evidente a necessidade de padronização das técnicas de produção visando assim a obtenção de produtos homogêneos e com qualidade microbiológica aceitável.

Em relação aos parâmetros microbiológicos estabelecidos por meio da RDC 12 (BRASIL, 2001) e Portaria 146 (BRASIL 1996), são demonstrados na tabela 5, os percentuais de não conformidade dos queijos em função do período de maturação.

Tabela 5 - Frequência de não conformidade microbiológica quanto aos critérios de contagem de Coliformes Totais, *Escherichia coli*, *Staphylococcus* coagulase positiva, e presença de *Listeria monocytogenes* em queijos artesanais em função do período de maturação.

Variável	Período de maturação	
	14 dias	28 dias
Coliformes Totais	74,19% (23/31)	64,52% (20/31)
<i>E. coli</i>	45,16% (14/31)	48,39% (15/31)
<i>Staphylococcus</i> coagulase positiva	54,84% (17/31)	51,61% (16/31)
<i>Listeria monocytogenes</i>	3,23% (1/31)	6,45% (2/31)

Fonte: Produção do próprio autor, 2014.

Foram avaliadas 31 amostras por período de maturação

A presença elevada de coliformes totais indica condições inadequadas de higiene e sanitização, limites acima do disposto, evidenciam irregularidades em condições higiênicas na fabricação. Embora, haja limites de contagem para *E. coli*, a espécie apresenta linhagens altamente patogênicas e indica contaminação de origem fecal, incorrendo em sérios problemas de saúde pública (SOUZA, 2006).

Altas contagens de *Staphylococcus* coagulase positiva indicam contaminação durante a manipulação e na obtenção da matéria-prima (SILVA et al., 2010). Salienta-se que foram observadas contagens acima de 10^5 em 25,8% (8) e 16,13% (5) dos queijos aos 14 e 28 dias de maturação respectivamente, valores que possibilitam a produção de toxinas.

Observou-se ausência de *Salmonella* sp. nas amostras avaliadas, estando em conformidade com os parâmetros estabelecidos pela normativa (Brasil, 2001). Porém, *Listeria monocytogenes* sorovar 4b foi isolada em 3,23% (1) das amostras, aos 14 dias de maturação em queijo de média umidade, e 6,45% (2) amostras, em queijos com baixa e média umidade aos 28 dias de maturação. Conforme previsto na normativa, este micro-organismo deve estar ausente em 25g do alimento (em queijos de média, alta e muito alta umidade), a presença deste torna o alimento impróprio para consumo humano, sendo um grande perigo a saúde do consumidor.

O período de maturação de 28 dias demonstrou-se sem efetividade para a redução significativa das contagens microbiológicas do período de 14 dias em relação aos parâmetros de conformidade (tabela 6).

Tabela 6 - Efeito do período de maturação na redução de contagem de Coliformes Totais, *Escherichia coli* e *Staphylococcus* coagulase positiva em função de amostras de queijos artesanais em não conformidade microbiológica.

Variável	Período de maturação		P
	14 dias	28 dias	
Coliformes Totais	53,49% (23/43)	46,51% (20/43)	=0,4086
<i>E. coli</i>	48,28% (14/29)	51,72% (15/29)	=0,7991
<i>Staphylococcus</i> coagulase positiva	51,52% (17/33)	48,48% (16/33)	=0,7991

Fonte: Produção do próprio autor, 2014.

Foram avaliadas 31 amostras por período de maturação.

Com isso, controle de qualidade na produção, da obtenção da matéria prima ao armazenamento das amostras, deve ser adotado para prevenir contaminações iniciais do queijo.

Variação significativa foi observada na contagem de coliformes totais, nos percentuais de gordura, proteína e umidade entre os períodos de maturação, conforme demonstrado na tabela 7.

Tabela 7 - Contagem bacteriana e composição dos queijos em função do período de maturação.

Variável	Maturação (dias)		P
	14	28	
Coliformes totais ⁽¹⁾	4,33	3,47	=0,0501
<i>E. coli</i> ⁽¹⁾	2,81	2,43	=0,4750
<i>Staphylococcus</i> coagulase positiva ⁽¹⁾	2,99	2,39	=0,3171
Gordura (%)	28,63	33,47	=0,0008
Proteína (%)	25,32	26,81	=0,0272
Sal (%)	0,87	1,03	=0,0902
Acidez (%)	0,27	0,32	=0,3399
Peso (kg)	1018,52	990,57	=0,7312
Umidade (%)	40,59	36,42	=0,0025

Fonte: Produção do próprio autor, 2014.

Nota: Foram avaliadas 31 amostras por período de maturação.

⁽¹⁾ Logaritmo de base 10/grama.

A redução dos percentuais de umidade ao longo da maturação evidencia a elevação na concentração de gordura e proteína. A redução significativa na contagem de coliformes totais aos 28 dias de maturação justifica-se porque os coliformes competem com as bactérias ácido lácticas no início do período de maturação, porém com o aumento da acidez e diminuição da umidade começam a diminuir. (ORDÓÑES et al, 2005). Em estudo microbiológico, com o queijo artesanal serrano, Melo et al. (2013) observaram resultado semelhante, caracterizado pela redução de coliformes totais ao longo do período de maturação. Contudo, a tabela 6, evidencia que a redução não foi significativa para adequação a níveis de conformidade.

Analisando a característica de produção dos queijos artesanais, na ausência de tratamento térmico, a maturação a partir da combinação de fatores físicos, químicos e microbiológicos, é considerada como uma forma de garantir a inocuidade e qualidade microbiológica de um queijo (PEREIRA et al., 2014). Em concordância, Melo et al. (2013) considera a importância da maturação na redução qualitativa de micro-organismos contaminantes e patogênicos. Brooks *et al.*

(2012) em estudo conduzido nos Estados Unidos da América, avaliaram como satisfatório o período mínimo de 60 dias de maturação para os queijos de leite não pasteurizados para a produção de produtos microbiologicamente seguros naquele país.

Contudo, segundo Perry (2004), por pressão dos próprios consumidores, os produtores acabam vendendo seus queijos com um tempo bem reduzido de maturação. Em estudo de diagnóstico de propriedades produtoras de queijo artesanal serrano em Santa Catarina, os produtores relataram que os consumidores têm preferência por queijos entre 7 a 15 dias de maturação (CORDOVA, 2011). Neste contexto, embora a IN 30, do MAPA (BRASIL, 2013) estabeleça a redução do período de maturação dos queijos artesanais, é evidente a necessidade de matéria prima de qualidade e adoção de boas práticas de fabricação. O processo de maturação deve estar aliado a medidas de sanidade, controle de mastite e boas práticas, já estabelecidas como obrigatoriedade pela IN 30 (BRASIL, 2013) para efetiva redução do período e obtenção de níveis microbiológicos aceitáveis.

3.4 CONCLUSÃO

Considerando a heterogeneidade dos queijos analisados, a frequência de não conformidades em relação a micro-organismos indicadores, a presença de patogênicos e a ineficiência do processo de maturação frente as contaminações dos queijos para adequação a níveis de conformidade, o presente estudo sugere a necessidade de adequação do sistema de produção do queijo artesanal serrano mediante a profissionalização do produtor e adoção de medidas de boas práticas de fabricação.

3.5 REFERÊNCIAS

AMBROSINI, L. B.; FILIPPI, E. E. Sistema agroalimentar do queijo serrano: estratégia de Reprodução social dos pecuaristas familiares no sul do Brasil. In: CONGRESO INTERNACIONAL DE LA RED SIAL, 4., 2008, Mar del Plata, Argentina. **Anais eletrônicos...** Mar del Plata, Argentina, 2008. Disponível em: <<http://www.ufrgs.br/pgdr/arquivos/586.pdf>>. Acesso em: 05 mar. 2014.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria n. 146 de 1996. Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade dos Produtos Lácteos. **Diário Oficial da União**. Disponível em: <<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=1218>>. Acesso em: 02 fev. 2014.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n. 68, de 12 de dezembro de 2006. Métodos analíticos oficiais físico-químicos, para controle de leite e produtos lácteos. **Diário Oficial da União**. Disponível em: <<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=17472>>. Acesso em: 03 fev. 2014.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n. 30, de 07 de agosto de 2013. **Diário Oficial da União**. Disponível em: <http://www.lex.com.br/legis_24684623_INSTRUCAO_NORMATIVA_N_30_DE_7_DE_AGOSTO_DE_2013.aspx>. Acesso em: 03 fev. 2014.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução, RDC n.12, de 2 de janeiro de 2001.

Aprova o regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial da União**. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/12_01rdc.htm>. Acesso em: 17 fev. 2014.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução normativa n. 62, de 26 de agosto de 2003. Oficializa os métodos analíticos para análises microbiológicas para controle de produtos de origem animal e água. **Diário Oficial da União**. Disponível em: <<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=2851>>. Acesso em: 17 fev. 2014.

BROOKS, J. C. et al. Survey of raw milk cheeses for microbiological quality and prevalence of foodborne pathogens. **Food Microbiology**, v. 31, p. 154 – 158, 2012 / DOI10.1016/j.bbr.2011.03.031. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0740002012000792>>. Acesso em: 05 mar. 2014.

CISAMA. Instrução normativa n. 01, de 26 de maio de 2014. Aprova o regulamento técnico de identidade e qualidade do queijo artesanal serrano. **Diário oficial dos municípios de Santa Catarina 2014**.

CÓRDOVA, U.de A. et al., **O queijo artesanal serrano nos campos do Planalto das Araucárias Catarinense**. Florianópolis: Epagri, 2011. 122p.

CRUZ, F. T. da; et al. Queijo artesanal serrano dos campos de cima da serra: o saber – fazer tradicional desafiando a qualidade. In: IV CONGRESO INTERNACIONAL DE LA RED SIAL, 2008, Mar del Plata, Argentina. **Anais eletrônicos...** Mar del Plata, Argentina. Disponível em:

<<http://www.ufrgs.br/pgdr/arquivos/664.pdf>>. Acesso em: 09 fev. 2014.

IDE, L. P. A.; BENEDET, H. D. Contribuição ao conhecimento do queijo colonial produzido na região serrana de Santa Catarina, Brasil. **Ciência e agrotecnologia**, Lavras, v. 25, n. 6, p. 1351 – 1358, 2001. Disponível em: <http://www.editora.ufla.br/_adm/upload/revista/25-6-2001_13.pdf>. Acesso em: 24 set. 2012.

