

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
ESCOLA DE VETERINÁRIA
COLEGIADO DO CURSO DE PÓS GRADUAÇÃO**

**CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E MICROBIOLÓGICA DE
QUEIJO ARTESANAL DE OVELHA PRODUZIDO EM MINAS GERAIS,
EM DIFERENTES PERÍODOS DE MATURAÇÃO**

CECÍLIA MELO VASCONCELOS

**BELO HORIZONTE – MG
ESCOLA DE VETERINÁRIA DA UFMG
2019**

Cecília Melo Vasconcelos

**CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E MICROBIOLÓGICA DE QUEIJO
ARTESANAL DE OVELHA PRODUZIDO EM MINAS GERAIS, EM DIFERENTES
PERÍODOS DE MATURAÇÃO**

Dissertação apresentada à
Escola de Veterinária da
Universidade Federal de
Minas Gerais - UFMG, como
requisito para a obtenção do
grau de Mestre em Ciência
Animal.

Área de concentração:
Tecnologia e Inspeção de
Produtos de Origem Animal

Orientadora: Prof^a. Dr^a.
Cláudia Freire de Andrade
Moraes Penna

Co-orientador: Prof. Dr. Iran
Borges

**BELO HORIZONTE – MG
ESCOLA DE VETERINÁRIA DA UFMG
2019**

V331c Vasconcelos, Cecília Melo, 1993
Caracterização Físico-Química e Microbiológica de queijo artesanal de ovelha
produzido em Minas Gerais, em diferentes períodos de maturação / Cecília Melo
Vasconcelos - 2019

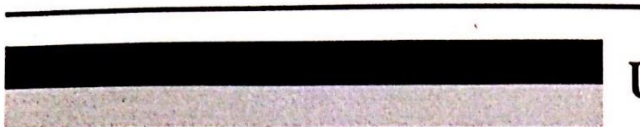
73 p.: il.

Orientador: Cláudia Freire de Andrade Morais Penna
Coorientador: Iran Borges

Dissertação – Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária.

1. – Bactérias – composição. 2. - leite – queijo– ovelhas - Teses. 3.- Alimentos -
Análise – qualidade - I. Penna, Cláudia Freire de Andrade – II. Borges, Iran.
II. Universidade Federal de Minas Gerais – Veterinária.

CDD – **637.1**



FOLHA DE APROVAÇÃO

CECÍLIA MELO VASCONCELOS

Dissertação submetida à banca examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em CIÊNCIA ANIMAL, como requisito para obtenção do grau de MESTRE em CIÊNCIA ANIMAL, área de concentração TECNOLOGIA E INSPEÇÃO DE PRODUTOS DE ORIGEM ANIMAL .

Aprovada em 13 de Fevereiro de 2019, pela banca constituída pelos membros:

Profª. Claudia Freire de Andrade Moraes Penna
Presidente - Orientador

Profª. Maria Beatriz Abreu Glória
Faculdade de Farmácia - UFMG

Drª. Leticia Goulart Oliveira
Instituto Cultural Newton Paiva Ferreira

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, a Deus por todas as oportunidades e pela minha vida.

Aos meus pais, Rogério e Juliana, por serem os principais incentivadores do meu estudo e da minha formação, por me apoiarem em cada decisão, por se sacrificarem e por toda a minha felicidade, por todo amor, exemplo e dedicação, por todas as orações e preocupações, por me guiarem e incentivarem.

Ao meu marido Marco, agradeço o apoio, companheirismo, a paciência, os conselhos, o respeito e sobretudo o amor.

As minhas irmãs Julia e Mariana, pelas horas de desabafo, por transmitirem tanto carinho, compreensão e por serem meus exemplos de irmãs. Aos meus cunhados, pela amizade.

A minha avó Mafalda, sempre companheira, carinhosa e sempre disponível quando preciso.

A todas as pessoas da minha família que não mencionei, mas que fazem parte da minha caminhada.

A minha orientadora Cláudia Penna pelos ensinamentos, orientação, compreensão e pela oportunidade em fazer o Mestrado no Departamento e em uma área que me encantou muito.