KRONE, E.E.; MENASCHE, R. Identidade e cultura nos campos de cima da Serra (RS): práticas, saberes e modos de vida de pecuaristas familiares produtores do queijo serrano. **Ateliê Geográfico**, Goiânia, v. 4 n. 10, p. 61 – 85, 2010. Disponível em: <<http://www.revistas.ufg.br/index.php/atelie/article/view/9908/6769>>. Acesso em: 24 fev. 2014.

MELO, F. D. et al. Avaliação da inocuidade e qualidade microbiológica do queijo artesanal serrano e sua relação com as variáveis físico químicas e o período de maturação. **Acta Scientiae Veterinariae**, Porto Alegre, v.41. out. 2013. Disponível em: <<http://www.ufrgs.br/actavet/41/PUB%201152.pdf> >. Acesso em: 02 fev. 2014.

ORDÓÑEZ, J. A. et al. **Tecnologia de alimentos: alimentos de origem animal**. Porto Alegre: Artmed, 2005.

PEREIRA, B. P. et al. Implicações do processo produtivo na qualidade do queijo artesanal Serrano. **REGET**, v. 18, Ed. Especial Mai. 2014. Disponível em: <<http://cascavel.ufsm.br/revistas/ojs2.2.2/index.php/reget/articloe/view/13183>> Acesso em: 03 de jul. 2014.

PERRY, K. S. P. Queijos: aspectos químicos, bioquímicos e microbiológicos. **Química Nova**, São Paulo, v. 27, n. 2, 2004. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/qn/v27n2/19276.pdf>>. Acesso em: 10 mar. 2014.

SAMPAIO, I. B. M. **Estatística aplicada à experimentação animal**. Belo Horizonte: Fundação de Ensino e Pesquisa em Medicina Veterinária e Zootecnia, 1998.

SAS Institute. **SAS/STAT**. Guide for personal computers. Cary, 1v. 2002.

SILVA, N. da et al. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimento e água**. São Paulo: Varela, 2010.

SOUZA, C. P. de. Segurança alimentar e doenças veiculadas por alimentos: utilização do grupo coliforme como um dos indicadores de qualidade de alimentos. **Revista de Atenção Primária a Saúde**, Juiz de Fora, v.9, n.1, 2006. Disponível em: <<http://www.ufjf.br/nates/files/2009/12/Seguranca.pdf>>. Acesso em 03 mar. 2014.

ZAFFARI, C. B.; MELLO, J. F.; COSTA, M. Qualidade bacteriológica de queijos artesanais comercializados em estradas do litoral norte do Rio Grande do Sul, Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 37, n. 003, 2007. Disponível em: <<http://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/22256/000607652.pdf?sequence=1>>. Acesso em: 02 mar. 2014.

4 QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DA ÁGUA E DO LEITE UTILIZADOS NA FABRICAÇÃO DO QUEIJO ARTESANAL SERRANO EM SANTA CATARINA

RESUMO

O queijo artesanal serrano é um produto típico dos campos de altitude dos estados de Santa Catarina e do Rio Grande do Sul, tendo como principal característica na fabricação a utilização do leite cru de bovinos. Com isso, a obtenção higiênica da matéria-prima e a utilização de boas práticas de fabricação são fundamentais para adequação do produto final. Dessa, forma, a avaliação da qualidade microbiológica fornece informações referentes às características higiênicas de produção e tempo de prateleira do produto. Neste contexto, o presente estudo objetivou determinar o efeito da contaminação microbiológica da água utilizada nas propriedades e do leite empregado na fabricação do queijo artesanal Serrano produzido com diferentes períodos de maturação, em 31 propriedades rurais pertencentes à Associação de Produtores de Queijo Artesanal Serrano da Serra Catarinense, por meio da contagem de Coliformes totais, *Escherichia coli* e *Staphylococcus coagulase positiva*, e análise de correspondência de fatores adotados na produção, submetidos às análises estatísticas multivariadas e univariadas realizadas no *software SAS*[®]. Os resultados obtidos demonstraram que a qualidade microbiológica da água não teve efeito direto na qualidade do leite e dos queijos. Contudo, a qualidade da matéria prima demonstrou ser essencial para obtenção de um produto em conformidade e, que contaminações durante o processo de produção e maturação apresentam efeito direto na qualidade do produto maturado no maior intervalo de tempo analisado. Com isso, a adoção de medidas de boas práticas agropecuárias e de fabricação é fundamental para reduzir as contagens dos micro-organismos

com a finalidade de obter alimentos em conformidade e seguros para o consumidor.

Palavras - chave: Coliformes totais; *Escherichia coli*; *Staphylococcus coagulase positiva*.

ABSTRACT

The serrano handmade cheese is a typical product from the altitude high in the states of Santa Catarina and Rio Grande do Sul, the main feature in making the use of raw milk from cattle. With this, the hygienic obtaining the raw materials and the use of good manufacturing practices are fundamental the adequacy of the final product. In this way, the evaluation of the microbiological quality of the sanitary provides information regarding output characteristics and product shelf life. In this context, the present study aimed to determine the effect of microbiological contamination of water used and the properties of the milk used in the manufacture of serrano handmade cheese produced with different stages of maturation in 31 rural properties from Santa Catarina, by count total coliforms, count *Escherichia coli* and *Staphylococcus coagulase positive*, and correspondence analysis for factors adopted in production, subjected to univariate and multivariate statistical analyzes performed by SAS ® software. The results showed that the microbiological quality of water had no direct effect on the quality of milk and cheeses. However, the quality of the raw material was shown to be essential for obtaining a product in accordance with and that contamination during production and maturation have a direct effect on the quality of the matured longer time interval analysed. With this, the adoption of measures of good agricultural and manufacturing practices is key to reducing the counts of micro-organisms in order to get food accordingly and safe for the consumer.

Key words: total coliforms; *Escherichia coli*; *Staphylococcus* coagulase positive.

4.1 INTRODUÇÃO

O queijo artesanal serrano é um produto típico dos campos de altitude dos estados de Santa Catarina e do Rio Grande do Sul. Tendo como principal característica na fabricação a utilização do leite cru de bovinos, em sua maioria raças de corte e mista (CÓRDOVA et al., 2011; CRUZ et al., 2008; KRONE; MENASCHE, 2010). A fabricação de forma artesanal inicia logo após a ordenha com a filtragem, coagulação, corte da coalhada, adição de água quente, salga, dessoragem, enformagem, prensagem, cura, embalagem e armazenamento (CÓRDOVA et al., 2011).

A produção necessita seguir normas rigorosas de higiene, pois condições sanitárias inadequadas adotadas no rebanho, controle de qualidade deficiente na obtenção da matéria prima, no seu beneficiamento e estocagem, podem resultar em um produto não conforme e em risco de infecções e intoxicações aos consumidores. Além destes fatores, os micro-organismos contaminantes podem ocasionar alterações físico-químicas e sensoriais no produto influenciando na eficiência dos processos utilizados no seu beneficiamento (ZAFFARI; MELLO; COSTA; 2007).

Com isso, a avaliação de qualidade microbiológica fornece informações que permitem avaliar o alimento quanto às condições de processamento, armazenamento e distribuição para o consumo, como também, sua vida útil e o risco a saúde do consumidor (FRANCO; LANDGRAF, 2008).

Neste contexto, o presente estudo objetivou determinar o efeito da contaminação microbiológica da água utilizada nas propriedades e do leite empregado na fabricação do queijo artesanal Serrano produzido com diferentes períodos de maturação, em propriedades rurais pertencentes à Associação

de Produtores de Queijo Artesanal Serrano da Serra Catarinense.

4.2 MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi realizada em 31 propriedades rurais pertencentes à Associação de Produtores de Queijo Artesanal Serrano da Serra Catarinense, nas quais foram coletadas amostras de água, leite e queijos com 14 e 28 dias de maturação, totalizando 124 amostras.

Quantificação de Coliformes totais, *Escherichia coli* e *Staphylococcus* coagulase positiva foram realizadas no Centro de Diagnóstico Microbiológico Animal (CEDIMA) do Centro de Ciências Agroveterinárias (CAV) da Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC) em Lages SC. As amostras de água foram coletadas assepticamente em frascos estéreis identificados, acondicionadas em caixas isotérmicas refrigeradas e encaminhadas ao CEDIMA.

O leite proveniente da mistura das ordenhas da propriedade, que originou os queijos analisados, foi coletado assepticamente em frascos estéreis de 80 mL. As amostras foram identificadas e acondicionadas em caixas isotérmicas refrigeradas para o transporte até o laboratório CEDIMA. Os queijos foram embalados em papel craft identificados e acondicionados em caixas isotérmicas para o transporte até o laboratório, aos 14 e 28 dias de maturação. Após pesagem, foi removida assepticamente a parte externa dos queijos, obtendo amostras de 25g da parte interna de cada queijo. Do leite e da água foram pipetados assepticamente 25mL para as análises bacteriológicas.

A estas amostras foram adicionados 225 mL de água peptonada tamponada 1% (APT) estéril e homogeneizadas em *Stomacher*^{ITR} por dois minutos. As diluições foram realizadas em tubos contendo 9,0 mL de solução salina (0,85%) estéril, para contagem de Coliformes totais, *Escherichia coli* e

Staphylococcus coagulase positiva. Logo depois de homogeneizadas, foram submetidas aos protocolos de identificação e quantificação descritos por Silva *et al* (2010).

Para identificação e quantificação de Coliformes totais e *E. coli* utilizou-se o sistema *Petriefilm*TM, método oficial da *Association of Analytical Communities* (AOAC) nº 991.14 (SILVA *et al.*, 2010). O resultado foi obtido por contagem das colônias e expressos em UFC/g de acordo com a diluição.

A identificação e quantificação de *Staphylococcus* coagulase positiva foram realizadas segundo a Instrução normativa nº 62 do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2003). O resultado foi expresso após cálculo de confirmação de colônias típicas.

Para o diagnóstico da propriedade e identificação de fatores associados à contaminação da água, do leite e dos queijos foi aplicado um questionário estruturado aos produtores, aprovado conforme parecer consubstanciado número 668.377 do Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos, da UDESC, por meio da Plataforma Brasil, Ministério da Saúde.

Para a realização da análise estatística as variáveis microbiológicas da água, do leite, dos queijos com 14 e 28 dias de maturação, foram transformadas em logaritmo (\log_{10}), para obter normalidade dos dados.

Os dados foram submetidos às análises estatísticas univariadas e multivariadas realizadas no *software* SAS[®] (SAS Institute, 2002). Para determinação do efeito da qualidade da água sobre a qualidade do leite, deste sobre a qualidade do queijo, e entre os período de maturação foi realizada regressão linear. Utilizou-se nível de significância menor que 5%, considerando a tendência de 5-10% para variáveis microbiológicas. Para a realização das análises, os dados foram previamente padronizados pelo procedimento STANDARD. A análise fatorial foi realizada utilizando o procedimento FACTOR, com rotação Promax.

Análise de correspondência múltipla foi realizada com conjunto de dados, constituído das análises microbiológicas de água, leite, queijo e questionário aplicado nas propriedades. As variáveis numéricas foram classificadas como baixa e alta. Os limiares foram adotados com base na média, priorizando a homogeneidade do número de observações para cada classe formada, sendo considerado: 37 % para a umidade do queijo, coliforme total 4,4 no leite e 3,9 no queijo, *E. coli* 0,6 no leite e 2,6 no queijo, *Staphylococcus* coagulase positiva 3,0 no leite e 2,7 no queijo.

As variáveis do questionário utilizadas foram higiene dos equipamentos e utensílios (uso de água e detergente ou uso de água, detergente e hipoclorito), produção de queijo inspecionada, local de produção (anexo à casa, anexo à ordenha, queijaria) e maturação dos queijos (área interna, área externa, sala de cura), utilização de boas práticas de fabricação, material das formas de produção (aço inoxidável - INOX, policloreto de vinil - PVC, madeira) e das prateleiras de maturação (fórmica, madeira e outros), e utilização de tela de proteção nas janelas.

4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Observou-se variação na contagem de Coliformes totais e *E. coli* na água, e na contagem de Coliformes totais, *E. coli* e *Staphylococcus* coagulase positiva no leite e nos queijos aos 14 e 28 dias de maturação (Tabela 8). Tais observações demonstram heterogeneidade das amostras em relação à contaminação por estes micro-organismos, justificada devido à diversidade das propriedades em fatores como: a adoção de procedimentos que favorecem condições higiênicas, estruturas de ordenha e fabricação dos queijos, influência de fatores intrínsecos e extrínsecos e dos materiais utilizados na fabricação.

Tabela 8 - Contagem bacteriana da água, do leite e dos queijos maturados aos 14 e 28 dias de propriedades rurais do estado de Santa Catarina.

Variável	Mínimo	Média	Máximo	DP
----- Água (UFC/mL) -----				
Coliformes totais	0	$9,3 \times 10^3$	$2,9 \times 10^5$	$5,2 \times 10^4$
<i>E. coli</i>	0	$0,03 \times 10^0$	1×10^0	$0,18 \times 10^0$
----- Leite (UFC/mL) -----				
Coliformes totais	0	$3,1 \times 10^7$	5×10^8	1×10^8
<i>E. coli</i>	0	$9,7 \times 10^3$	2×10^5	4×10^4
<i>Staphylococcus</i> coagulase positiva	0	$2,2 \times 10^5$	$3,3 \times 10^6$	$6,3 \times 10^5$
----- Queijo 14 (UFC/g) -----				
Coliformes totais	0	$4,1 \times 10^5$	4×10^6	$8,5 \times 10^5$
<i>E. coli</i>	0	$1,5 \times 10^5$	2×10^6	$4,3 \times 10^5$
<i>Staphylococcus</i> coagulase positiva	0	2×10^5	$2,5 \times 10^6$	$5,0 \times 10^5$
----- Queijo 28 (UFC/g) -----				
Coliformes totais	0	$1,4 \times 10^5$	$2,6 \times 10^6$	$5,0 \times 10^5$
<i>E. coli</i>	0	7×10^4	1×10^6	$2,3 \times 10^5$
<i>Staphylococcus</i> coagulase positiva	0	$7,3 \times 10^4$	1×10^6	$2,2 \times 10^5$

Fonte: Produção do próprio autor, 2014.

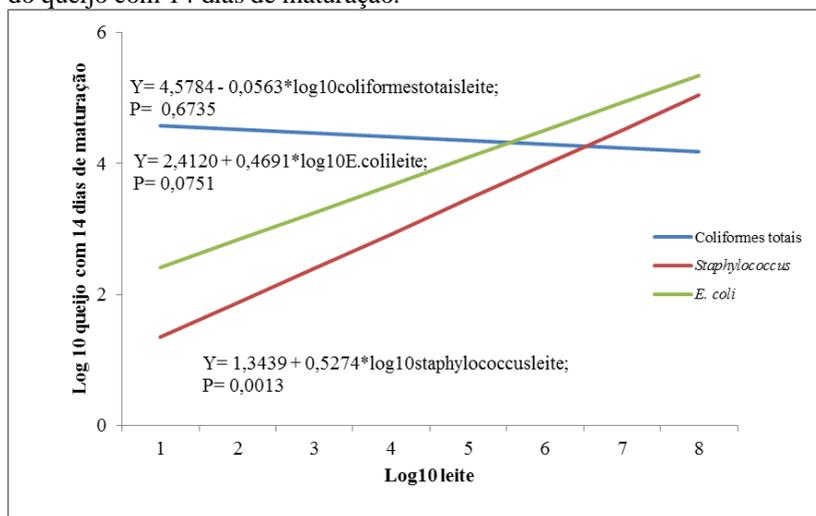
Nota: Foram avaliadas 31 amostras de água, leite e queijo aos 14 e 28 dias de maturação.

Amostras de água em não conformidade em relação a presença de coliformes totais totalizaram 41,94% (13) e em relação a presença de *E. coli* 3,23% (1). A qualidade microbiológica do leite e dos queijos nos estágios de 14 e 28 dias de maturação não foi influenciada pela contagem de coliformes totais e de *E. coli* presentes na água das propriedades analisadas. Conforme padrão de potabilidade da água tratada para consumo humano determina-se a ausência de coliformes termotolerantes e totais em 100 mL da amostra analisada (BRASIL, 2011). E nos estabelecimentos de produtos de origem animal destinados à alimentação humana, é considerada fundamental, a realização de exame da água de abastecimentos, que deve se enquadrar nos padrões

microbiológicos e químicos previstos pela normativa (BRASIL, 1997).

A contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva no leite apresentou efeito significativo sobre a qualidade do queijo com 14 dias de maturação (figura 1), evidenciando uma relação direta, ou seja, a contagem deste micro-organismo no leite está diretamente ligada a sua contagem no queijo aos 14 dias de maturação. A contagem de Coliformes totais e *E. coli* não apresentou efeito significativo para este parâmetro.

Figura 1 - Qualidade microbiológica do leite e sua influência na qualidade do queijo com 14 dias de maturação.



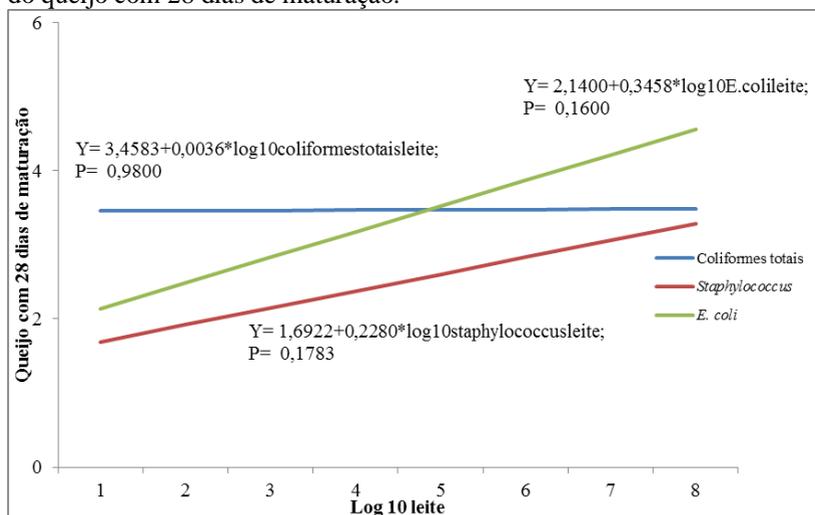
Fonte: Produção do próprio autor, 2014.

Dessa forma ressalta-se a necessidade de utilização de matéria prima de qualidade para a fabricação dos queijos, e adoção de boas práticas agropecuárias, principalmente na higiene da ordenha. Considerando o processo de fabricação dos queijos, esta observação é explicada pela capacidade de sobrevivência e crescimento de bactérias do gênero *Staphylococcus* sp. em concentração de cloreto de sódio de até 10% a 20% e em alimentos com valores de atividade de água inferiores ao normalmente considerados mínimos para outras

bactérias halófilas. Nestas condições incluem-se alimentos curados, como o queijo artesanal serrano (FRANCO; LANDGRAF, 2005; SANTANA et al. 2010). Na produção do queijo artesanal serrano a concentração de sal adicionada varia entre 1 a 5% por litro de leite (CÓRDOVA et al., 2011).

A qualidade microbiológica do leite não influenciou significativamente a qualidade do queijo com 28 dias de maturação (figura 2). Neste contexto, pode-se afirmar que neste período a maturação demonstrou efetividade na redução de contaminações microbiológicas adquiridas na ordenha.

Figura 2 - Qualidade microbiológica do leite e sua influência na qualidade do queijo com 28 dias de maturação.



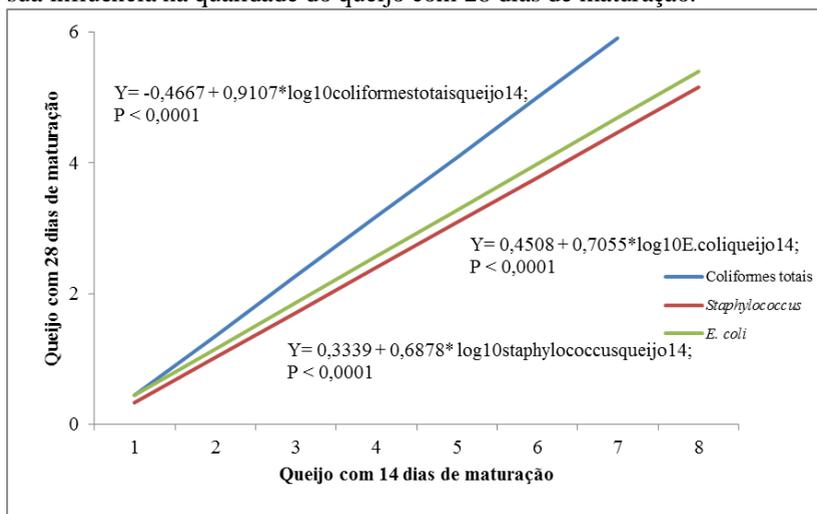
Fonte: Produção do próprio autor, 2014.