Ao co-orientador Iran Borges por agregar tantos conhecimentos sobre os pequenos ruminantes e fazer com que meu gosto por esses animais se tornasse ainda maior. A equipe Qualibée, pela parceria.

Agradeço aos professores do Departamento e técnicos pelas valiosas contribuições.

As amigas Amanda Ribeiro e Marcela Nogueira pela parceria, ajuda e apoio nas etapas do trabalho, durante o Mestrado, e pela amizade sincera e paciente que fizemos aqui.

Agradeço também a todas as pessoas que me ajudaram na execução do projeto: Jessica, Gabriela, Nathalia, Luiza, Ranier e Naiara.

A Professora Joana, por me ajudar com a estatística do projeto.

A CAPES pela concessão da bolsa. Ao CNPq pelo apoio financeiro e LabUFMG.

A todos que contribuíram de alguma forma para realização deste trabalho.

Muito obrigada.

SUMÁRIO

	RESUMO	12
	ABSTRACT	13
1.	INTRODUÇÃO	14
2.	OBJETIVOS	15
2.1	Objetivo geral.....	15
2.2	Objetivos específicos.....	15
3.	REVISÃO DE LITERATURA	15
3.1	Situação mundial e nacional do leite de ovelha e derivados.....	15
3.2	Características do leite de ovelha cru.....	18
3.3	Qualidade dos queijos artesanais elaborados com leite de ovelha.....	19
3.3.1	Qualidade da água empregada na fabricação de queijos.....	19
3.3.2	Qualidade do leite empregado na fabricação de queijos.....	20
3.3.3	Características físico-químicas dos queijos.....	21
3.3.4	Características microbiológicas dos queijos.....	22
3.4	Importancia da maturação na segurança e na qualidade dos queijos artesanais....	24
3.5	Boas Práticas Agrícolas e Boas Praticas de Fabricação: importância na qualidade de queijos.....	25
4.	MATERIAL E MÉTODOS	28
4.1	Amostragem.....	28
4.2	Relatórios de avaliação de Boas Práticas.....	29
4.3	Análises laboratoriais.....	30
4.3.1	Análise microbiológica e físico-química da água.....	30
4.3.2	Análise microbiológica e físico-química do leite e soro-fermento.....	30
4.3.3	Análise microbiológica e físico-química dos queijos.....	31
4.4	Metodologia das análises microbiológicas.....	31
4.4.1	Pesquisa de coliformes a 30°C e <i>E. coli</i>	31
4.4.2	Pesquisa de bolores e leveduras.....	31
4.4.3	Pesquisa de <i>Staphylococcus</i> spp.	32
4.4.4	Pesquisa de <i>Staphylococcus</i> coagulase positivo.....	32
4.4.5	Pesquisa de bactérias ácido-láticas.....	32
4.4.6	Pesquisa de <i>Salmonella</i> spp.	32
4.4.7	Pesquisa de coliformes a 30°C e a 45°C para análise de água.....	33
4.4.8	Contagem padrão em placas de microrganismos mesófilos aeróbios para análise de água.....	33
4.5	Delineamento experimental e análises estatísticas.....	34
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	34
5.1	Descrição da propriedade.....	34
5.1.1	Relatório de Boas Práticas Agrícolas e de Fabricação.....	34
5.1.2	Aspectos meteorológicos.....	38
5.2	Fluxograma dos queijos elaborados na primeira etapa do experimento e sugestões para adequação de Boas Práticas.....	40
5.2.1	Beneficiamento do queijo.....	40
5.2.2	Ajustes sugeridos na primeira etapa do experimento.....	41
5.3	Fluxograma dos queijos e Boas Práticas adotadas, na segunda etapa do experimento.....	42
5.3.1	Beneficiamento do queijo.....	42