Entretanto, observou-se que a contagem microbiológica do queijo com 14 dias de maturação influenciou significativamente a qualidade microbiológica do queijo com 28 dias de maturação (Figura 3).

Dessa forma, a contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva, Coliformes totais e *E. coli* nos queijos aos 14 dias de maturação apresentou uma relação direta com a concentração destes micro-organismos nos queijos aos 28 dias de maturação.

Com isso, o tempo de maturação não garante a qualidade microbiológica, pois contaminações durante o processo de produção e maturação repercutiram na qualidade dos queijos no segundo estágio de maturação avaliado. Desta forma, comprova-se a necessidade da adoção de boas práticas de fabricação para minimizar os riscos de contaminação durante o processamento e a não conformidade do produto final.

Figura 3 - Qualidade microbiológica do queijo com 14 dias de maturação e sua influência na qualidade do queijo com 28 dias de maturação.



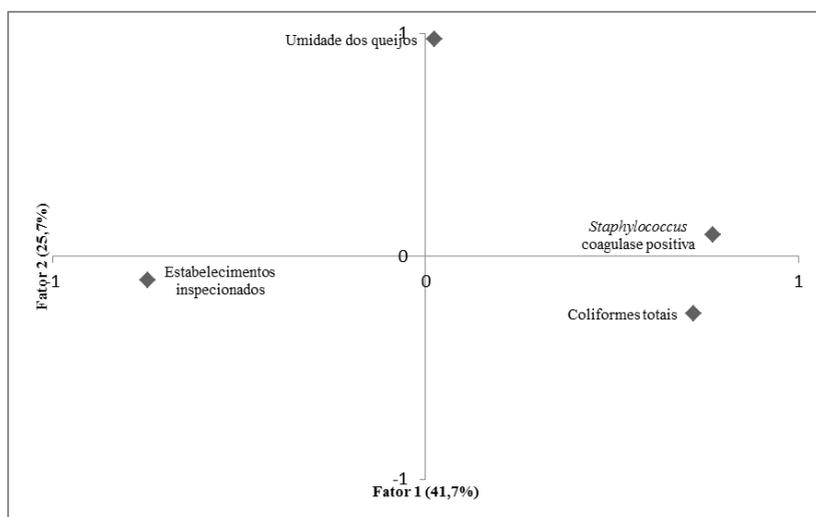
Fonte: Produção do próprio autor, 2014.

Dessa maneira, isoladamente o processo de maturação não deve ser utilizado como garantia da qualidade, através da redução da contagem dos micro-organismos, pois contagens iniciais no leite apresentam efeito sobre a contaminação dos queijos no primeiro estágio de maturação estudado, bem como, a contaminação durante o processo de produção e maturação dos queijos tem efeito direto sobre o produto maturado no maior intervalo de tempo.

Na análise fatorial a qualidade microbiológica dos queijos, a umidade e a inspeção nos estabelecimentos explicaram 67,4% da variância total nos dois primeiros fatores.

A relação entre as variáveis que compõem cada fator é apresentada na figura 4, sendo que o primeiro fator compreende a relação negativa de estabelecimentos inspecionados com coliformes totais e *Staphylococcus* coagulase positiva, representada pela dispersão oposta das cargas fatoriais. Os estabelecimentos registrados no serviço oficial de inspeção apresentam qualidade microbiológica dos queijos. O segundo fator é representado pela umidade dos queijos, a qual não possui relação com as demais variáveis.

Figura 4 - Dispersão das cargas fatoriais da qualidade microbiológica dos queijos, a umidade e a inspeção nos estabelecimentos.



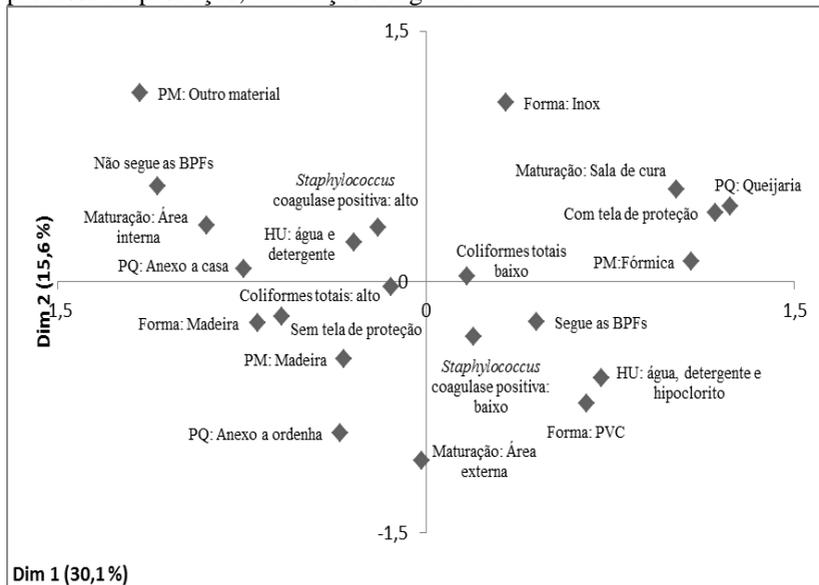
Fonte: Produção do próprio autor, 2014.

Estabelecimentos com registro no serviço de inspeção oficial apresentam obrigatoriamente em quesitos de estruturas e equipamentos apropriados, com fluxograma de produção, controle de qualidade e fiscalização (BRASIL, 1952). Tais fatores refletem na baixa contaminação dos queijos, comprovando a necessidade de adequações das propriedades aos parâmetros estabelecidos pelas normativas vigentes.

Na análise de correspondência múltipla dos dados de qualidade microbiológica do queijo, e o processo de produção e

maturação (Figura 5) as dimensões 1 e 2 explicam 45,7% da variação total.

Figura 5 - Correspondência entre qualidade microbiológica dos queijos e o processo de produção, maturação e higiene.



Fonte: Produção do próprio autor, 2014.

Legenda: BPFs= boas práticas de fabricação; HU= higiene dos utensílios; PM= prateleira de maturação; PQ= produção de queijo.

A análise de correspondência evidencia a baixa contagem de coliformes totais relacionada a propriedades com infraestrutura adequada de produção como, por exemplo; constituídas de queijaria, sala de maturação, utilização de prateleiras de maturação de fôrmica e formas para a produção de queijo de INOX. Estes fatores refletem nas condições higiênico sanitárias do estabelecimento e conseqüentemente na redução de contaminações durante o processo de produção e maturação

O material utilizado em formas e prateleiras de maturação apresentou correspondência com os níveis de contaminação dos queijos. Formas e prateleiras de madeira refletiram em maiores contaminações dos queijos, comparadas

a formas de PVC e inox, e prateleiras de fórmica. Conforme prevê a regulamentação vigente, as superfícies dos equipamentos, móveis e utensílios utilizados na fabricação de alimentos, devem ser atóxicas, inodoras, lisas, impermeáveis, laváveis e estar isentas de rugosidades, frestas e outras imperfeições que possam comprometer a higienização dos mesmos. Orientando também para evitar o uso de madeira e outros materiais de difícil higienização, a menos que se certifique que o emprego destes não será uma fonte de contaminação (BRASIL, 1997; BRASIL 2004).

A higienização abrange a limpeza e desinfecção dos utensílios utilizados na fabricação de alimentos, com a finalidade de remover sujidades e resíduos, e reduzir, por método físico e ou agente químico, o número de micro-organismos a um nível que não comprometa a segurança do alimento (SILVA, 2010). A sanitização com hipoclorito de sódio correspondeu a baixos níveis de contaminação, de *Staphylococcus* coagulase positiva quando comparada a ausência deste. Na ausência de saneantes os produtores usavam somente água e detergente neutro (tensoativos), considerando a ação dos produtos, os detergentes somente auxiliam na remoção dos resíduos, já os desinfetantes tem ação bactericida, evidenciando os resultados encontrados.

4.4 CONCLUSÃO

Conforme os resultados obtidos, conclui-se que a qualidade da matéria prima é essencial para obtenção de um produto em conformidade e que contaminações durante o processo de produção e maturação apresentam efeito direto na qualidade do produto final. Com isso, adoção de medidas de boas práticas agropecuárias e de fabricação é fundamental para reduzir as contagens dos micro-organismos com a finalidade de obter alimentos em conformidade e seguros para o consumidor.

Neste contexto, o processo de maturação deve estar aliado á medidas higiênicas para efetividade.

4.5 REFERÊNCIAS

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Decreto n. 30.691 de 1952. Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal. **Diário Oficial da União**. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/file/Aniamal/Merca doInterno/Requisitos/RegulamentoInspecaoIndustrial.pdf>. Acesso em: 02 fev. 2014.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução normativa n. 62, de 26 de agosto de 2003. Oficializa os métodos analíticos para análises microbiológicas para controle de produtosde origem animal e água. **Diário Oficial da União**. Disponível em: <<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=2851>>. Acesso em: 17 fev. 2014.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução, RDC n. 216, de 15 de setembro de 2004. Dispõe sobre Regulamento Técnico de Boas Práticas para Serviços de Alimentação. **Diário Oficial da União**. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/4a3b680040bf8cdd8e5dbf1b0133649b/RESOLU%C3%87%C3%83O-RDC+N+216+DE+15+DE+SETEMBRO+DE+2004.pdf?MOD=AJPERES>>. Acesso em: 17 fev. 2014.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria, n. 2914 de 12 de dezembro de 2011. Dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. **Diário Oficial da União**.

Disponível em:

<http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm./2011/prt2914_12_12_2011.html>. Acesso em: 05 fev. 2014.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria n. 368, de 04 de setembro de 1997. Regulamento Técnico sobre as condições Higiênico-Sanitárias e de Boas Práticas de Fabricação para Estabelecimentos

Elaboradores/Industrializadores de Alimentos. **Diário Oficial da União**. Disponível em:

<<http://sistemasweb.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=gravarAtoPDF&tipo=POR&numeroAto=00000368&seqAto=000&valorAno=1997&orgao=MAA&codTipo=&desItem=&desItemFim=>>>. Acesso em: 04 fev. 2014.

CÓRDOVA, U.de A. et al., **O queijo artesanal serrano nos campos do planalto das araucárias Catarinense**.

Florianópolis: Epagri, 2011..

CRUZ, F. T. da; et al. Queijo artesanal serrano dos campos de cima da serra: o saber – fazer tradicional desafiando a qualidade. In: IV CONGRESSO INTERNACIONAL DE LA RED SIAL, 2008, Mar del Plata, Argentina. **Anais eletrônicos...** Mar del Plata, Argentina. Disponível em:

<<http://www.ufrgs.br/pgdr/arquivos/664.pdf>>. Acesso em: 09 fev. 2014.

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

KRONE, E.E.; MENASCHE, R. Identidade e cultura nos campos de cima da serra (RS): práticas, saberes e modos de vida de pecuaristas familiares produtores do queijo serrano. **Ateliê Geográfico**, Goiânia, v. 4 n. 10, 2010. Disponível em: <<http://www.revistas.ufg.br/index.php/atelie/article/view/9908/6769>>. Acesso em: 24 fev. 2014.

ORDÓÑEZ, J. A. et al. **Tecnologia de Alimentos: Alimentos de Origem Animal**. Porto Alegre: Artmed, 2005.

SANTANA, E.H.W. et al. Estafilococos em alimentos. **Arquivo do Instituto Biológico**, São Paulo, v.77, n.3, 2010. Disponível em: <http://www.biologico.sp.gov.br/docs/arq/v77_3/santana.pdf>. Acesso em: 02 fev. 2014.

SAS Institute. **SAS/STAT**. Guide for personal computers. Cary, 1v. 2002.

SILVA, G. et al. **Higiene na indústria de alimentos**. Recife: EDUFRPE, 2010.

SILVA, N. da et al. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimento e água**. São Paulo: Varela, 2010.

ZAFFARI, C. B.; MELLO, J. F.; COSTA, M. Qualidade bacteriológica de queijos artesanais comercializados em estradas do litoral norte do Rio Grande do Sul, Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 37, n. 003, 2007. Disponível em: <<http://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/22256/000607652.pdf?sequence=1>>. Acesso em: 02 mar. 2014.

5 QUALIDADE DO LEITE UTILIZADO PARA A FABRICAÇÃO DO QUEIJO ARTESANAL SERRANO EM SANTA CATARINA

RESUMO

A qualidade do leite utilizado como matéria-prima é essencial para garantir a qualidade dos produtos derivados. A produção do queijo artesanal serrano, produto típico da região serrana dos estados de Santa Catarina e Rio Grande do Sul, tem a utilização do leite cru de bovinos como principal característica de fabricação. Com isto, o presente trabalho objetivou caracterizar os componentes e qualidade microbiológica do leite através da avaliação da composição, CBT e CCS e correspondência de fatores de produção em 31 propriedades rurais produtoras do queijo artesanal na serra Catarinense. Os dados foram submetidos à análise estatística univariada e multivariada realizadas no *software* SAS[®]. Os dados obtidos de teor percentual de gordura, CBT e CCS apresentaram variação em relação à média, demonstrando a heterogeneidade das amostras. Analisando a média dos resultados, somente os valores de CBT apresentaram-se acima dos limites dispostos pela normativa. Destacando-se os altos valores máximos de CBT e CCS encontrados no leite de algumas propriedades. E através da análise de correspondência, constatou-se que adoção de medidas e procedimentos higiênicos e propriedades estruturadas adequadamente influenciaram na redução de CBT e CCS. Considerando a qualidade do leite utilizado como matéria-prima para a fabricação de queijos, os resultados obtidos demonstram a necessidade de adequação de medidas de boas práticas visando à redução de contaminação do leite e prevenção e controle de mastites.

Palavras - chave: contagem de células somáticas; contagem bacteriana total; boas práticas.

ABSTRACT

The quality of the milk used as raw material is essential to ensure the quality of products. The production of handmade cheese serrano, typical product from the serrana region of the states of Santa Catarina and Rio Grande do Sul, is the use of raw cattle milk as this main characteristic of manufacturing. The present study aimed to characterize the components and microbiological quality of milk by assessing the composition, TBC and SCC and matching production factors in 31 rural properties handmade cheese producers in the hills of Santa Catarina. Data were subjected to univariate and multivariate statistical analysis performed in SAS ® software. Data from fat percentage, TBC and SCC content showed variation from the average, demonstrating the heterogeneity of the samples. Analyzing the results averaged, only the TBC values were above the limits established by law. Highlighting the high peak values of TBC and SCC found in the milk of some properties. And through correspondence analysis, it was found that adoption of hygienic measures and procedures and properly structured properties influenced the reduction of TBC and SCC. Considering the quality of the milk used as raw material for the manufacture of cheese, the results demonstrate the need for adaptation of best practice measures aimed at reducing contamination of milk and prevention and control of mastitis.

Key - words: somatic cell count; total bacterial count; good practice.

5.1 INTRODUÇÃO

O leite é o produto oriundo da ordenha completa e higiênica de vacas sadias, e bem alimentadas (BRASIL, 2011). Quanto ao aspecto físico-químico, é composto por inúmeras substâncias entre estas: lactose, glicerídeos, proteínas, sais,

vitaminas e enzimas, sendo a gordura, o componente mais variável entre as espécies e raças e a lactose o mais abundante. A coagulação da caseína, proteína do leite, é a base para a indústria de queijos (ORDÓÑEZ et al., 2005). Devido a sua composição nutricional é considerado um alimento completo, o que o torna também um excelente substrato para o crescimento de micro-organismos (PEREIRA et al., 2014).

O controle de qualidade do leite utilizado como matéria-prima é fundamental para garantir a qualidade dos produtos derivados (VIOTTO; CUNHA, 2006). Do ponto de vista microbiológico a produção é o primeiro ponto crítico de controle no processamento de produtos lácteos. A qualidade do leite cru é influenciada por fatores zootécnicos tais como: manejo, alimentação e potencial genético do rebanho, que são responsáveis pelas características de composição do leite e produtividade; e a fatores relacionados à obtenção do leite destacando a qualidade microbiológica, especialmente da ordenha (GERMANO; GERMANO, 2011).

Segundo Pereira et al. (2014) o baixo número de micro-organismos é critério indicativo da qualidade higiênica do leite cru. Os micro-organismos podem ter origem no interior da glândula mamária, em casos de mastite, no exterior do úbere, advindos da microbiota normal ou contaminações, e nos equipamentos utilizados na ordenha devido à sanitização deficiente.

A mastite, inflamação da glândula mamária, destaca-se entre os principais problemas que afetam a produção de leite, causando alterações significativas na composição e aumento na contagem de células somáticas (CCS). Estas células estão presentes normalmente no leite, contudo, durante a evolução da mastite e resposta imunológica tem-se o aumento de CCS na glândula mamária. Tais fatores resultam em perdas no rendimento industrial e diminuição do tempo de prateleira (GERMANO; GERMANO, 2011). Desta forma, a contagem bacteriana total (CBT) é uma medida direta de contaminação

do leite por micro-organismos e a CCS é uma medida indireta de inflamação ou infecção da glândula mamária (SCHAIK et al., 2005).

Na produção de queijos com leite cru, a fermentação da lactose é realizada por bactérias lácticas autóctones, sendo assim todos os micro-organismos presentes no leite passam à coalhada e participam dos fenômenos bioquímicos que ocorrem durante a maturação (ORDÓÑEZ et al., 2005). Neste contexto, tem-se a produção do queijo artesanal serrano, produto típico da região serrana dos estados de Santa Catarina e Rio Grande do Sul, com a utilização do leite cru de bovinos como principal característica de fabricação (CÓRDOVA et al., 2011; PEREIRA et al., 2014).

Em virtude da escassez de estudos e a relevância da qualidade da matéria prima utilizada para a produção do queijo artesanal serrano, o presente trabalho objetivou caracterizar a qualidade do leite por meio da avaliação da composição, CBT e CCS e correspondência de fatores associados à contaminação do leite e sanidade do rebanho.

5.2 MATERIAL E MÉTODOS

Amostras de leite de trinta e uma propriedades rurais, pertencentes à Associação de Produtores de Queijo Artesanal Serrano da Serra Catarinense, foram coletadas para análises. A região Serrana Catarinense compreende 18 municípios, sendo Anita Garibaldi, Bocaina do Sul, Bom Jardim da Serra, Bom Retiro, Campo Belo do Sul, Capão Alto, Cerro Negro Correia Pinto, Lages, Otacílio Costa, Paineira, Palmeira, Ponte Alta, Rio Rufino, São Joaquim, São José do Cerrito, Urubici e Urupema.

O leite de conjunto utilizado como matéria-prima na produção de queijos foi analisado por produtor. Foi coletado assepticamente em dois frascos estéreis contendo os conservantes azidiol e bronopol para as análises de CBT e CCS respectivamente, totalizando a quantidade de 100 mL. As

amostras foram identificadas, acondicionadas em caixas isotérmicas refrigeradas e transportadas até o Laboratório Estadual de Qualidade do Leite em Concórdia SC.

A determinação de percentagem de gordura, proteína, lactose, extrato seco total (EST) e extrato seco desengordurado (ESD) foram realizadas através de método infravermelho, segundo Internacional IDF Standart 141C: 2000; CBT através do método citometria de fluxo, segundo Internacional IDF Standart 196:2004 e CCS através do método citometria de fluxo, segundo Internacional IDF Standart 148-2:2006.

Foi aplicado um questionário estruturado aos produtores (Apêndice A), em forma de entrevista, para o diagnóstico da propriedade e para identificação de fatores associados à contaminação do leite, após aprovação por meio do parecer consubstanciado número 668.377 do Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos, da UDESC, através da Plataforma Brasil, Ministério da Saúde.

Os resultados foram avaliados através dos requisitos microbiológicos, físicos, químicos e de CCS para leite cru refrigerado estabelecidos através da Instrução Normativa nº 62, de 29 de dezembro de 2011, do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2011) e através do Decreto n. 30.691 de 1952 que estabelece o Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (BRASIL, 1952).

Os dados foram submetidos às análises estatísticas univariadas e multivariadas realizadas no *software* SAS[®] (SAS Institute, 2002). Para as variáveis de composição de leite, CBT e CCS foram realizadas a análise descritiva e de conformidade, por regressão logística. Para a análise de correspondência múltipla as variáveis, CCS e CBT do leite foram transformadas em logaritmo (\log_{10}) para obter normalidade dos dados.

A análise de correspondência múltipla foi realizada com conjunto completo dos dados coletados, constituído da composição de leite, CBT, CCS e questionário aplicado nas

propriedades. As variáveis numéricas foram classificadas como baixa e alta. Os limiares foram adotados com base na média, priorizando a homogeneidade do número de observações para cada classe formada, sendo considerado: 100 litros para a produção de leite, 2,4 para escore de células somática, 2,3 para contagem bacteriana total. As variáveis do questionário utilizadas foram: raças predominantes no rebanho (misto, constituído por raças com aptidões de corte e leite e leiteiro, constituído exclusivamente por raças com aptidão para a produção de leite), sistema de ordenha (manual ou mecânica), vacas mantidas com ou sem terneiros ao pé, estrutura de sala de ordenha (piso de concreto ou chão batido, estrutura de madeira ou alvenaria), ponto de água corrente na sala de ordenha, práticas de manejo de higiene na ordenha (pré e pós-dipping, secagem dos tetos), controle de mastite (California Mastitis Test - CMT e teste da caneca de fundo escuro) e realização periódica de análise do leite.