5.3.2	Aplicação das novas práticas de manejo de ordenha e BPF.....	44
5.4	Qualidade físico-química e microbiológica da água na primeira e na segunda etapa do experimento, ou seja, antes e depois da aplicação das BPA e BPF na propriedade.....	46
5.5	Qualidade físico-química e microbiológica do leite antes e depois da aplicação das Boas Práticas de na propriedade.....	48
5.6	Qualidade físico-química e microbiológica do soro-fermento antes e depois da aplicação das Boas Práticas na propriedade.....	51
5.7	Características físico-químicas e microbiológicas do queijo artesanal de ovelha avaliados antes e depois da aplicação das Boas Práticas na propriedade.....	52
5.7.1	Características microbiológicas do queijo artesanal de ovelha avaliados na primeira e na segunda etapa do experimento.....	53
5.7.1.1	Coliformes a 30°C.....	53
5.7.1.2	Coliformes a 45°C.....	54
5.7.1.3	<i>Staphylococcus</i> spp.....	55
5.7.1.4	<i>Staphylococcus</i> coagulase positivo.....	57
5.7.1.5	Bolores e Leveduras.....	58
5.7.1.6	Bactérias ácido-láticas.....	60
5.7.1.7	<i>Salmonella</i> spp.....	61
5.7.2	Características físico-químicas do queijo artesanal de ovelha avaliados na primeira e na segunda etapa do experimento.....	61
5.7.2.1	Percentual de umidade.....	61
5.7.2.2	Percentual de proteína.....	63
5.7.2.3	Percentual de gordura.....	63
5.7.2.4	Determinação do teor de cloretos.....	64
5.7.2.5	Determinação de acidez titulável.....	65
5.7.2.6	Determinação do Ph.....	65
5.7.2.7	Determinação de amido.....	67
6.	CONCLUSÕES.....	67
7.	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	68
8.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	68

LISTA DE TABELAS

Tabela 1-	Composição dos nutrientes básicos dos leites de cabra, ovelha, vaca e humana	19
Tabela 2-	Levantamento dos procedimentos produtivos da propriedade.....	35
Tabela 3-	Padrão de potabilidade exigido pela legislação (BRASIL, 2000; MINAS GERAIS, 2002b; BRASIL, 2011b), valores médios (X), coeficiente de variação (CV) e valores mínimos e máximos dos resultados de amostras de água analisadas antes da aplicação das Boas Práticas (fevereiro a março).....	46
Tabela 4-	Padrão de potabilidade exigido pela legislação (BRASIL, 2000; MINAS GERAIS, 2002b; BRASIL, 2011b), valores médios (X), coeficiente de variação (CV) e valores mínimos e máximos dos resultados de amostras de água analisadas depois da aplicação das Boas Práticas (agosto a setembro).....	47
Tabela 5-	Valores médios (X), coeficiente de variação (CV) e valores mínimos e máximos dos resultados de amostras de leite analisadas antes da aplicação das Boas Práticas (fevereiro a março)	49
Tabela 6-	Valores médios (X), coeficiente de variação (CV) e valores mínimos e máximos dos resultados de amostras de leite analisadas depois da aplicação das Boas Práticas (agosto a setembro)	50
Tabela 7-	Valores médios (X), coeficiente de variação (CV) e valores mínimos e máximos dos resultados de amostras de soro-fermento analisadas antes da aplicação das Boas Práticas (fevereiro a março)	51
Tabela 8-	Valores médios (X), coeficiente de variação (CV) e valores mínimos e máximos dos resultados de amostras de fermento analisadas depois da aplicação das Boas Práticas (agosto a setembro)	52
Tabela 9-	Valores médios (X), coeficiente de variação (CV) e valores mínimos e máximos dos resultados de contagem de coliformes a 30°C analisados em queijos antes e depois da aplicação das Boas Práticas nos períodos de fevereiro a maio e agosto a novembro.....	54
Tabela 10-	Valores médios (X), coeficiente de variação (CV) e valores mínimos e máximos dos resultados de contagem de coliformes a 45°C analisados em queijos antes e depois da aplicação das Boas Práticas nos períodos de fevereiro a maio e agosto a novembro.....	55
Tabela 11-	Valores médios (X), coeficiente de variação (CV) e valores mínimos e máximos dos resultados de contagem de <i>Staphylococcus</i> spp. analisados em queijos antes e depois da aplicação das Boas Práticas nos períodos de fevereiro a maio e agosto a novembro.....	57
Tabela 12-	Valores médios (X), coeficiente de variação (CV) e valores mínimos e máximos dos resultados de contagem de <i>Staphylococcus</i> coagulase positivo analisados em queijos antes e depois da aplicação das Boas Práticas nos períodos de fevereiro a maio e agosto a novembro.....	57
Tabela 13-	Valores médios (X), coeficiente de variação (CV) e valores mínimos e máximos dos resultados de contagem de bolor e levedura analisados em queijos antes e depois da aplicação das Boas Práticas nos períodos de fevereiro a maio e agosto a novembro.....	59
Tabela 14-	Valores médios (X), coeficiente de variação (CV) e valores mínimos e máximos dos resultados de contagem de bactérias ácido lácticas analisados em queijos antes e depois da aplicação das Boas Práticas nos períodos de fevereiro a maio e agosto a novembro.....	61
Tabela 15-	Valores médios (X), coeficiente de variação (CV) e valores mínimos e máximos dos resultados de contagem de umidade (%) analisados em queijos antes e depois -	

	da aplicação das Boas Práticas nos períodos de fevereiro a maio e agosto a novembro.....	62
Tabela 16-	Valores médios (X), coeficiente de variação (CV) e valores mínimos e máximos dos resultados de contagem de proteína (%) no estrato seco total (EST) analisados em queijos antes e depois da aplicação das Boas Práticas nos períodos de fevereiro a maio e agosto a novembro.....	63
Tabela 17-	Valores médios (X), coeficiente de variação (CV) e valores mínimos e máximos dos resultados de contagem de gordura (%) no estrato seco total (EST) analisados em queijos antes e depois da aplicação das Boas Práticas nos períodos de fevereiro a maio e agosto a novembro.....	64
Tabela 18-	Valores médios (X), coeficiente de variação (CV) e valores mínimos e máximos dos resultados de contagem de cloretos (%) no estrato seco total (EST) analisados em queijos antes e depois da aplicação das Boas Práticas nos períodos de fevereiro a maio e agosto a novembro.....	64
Tabela 19-	Valores médios (X), coeficiente de variação (CV) e valores mínimos e máximos dos resultados de contagem de acidez (°D) analisados em queijos antes e depois da aplicação das Boas Práticas nos períodos de fevereiro a maio e agosto a novembro.....	65
Tabela 20-	Valores médios (X), coeficiente de variação (CV) e valores mínimos e máximos dos resultados de contagem de pH analisados em queijos antes e depois da aplicação das Boas Práticas nos períodos de fevereiro a maio e agosto a novembro.....	66

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	“Caverna” de maturação dos queijos.....	34
Figura 2 -	Momento de ordenha das ovelhas.....	36
Figura 3 -	Área de produção de queijo.....	37
Figura 4 -	Monitoramento da precipitação (mm) de fevereiro a maio, na microrregião de Formiga -MG	38
Figura 5 -	Monitoramento da temperatura (°C) de fevereiro a maio, na microrregião de Formiga- MG.....	38
Figura 6 -	Monitoramento da precipitação (mm) de agosto a novembro, na microrregião de Formiga -MG	39
Figura 7 -	Monitoramento da temperatura (°C) de agosto a novembro, na microrregião de Formiga -MG	39
Figura 8 -	Fluxograma de fabricação do queijo na primeira etapa do experimento.....	41
Figura 9 -	Fluxograma de fabricação do queijo na segunda etapa do experimento.....	43
Figura 10 -	“Caverna” de maturação dos queijos após a adoção das Boas Práticas.....	44
Figura 11 -	Fluxograma de ordenha.....	45
Figura 12 -	Resultados médios de contagem de coliformes a 30°C das amostras de queijo analisados durante os quatro períodos de maturação, antes e depois da aplicação das Boas Práticas, nos períodos de fevereiro a maio e agosto a novembro.....	53
Figura 13 -	Resultados médios de contagem de <i>Staphylococcus</i> spp. das amostras de queijo analisados durante os quatro períodos de maturação, antes e depois da aplicação das Boas Práticas, nos períodos de fevereiro a maio e agosto a novembro.....	56
Figura 14 -	Resultados médios de contagem de bolores e leveduras das amostras de queijo analisados durante os quatro períodos de maturação, antes e depois da aplicação das Boas Práticas, nos períodos de fevereiro a maio e agosto a novembro.....	58
Figura 15 -	Resultados médios de contagem de bactérias ácido-láticas das amostras de queijo analisados durante os quatro períodos de maturação, antes e depois da aplicação das Boas Práticas, nos períodos de fevereiro a maio e agosto a novembro.....	60