5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com a coleta de dados via questionário foi possível verificar que entre as propriedades avaliadas 43,34% apresentaram rebanho composto exclusivamente por raças com aptidão para a produção de leite, e destas 46,15% constituíam-se unicamente pela raça Jersey. As propriedades que apresentaram rebanhos mistos compreenderam 56,66% do total. Tal constatação contrapõe-se ao estudo realizado por Krone e Menache (2010) relatando que a ordenha tradicional com animais de corte, remonta ao saber fazer histórico e cultural do queijo artesanal serrano transmitido entre gerações, sendo poucos produtores que apresentam rebanhos mistos ou com aptidão leiteira.

Contudo, reitera o relato dos mesmos autores que novos produtores de queijo estão baseados em sistema típico leiteiro, no qual há a utilização de animais especializados na produção

de leite e alimentados com uso intensivo de ração e pastagens exóticas, em contradição ao sistema tradicional. Concordando com a forma tradicional de produção, Ambrosini e Filippi (2008) afirmam que o diferencial do queijo artesanal serrano é a utilização de cruzamentos de raças bovinas não especializadas na produção de leite e sim na produção de carne, pois objetiva-se lucro com a venda dos bezerros.

Desta forma, pode-se avaliar uma mudança no sistema de produção tradicional na região, com a presumível justificativa, de aumento da produção de leite e produção anual de queijos com consequente incremento econômico nas propriedades.

De acordo com a tabela 8, houve alta variação do desvio padrão no percentual de gordura, contagem de células somáticas e contagem bacteriana total em relação à média, demonstrando heterogeneidade das amostras em relação a estes teores. Em relação à média dos componentes dos leites das propriedades somente os valores de CBT apresentaram-se acima dos limites dispostos pela normativa, os demais teores as médias apresentaram-se dentro dos limites de conformidade.

Tabela 9 - Composição, contagem de células somáticas e contagem bacteriana total do leite de propriedades rurais do estado de Santa Catarina.

Variável	Mínimo	Média	Máximo	DP
Gordura (%)	2,25	3,64	5,48	0,73
Proteína (%)	2,83	3,40	4,10	0,29
Lactose (%)	3,85	4,51	4,78	0,19
ESD (%)	8,06	8,90	9,50	0,27
EST (%)	10,76	12,54	14,62	0,86
CCS ⁽¹⁾	24,00	349,23	1383,00	315,63
CBT ⁽²⁾	9,00	1498,55	9999,00	2835,27

Fonte: Produção do próprio autor, 2014.

Notas: ⁽¹⁾Células somáticas*1000/mL para os valores mínimo, média e máximo; ⁽²⁾ Contagem de bactérias*1000/mL para os valores mínimo, média e máximo.

Destacam-se também os valores máximos de CBT e CCS encontrados, evidenciando condições higiênicas deficientes e indícios de mastite no rebanho.

Os dados obtidos relacionados aos teores de gordura justificam-se devido à variabilidade das raças que compõem os rebanhos, manejo e alimentação diferenciados. Enquanto a variação das amostras em relação à CBT e CCS demonstra a variabilidade do manejo sanitário e ausência de práticas e estruturas adequadas de higiene da ordenha e controle de mastite.

O percentual de amostras indicativas em não conformidade em relação aos teores percentuais mínimos de gordura foi de 25,81% (08), de proteína foi de 3,23% (01), de lactose foi de 9,68% (03), de extrato seco total foi de 9,68% (03), de extrato seco desengordurado foi de 3,23% (01), e amostra em não conformidade em relação aos valores máximos de CBT foi de 48,39% (15) e de CCS foi de 16,13% (05).

A não adequação a teores percentuais mínimos de gordura, proteína, lactose, extrato seco total e extrato seco desengordurado, pode ser explicada à variabilidade genética e de manejo alimentar dos rebanhos, e do perfil de produção adotado pela maioria dos produtores de queijo artesanal serrano.

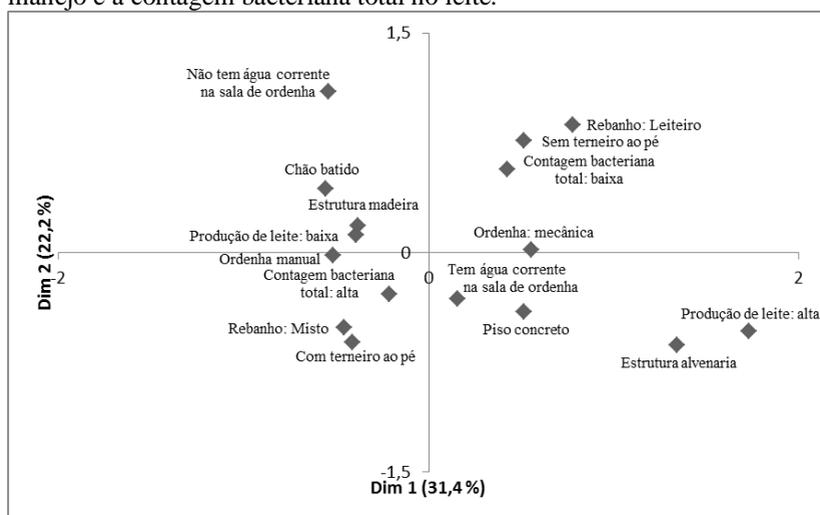
Viotto e Cunha (2006) apontam a mastite, como causa da redução da síntese de componentes do leite, resultando na alteração da composição e menor rendimento na elaboração de produtos lácteos. O monitoramento de CCS realizada periodicamente no rebanho é importante para avaliar a saúde da glândula mamária, propiciando adoção de medidas de controle efetivo de mastites no rebanho leiteiro, maior obtenção de leite com melhor qualidade, e melhora do rendimento na industrialização dos produtos lácteos (LANGONI, 2000).

A CBT é o parâmetro mais utilizado para avaliação da qualidade do leite (BAVA et al., 2009). Valores de CBT acima

dos limites estabelecidos na normativa são indicativos de ausência de práticas higiênicas na ordenha, na sanitização dos equipamentos e utensílios, e também da presença de mastite nas vacas (TAFFAREL et al., 2013).

Na análise de correspondência múltipla entre a raça, a produção, a estrutura, o manejo e o escore da contagem bacteriana total no leite (Figura 6) as dimensões 1 e 2 explicam 53,6% da variação total.

Figura 6 - Correspondência entre o rebanho, a produção, a estrutura, o manejo e a contagem bacteriana total no leite.



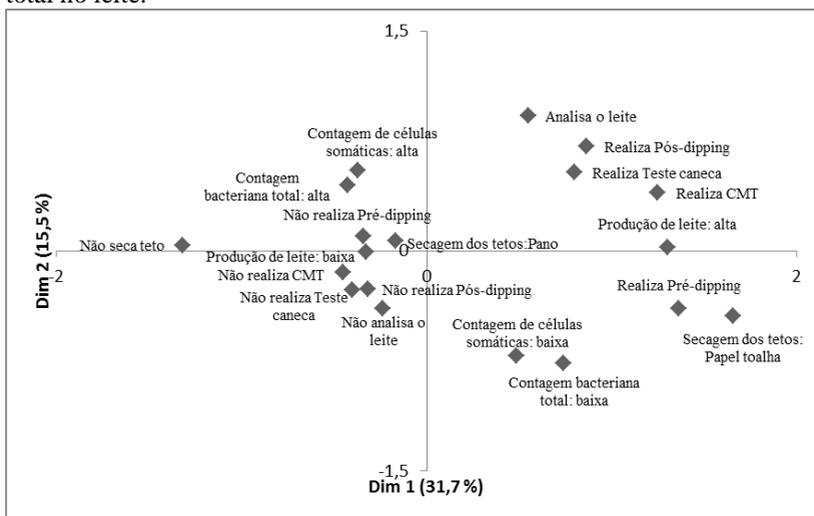
Fonte: Produção do próprio autor, 2014.

Evidenciando a alta contagem bacteriana total relacionada à ordenha manual, rebanho misto, com terneiro ao pé, produção de leite baixa, estrutura de madeira e sala de ordenha com chão batido. A presença do terneiro com a vaca associada a ausência de práticas higiênicas na ordenha como por exemplo a realização de pré-dipping, reflete na contaminação externa do teto e conseqüentemente na CBT.

Na análise de correspondência múltipla entre técnicas de higiene na ordenha, testes, análise do leite, CBT e CCS no leite (Figura 7) as dimensões 1 e 2 explicam 47,2% da variação

total. Evidencia-se as altas CCS e CBT relacionadas a ausência de práticas de higiene na ordenha e testes de controle de mastite. Observou-se também que quanto maior a produção de leite maior a adoção de tecnologias de higiene na ordenha, realização de testes e análises de leite que repercutem na saúde de glândula mamária e na qualidade microbiológica do leite produzido.

Figura 7 - Correspondência entre técnicas de higiene na ordenha, testes e análise do leite e a contagem de células somáticas e da contagem bacteriana total no leite.



Fonte: Produção do próprio autor, 2014.

De acordo com informações obtidas através dos questionários a comercialização dos queijos ocorre com 1 a 45 dias de maturação e com média das propriedades de 12,8 dias. Com isto é importante salientar que a IN 30 de 07 de Agosto de 2013, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA (BRASIL, 2013) estabelece a produção de queijo artesanal fabricado a partir de leite cru por períodos de maturação inferiores há 60 dias mediante a aplicação de Programa de Controle de Mastite com a realização de exames para detecção de mastite clínica e subclínica, incluindo análise

do leite da propriedade para composição centesimal, CCS e CBT e Programa de Boas Práticas de Ordenha e de Fabricação.

A análise multivariada demonstra que a redução de CBT e CCS, está relacionada a práticas de higiene na ordenha, reiterando que a adoção destas é essencial para a obtenção de matéria prima de qualidade visando à obtenção de um produto final seguro para o consumidor.

5.4 CONCLUSÃO

Evidenciando as irregularidades quanto aos índices de CBT e CCS encontrados, conclui-se que questões básicas de manejo sanitário e de higiene da ordenha ainda são deficientes na prática dos produtores. Com análise de fatores de produção associados aos índices de CBT e CCS é possível verificar a influência de medidas higiênicas na ordenha, de controle e prevenção de mastite, para a obtenção de matéria-prima de qualidade destinada à fabricação do Queijo Artesanal Serrano.