LISTA DE ABREVIATURAS

ABCOL	Associação Brasileira de Criadores de Ovinos Leiteiros
a_w	Atividade de água
BAL	Bactérias ácido lácticas
BHI	Braint Heart Infusion
BPA	Boas Práticas Agrícolas
BPF	Boas Práticas de Fabricação
BPLS	Vermelho Fenol Sacarose
BP	Baird Parker
BPs	Boas Práticas
CBT	Contagem bacteriana total
CCS	Contagem de Células Somáticas
CMT	Califórnia Mastite Teste ou teste de mastite subclínica
CVB	Caldo Verde Brilhante
CV	Coeficiente de variação
DTIPOA	Departamento de Tecnologia e Inspeção de Produtos de Origem Animal
EC	<i>Escherichia coli</i>
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
EV	Escola de Veterinária
FAO	Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
ICPM	Índice de controle e prevenção de mastite
INMET	Instituto Nacional de Meteorologia
LAB	Laboratório
MAPA	Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento
MRS	Man Rogosa Sharp
NaCl	Cloreto de sódio
PCA	Plate Count Agar
RIISPOA	Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem
RTIQ	Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Queijo
SS	<i>Salmonella Shigella</i>
UFC	Unidade Formadora de Colônia
UFMG	Universidade Federal de Minas Gerais
X	Média

RESUMO

A produção de derivados de leite ovino possui potencial, porém, no Brasil não há regulamento técnico específico para estes. Em Minas Gerais, uma Agroindústria Familiar produz um queijo artesanal maturado, a partir de leite de ovelhas Lacaune. Visando colaborar com a possibilidade de registro do queijo em órgão fiscalizador, a pesquisa teve como objetivo a caracterização do processo de produção, desde a obtenção do leite até a maturação e a caracterização físico-química e microbiológica dos queijos dessa propriedade, para avaliação da sua qualidade. O experimento foi realizado em dois períodos, sendo o primeiro de fevereiro a maio e o segundo de agosto a novembro de 2018. Entre julho e setembro foram adotadas melhorias no manejo de ordenha e Boas Práticas de Fabricação, com o intuito de melhorar a qualidade dos queijos, vista como necessária diante dos resultados da primeira fase. Foram avaliados três lotes de queijos antes das boas práticas e três após a adoção. Cada lote foi maturado e analisado em quatro períodos com intervalo de 15 dias, a partir do dia zero (0) até 45 dias. Foram coletadas também amostras de água, leite e soro-fermento em cada dia de produção. Foi feita estatística descritiva para avaliação dos resultados. Para as amostras de água foram feitas contagens de mesófilos aeróbios, número mais provável de coliformes a 30°C e a 45°C, teor de cloro residual, pH, acidez titulável, cloretos e dureza. Nas amostras de queijo, determinaram-se a acidez titulável, pH, teores percentuais de umidade, gordura, proteína total e cloretos, e pesquisa de presença de amido. As análises microbiológicas de queijo, soro-fermento e leite envolveram contagens de *Salmonella* spp., *Staphylococcus* spp. e coagulase positivo, coliformes a 30°C e a 45°C e de bactérias ácido-láticas. A contagem de bolores e leveduras foi empreendida somente no queijo. No leite, foram feitas análises de composição centesimal, contagem de células somáticas, contagem bacteriana total, acidez titulável e índice crioscópico. Os resultados médios de cloro residual foram inadequados na primeira parte do experimento e se adequaram na segunda. A falha de cloração durante a coleta de uma única amostra de água, na segunda etapa do experimento, foi suficiente para a contaminação da mesma. Os demais parâmetros físico-químicos e microbiológicos da água estavam em conformidade com a legislação. A contagem de bactérias indesejáveis do leite e do soro-fermento reduziram após a aplicação das Boas Práticas. Amostras de queijo, leite e soro-fermento indicaram ausência de *Salmonella* spp. e contagem abaixo de $1,0 \times 10^2$ UFC/mL ou g para *Staphylococcus* coagulase positivo. A aplicação das Boas Práticas de Fabricação e manejo de ordenha se mostraram eficientes na redução de microrganismos contaminantes nos queijos, como *Staphylococcus* spp. e coliformes a 45°C. As contagens de bolores e leveduras e bactérias ácido lácticas tenderam ao crescimento conforme o avanço da maturação. Esse queijo artesanal de ovelha, pode ser caracterizado como semigordo e de média umidade, de acordo com a legislação brasileira.