5.5 REFERÊNCIAS

AMBROSINI, L. B.; FILIPPI, E. E. Sistema agroalimentar do queijo serrano: estratégia de Reprodução social dos pecuaristas familiares no sul do Brasil. In: CONGRESO INTERNACIONAL DE LA RED SIAL, 4. 2008, Mar del Plata, Argentina. **Anais Eletrônicos...** Mar del Plata, Argentina. Disponível em: <<http://www.ufrgs.br/pgdr/arquivos/586.pdf>>. Acesso em: 05 mar. 2014.

BAVA, L.; ZUCALI, M.; BRASCA, M.; ZANINI, L.; SANDRUCCI, A. Efficiency of cleaning procedure of milking equipment and bacterial quality of Milk. **Italian Journal of Animal Science**, v.8, n.2, 2009. Disponível em: <<http://www.aspajournal.it/index.php/ijas/article/viewArticle/458>>. Acesso em: 02 de julho de 2014. Acesso em: 05 mar. 2014.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n. 62, de 29 de dezembro de 2011. Regulamento técnico de produção, identidade e qualidade do leite tipo a, regulamento técnico de identidade e qualidade de leite cru refrigerado, o regulamento técnico de identidade e qualidade de leite pasteurizado e o regulamento técnico da coleta de leite cru refrigerado e seu transporte a granel. **Diário Oficial da União**. Disponível em: <[http://www.sindilat.com.br/gomanager/arquivos/IN62_2011\(2\).pdf](http://www.sindilat.com.br/gomanager/arquivos/IN62_2011(2).pdf)>. Acesso em: 05 fev. 2014.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n. 30, de 07 de agosto de 2013. **Diário Oficial da União**. Disponível em: <http://www.lex.com.br/legis_24684623_INSTRUCAO_NORMATIVA_N_30_DE_7_DE_AGOSTO_DE_2013.aspx>. Acesso em: 03 fev. 2014.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Decreto n. 30.691 de 1952. Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal. **Diário Oficial da União**. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/file/Aniamal/MercadoInterno/Requisitos/RegulamentoInspecaoIndustrial.pdf>. Acesso em: 02 fev. 2014.

CÓRDOVA, U.de A. et al., **O queijo artesanal serrano nos campos do planalto das araucárias Catarinense**. Florianópolis: Epagri, 2011.

GERMANO, P. M. L.; GERMANO, M. I. S. **Higiene e vigilância sanitária de alimentos**. 4. ed. Barueri: Manole, 2010.

KRONE, E.E.; MENASCHE, R. Identidade e cultura nos campos de cima da serra (RS): práticas, saberes e modos de vida de pecuaristas familiares produtores do Queijo Serrano. **Ateliê Geográfico**, Goiânia-GO v. 4, n. 2, 2010.

Disponível:

<http://www.revistas.ufg.br/index.php/atelie/article/view/9908>. Acesso em 14 de junho de 2014.

LANGONI, H. et al. Tendências de modernização do setor lácteo: monitoramento da qualidade do leite pela contagem de células somáticas. **Revista de Educação Continuada do CRMV-SP**, São Paulo, v.3, 2000. Disponível em: <<http://revistas.bvs-vet.org.br/recmvz/article/view/3332/2537>>. Acesso em: 15 fev.2014.

ORDÓÑEZ, J. A. et al. **Tecnologia de Alimentos: Alimentos de Origem Animal**. Porto Alegre: Artmed, 2005.

PEREIRA, B. P. et al. Implicações do processo produtivo na qualidade do queijo artesanal Serrano. **REGET**, v. 18, Ed. Especial Mai. 2014. Disponível em: <<http://cascavel.ufsm.br/revistas/ojs2.2.2/index.php/reget/article/view/13183>> Acesso em: 03 de jul. 2014.

SAS Institute. **SAS/STAT**. Guide for personal computers. Cary, 1v. 2002.

SCHAIK, G.V. et al. Risk factors for bulk milk somatic cell counts and total bacterial counts in smallholder dairy farms in the 10th region of Chile. **Preventive Veterinary Medicine**, v.67, 2005. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/sci-hub.org/science/article/pii/S0167587704002028>>. Acesso em: 01 mar. 2014.

TAFFAREL, L.E. et al. Contagem bacteriana total do leite em diferentes sistemas de ordenha e de resfriamento. **Arquivos do Instituto Biológico**, vol.80, no.1, São Paulo, 2013.

Disponível em:

http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1808-16572013000100002&lang=pt. Acesso em: 02 de julho de 2014.

VIOTTO, W.H. CUNHA, C.R. Teor de sólidos no leite e rendimento industrial. In. MESQUITA, A.J., DURR, J.W., COELHO, K.O. **Perspectivas e avanços da qualidade do leite no Brasil**. Goiânia: Talento, 2006, v.1. p. 241-458.

Disponível em:

<<http://cbql.com.br/biblioteca/cbql2/IICBQL241.pdf>> . Acesso em 14 de junho de 2014.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A qualidade da matéria prima é essencial para obtenção de um produto em conformidade e, contaminações observadas durante a fabricação e maturação dos queijos apresentaram efeito direto na qualidade do produto final.

Dessa forma, o processo de maturação deve estar aliado a adoção de medidas de boas práticas agropecuárias e de fabricação. Pois, ordenha higiênica, higienização eficaz de utensílios, adequações ao serviço oficial de inspeção, local apropriado para a produção, uso de utensílios de fácil higienização, são fatores que demonstraram interferir significativamente para redução de contaminações nos queijos e conseqüentemente, obtenção de alimentos em conformidade e seguros para o consumo humano.

Embora haja um contexto histórico e cultural, a qualidade deve ser evidenciada aos produtores para melhoria das condições de produção e adequação do produto frente aos requisitos legais, no que tange a infraestrutura, legalização e acima de tudo a inocuidade do alimento.

REFERÊNCIAS

AMBROSINI, L. B.; FILIPPI, E. E. Sistema agroalimentar do queijo serrano: estratégia de Reprodução social dos pecuaristas familiares no sul do Brasil. In: CONGRESO INTERNACIONAL DE LA RED SIAL, 4. 2008, Mar del Plata, Argentina. **Anais Eletrônicos...** Mar del Plata, Argentina. Disponível em: <<http://www.ufrgs.br/pgdr/arquivos/586.pdf>>. Acesso em: 05 mar. 2014.

ARCURI, E. F. et al. Qualidade microbiológica do leite refrigerado nas fazendas. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v.58, n.3, 2006. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/abmvz/v58n3/31041.pdf>>. Acesso em: 05 fev. 2014.

BAVA, L.; ZUCALI, M.; BRASCA, M.; ZANINI, L.; SANDRUCCI, A. Efficiency of cleaning procedure of milking equipment and bacterial quality of Milk. **Italian Journal of Animal Science**, v.8, n.2, p.387-389, 2009. Disponível em: <<http://www.aspajournal.it/index.php/ijas/article/viewArticle/458>>. Acesso em: 02 de julho de 2014.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução, RDC n.12, de 2 de janeiro de 2001. Aprova o regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial da União**. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/12_01rdc.htm>. Acesso em: 17 fev. 2014.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução normativa n. 62, de 26 de agosto de 2003. Oficializa os métodos analíticos para análises microbiológicas para controle de produtos de origem animal e água. **Diário Oficial da União**. Disponível em: <<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=2851>>. Acesso em: 17 fev. 2014.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria, n. 2914 de 12 de dezembro de 2011. Dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. **Diário Oficial da União**. Disponível em: <http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm./2011/prt2914_12_12_2011.html>. Acesso em: 05 fev. 2014.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n. 62, de 29 de dezembro de 2011. Regulamento técnico de produção, identidade e qualidade do leite tipo a, regulamento técnico de identidade e qualidade de leite cru refrigerado, o regulamento técnico de identidade e qualidade de leite pasteurizado e o regulamento técnico da coleta de leite cru refrigerado e seu transporte a granel. **Diário Oficial da União**. Disponível em: <[http://www.sindilat.com.br/gomanager/arquivos/IN62_2011\(2\).pdf](http://www.sindilat.com.br/gomanager/arquivos/IN62_2011(2).pdf)>. Acesso em: 05 fev. 2014.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n. 30, de 07 de agosto de 2013. **Diário Oficial da União**. Disponível em: <http://www.lex.com.br/legis_24684623_INSTRUCAO_NORMATIVA_N_30_DE_7_DE_AGOSTO_DE_2013.aspx>. Acesso em: 03 fev. 2014.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n.68, de 12 de dezembro de 2006.

Métodos analíticos oficiais físico-químicos, para controle de leite e produtos lácteos. **Diário Oficial da União**. Disponível em: <<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=17472>>. Acesso em: 03 fev. 2014.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria n. 368, de 04 de setembro de 1997. Regulamento Técnico sobre as condições Higiênico-Sanitárias e de Boas Práticas de Fabricação para Estabelecimentos

Elaboradores/Industrializadores de Alimentos. **Diário Oficial da União**. Disponível em:

<<http://sistemasweb.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=gravarAtoPDF&tipo=POR&numeroAto=00000368&seqAto=000&valorAno=1997&orgao=MAA&codTipo=&desItem=&desItemFim=>>>. Acesso em: 04 fev. 2014.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Decreto n. 30.691 de 1952. Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal. **Diário Oficial da União**. Disponível em:

<http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/file/Aniamal/MercardoInterno/Requisitos/RegulamentoInspecaoIndustrial.pdf>. Acesso em: 02 fev. 2014.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria n. 146 de 1996. Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade dos Produtos Lácteos. **Diário Oficial da União**.

Disponível em: <<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=1218>>. Acesso em: 02 fev. 2014.

BROOKS, J. C. et al. Survey of raw milk cheeses for microbiological quality and prevalence of foodborne pathogens. **Food Microbiology**, v. 31, p. 154 – 158, 2012 / DOI10.1016/j.bbr.2011.03.031. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0740002012000792>>. Acesso em: 05 mar. 2014.

CISAMA. Instrução normativa n. 01, de 26 de maio de 2014. Aprova o regulamento técnico de identidade e qualidade do queijo artesanal serrano. **Diário oficial dos municípios de Santa Catarina**, 2014.

CONTE, V.D. et al. Qualidade microbiológica de águas tratadas e não tratadas na região nordeste do rio grande do sul. **Infarma**, Brasília, v.16, n. 11-12, 2004. Disponível em: <<http://www.cff.org.br/sistemas/geral/revista/pdf/77/i02-qualidademicro.pdf>>. Acesso em: 27 fev. 2014.

CÓRDOVA, U.de A. et al., **O queijo artesanal serrano nos campos do planalto das araucárias Catarinense**. Florianópolis: Epagri, 2011.

CRUZ, F. T. da; et al. Queijo artesanal serrano dos campos de cima da serra: o saber – fazer tradicional desafiando a qualidade. In: IV CONGRESO INTERNACIONAL DE LA RED SIAL, 2008, Mar del Plata, Argentina. **Anais Eletrônicos...** Disponível em: <<http://www.ufrgs.br/pgdr/arquivos/664.pdf>>. Acesso em: 09 fev. 2014.

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

GERMANO, P. M. L.; GERMANO, M. I. S. **Higiene e vigilância sanitária de alimentos**. 4. ed. Barueri: Manole, 2010.

IDE, L. P. A.; BENEDET, H. D. Contribuição ao conhecimento do queijo colonial produzido na região serrana de Santa Catarina, Brasil. **Ciência e agrotecnologia**, Lavras, v. 25, n. 6, 2001. Disponível em: <http://www.editora.ufla.br/_adm/upload/revista/25-6-2001_13.pdf>. Acesso em: 24 set. 2012.

JAY, J. M. **Microbiologia de alimentos**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005.

KRONE, E.E.; MENASCHE, R. Identidade e cultura nos campos de cima da serra (RS): práticas, saberes e modos de vida de pecuaristas familiares produtores do queijo serrano. **Ateliê Geográfico**, Goiânia, v. 4 n. 10, 2010. Disponível em: <<http://www.revistas.ufg.br/index.php/atelie/article/view/9908/6769>>. Acesso em: 24 fev. 2014.

LANGONI, H. Tendências de modernização do setor lácteo: monitoramento da qualidade do leite pela contagem de células somáticas. **Revista de Educação Continuada do CRMV-SP**, São Paulo, v.3, 2000. Disponível em: <<http://revistas.bvs-vet.org.br/recmvz/article/view/3332/2537>>. Acesso em: 15 fev.2014.

MELO, F. D. et al. Avaliação da inocuidade e qualidade microbiológica do queijo artesanal serrano e sua relação com as variáveis físico químicas e o período de maturação. **Acta Scientiae Veterinariae**, Porto Alegre, v.41. out. 2013. Disponível em: <<http://www.ufrgs.br/actavet/41/PUB%201152.pdf>>. Acesso em: 02 fev. 2014.

OLIVEIRA A. B. A. et al. Doenças transmitidas por alimentos, principais agentes etiológicos e aspectos gerais: uma revisão. **Revista HCPA**, v.30, 2010. Disponível em:

<<http://www.seer.ufrgs.br/hcpa/article/viewFile/16422/9805>>
Acesso em 15 mar. 2014.

ORDÓÑEZ, J. A. et al. **Tecnologia de Alimentos: Alimentos de Origem Animal**. Porto Alegre: Artmed, 2005.

ORGANIZAÇÃO PAN AMERICANA DE SAÚDE. Agência nacional de vigilância sanitária. **Food and agriculture for organization united nations**. Higiene dos alimentos: textos básicos. Brasília, 2006. Disponível em:

<http://www.anvisa.gov.br/divulga/public/alimentos/codex_alimentarius.pdf>. Acesso em: 03 de mar. 2014.

PELISSER, M. R. et al. Occurrence of *Staphylococcus aureus* and multiplex PCR detection of classic enterotoxin genes in cheese and meat products. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v.40, n.1, 2009. Disponível em:

<http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1517-83822009000100025> . Acesso em: 04 mar. 2014.

PEREIRA, B. P. et al. Implicações do processo produtivo na qualidade do queijo artesanal Serrano. **REGET**, v. 18. Ed. Especial Mai. 2014. Disponível em:

<<http://cascavel.ufsm.br/revistas/ojs2.2.2/index.php/reget/article/view/13183>> Acesso em: 03 de jul. 2014.

PERRY, K. S. P. QUEIJOS: aspectos químicos, bioquímicos e microbiológicos. **Química Nova**, São Paulo, v. 27, n. 2, 2004. Disponível em:

<<http://www.scielo.br/pdf/qn/v27n2/19276.pdf>>. Acesso em: 10 mar. 2014.

SALOTTI, B. M. et al. Qualidade microbiológica do queijo minas frescal comercializado no município de Jaboticabal, SP, Brasil. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.73, n.2, 2006. Disponível em: <http://200.144.6.109/docs/arq/V73_2/salotti.PDF>. Acesso em: 15 jan. 2014.

SAMPAIO, I. B. M. **Estatística aplicada à experimentação animal**. Belo Horizonte: Fundação de Ensino e Pesquisa em Medicina Veterinária e Zootecnia, 1998.

SANTANA, E.H.W. et al. Estafilococos em alimentos. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.77, n.3, 2010. Disponível em: <http://www.biologico.sp.gov.br/docs/arq/v77_3/santana.pdf>. Acesso em: 02 fev. 2014.

SCHAIK, G.V. et al. Risk factors for bulk milk somatic cell counts and total bacterial counts in smallholder dairy farms in the 10th region of Chile. **Preventive Veterinary Medicine**, v.67, 2005. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/sci-hub.org/science/article/pii/S0167587704002028>>. Acesso em: 01 mar. 2014.

SAS Institute. **SAS/STAT**. Guide for personal computers. Cary, 1v. 2002.

SILVA A. et al. Comportamento de compra dos consumidores de produtos coloniais na região central do Rio Grande do Sul. In: CONGRESSO DA SOBER, 65, 2007, Londrina. **Anais Eletrônicos...** Londrina. Disponível em: <<http://www.sober.org.br/palestra/6/560.pdf>> Acesso em: 04 mar. 2014.

SILVA, G. et al. **Higiene na indústria de alimentos**. Recife: EDUFRPE, 2010.

SILVA, N. da et al. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimento e água**. São Paulo: Varela, 2010.
SOUZA, C. P. de. Segurança alimentar e doenças veiculadas por alimentos: utilização do grupo coliforme como um dos indicadores de qualidade de alimentos. **Revista de Atenção Primária a Saúde**, Juiz de Fora, v.9, n.1, 2006. Disponível em: <<http://www.ufjf.br/nates/files/2009/12/Seguranca.pdf>>. Acesso em 03 mar. 2014.

TAFFAREL, L.E. et al. Contagem bacteriana total do leite em diferentes sistemas de ordenha e de resfriamento. **Arquivos do Instituto Biológico**. vol.80, n.1, São Paulo, 2013.

Disponível em:

http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1808-16572013000100002&lang=pt. Acesso em: 02 de julho de 2014.

VIOTTO, W.H. CUNHA, C.R. Teor de sólidos no leite e rendimento industrial. In. MESQUITA, A.J., DURR, J.W., COELHO, K.O. **Perspectivas e avanços da qualidade do leite no Brasil**. Goiânia: Talento, 2006.

Disponível em:

<<http://cbql.com.br/biblioteca/cbql2/IICBQL241.pdf>> . Acesso em 14 de junho de 2014.

ZAFFARI, C. B.; MELLO, J. F.; COSTA, M. Qualidade Bacteriológica de Queijos Artesanais Comercializados em Estradas do Litoral Norte do Rio Grande do Sul, Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 37, n. 003, 2007. Disponível em:

<<http://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/22256/000607652.pdf?sequence=1>>. Acesso em: 02 mar. 2014.

APÊNDICE A – QUESTIONÁRIO ESTRUTURADO

Qualidade e inocuidade do queijo artesanal serrano, do leite e da água utilizados na sua produção, em Santa Catarina.

DIAGNÓSTICO DE PROPRIEDADE

Propriedade nº _____

Serviço de Inspeção Municipal () Sim Não ()

1 Dados da Propriedade

Rebanho total: _____

Raças predominantes: () Leite () Corte () Mista

Quais: _____

Produção diária de leite (L): _____

Produção diária de queijo (kg): _____

Alimentação do rebanho: () Campo nativo () Pastagem cultivada () Pastagem melhorada () Ração () Silagem () Outra _____

2 Água

Água da propriedade: Nascente () Rio () Poço ()

Fonte protegida () Fonte não protegida () Açude ()

Outro() _____

Situada próximo a fontes poluidoras: () sim () não

Água de consumo é a mesma de higiene da ordenha: () Sim

() Não

Limpeza do reservatório: () sim () não

Periodicidade: _____

Tratamento da água: Sim () Não ()

Análise da água: Sim () Não ()

3 Leite**Ordenha:** () Manual () Mecânica**Terneiro ao pé:** () Sim () Não**Lavagem das mãos:** () Sim () Não

Descrever: _____

Lavagem dos tetos: () Sim () Não

Descrever: _____

Secagem dos tetos: () com papel () com pano () não
seca**Pré-dipping e Pós-dipping:** () Sim () Não

Descrever: _____

Piso da sala de ordenha: () Alvenaria () Chão
batido**Presença de animais domésticos:** () Sim () Não**Estrutura da sala de ordenha:** () Madeira ()
Alvenaria**Ponto de água corrente no local de ordenha:** () Sim
() Não**Quem faz ordenha:** () Produtor Sexo: () F () M
() Empregado Sexo: () F () M
() Outro Sexo: () F () M**Despreza os três primeiros jatos de leite:** () Sim ()
Não**Controle de mastite:****CMT:** () Sim Periodicidade: _____ () Não

Teste da caneca: () Sim Periodicidade: _____
 () Não

Análise do leite: composição, CBT e CCS

() Sim Periodicidade: _____
 () Não

4 Queijo

Local:

() Infraestrutura própria
 () Cozinha da casa
 () Outro _____

Aplicação de Programa de BPA e BPF:

() Sim () Não

Formas para produção do queijo:

() Madeira () PVC ()
 Outra _____

Tela de proteção: () Sim () Não

Higienização dos equipamentos e utensílios:

() água () uso de detergente ()
 Outro: _____

Local de maturação:

() Sala de cura () Área interna da casa
 () Área externa da casa

Prateleira de maturação:

() Madeira () Fórmica () Inox () Outra

Tempo de maturação: () 7 dias () 15 dias () 30 dias

() outro _____

5 Rendas da propriedade

Principais fontes de renda: () Bovino de corte ()

Bovinos de leite () Queijo Artesanal Serrano ()

Agricultura

() Outros: _____

Mão de obra: () Familiar () Terceiros

Observações:

Assinatura do
produtor: _____ **Data:**
_____ / _____ / 20 _____