Palavras-chave: bactérias, composição, queijo, ovelhas, maturação

ABSTRACT

The production of products derived from sheep milk has potential, however, in Brazil there is no specific regulation for this products. In Minas Gerais, a Family Agroindustry produces a ripened artisanal cheese of Lacaune ewes milk. With the aim to cooperate with the possibility of registering the cheese in inspection bodies, the research aimed the characterization of the production process, from obtaining milk to ripened cheese and the characterization physical-chemical and microbiological of property's cheeses, for quality evaluation. The experiment was carried out in two stages, the first was between February to May and the second between August to November, in 2018. Between July and September improvements were made during the milking and it was adopted Good Manufacturing Practices, in order to improve the quality of the cheeses. Three batches of cheeses were evaluated before the adoption of good practices and three after adoption. Each batch was ripened and analyzed in four periods with a 15 day interval, from day zero (0) to 45 days. Samples of water, milk and starter culture were also collected at each day of manufacture. Descriptive statistics were made to evaluate the results. For the water sample was analysed mesophilic aerobic counts, coliforms at 30 ° C and 45 ° C most probable number, residual chlorine (%) content, pH, acidity, chlorides contents and hardness. In the cheese samples, it was made titratable acidity, pH, moisture, fat, total protein, chloride contents, and starch presence. Microbiological analysis of cheese, whey, and milk involved counts of *Salmonella* spp., *Staphylococcus* spp. and *S. coagulase* positive, coliforms at 30 ° C and 45 ° C and lactic acid bacteria. The counting of molds and yeasts was undertaken only in the cheese. In the milk, analysis of Centesimal Composition, Somatic Cell Count, Total Bacterial Count, titratable acidity and cryoscopic index were performed. The mean residual chlorine results were inadequate in the first part of the experiment and were adequate in the second part. The chlorination failure during the collection of a single sample of water in the second stage of the experiment was enough to contaminate it. The other physico-chemical and microbiological parameters of water were within the standards established by the legislation. The counting of undesirable bacteria from the milk and the starter culture reduced after the application of Good Practices. Samples of cheese, milk and starter culture indicated absence of *Salmonella* spp. and counts below 1.0×10^2 UFC / mL or g for *Staphylococcus coagulase* positive. The application of Good Manufacturing Practices and milking management were efficient in the reduction of contaminating microorganisms in cheeses such as *Staphylococcus* spp. and coliforms at 45 ° C. The counts of molds and yeasts and lactic acid bacteria tended to grow as the maturation progressed. This artisanal sheep cheese can be characterized as a semi-fat and medium moisture according to Brazilian legislation.

Key words: bacteria, composition, cheese, ewe, maturation

1. INTRODUÇÃO

O leite de ovelha possui altos teores de sólidos totais, proteína e elevada cremosidade e untuosidade associados ao teor de gordura, por isso, apresenta bom rendimento na produção dos derivados lácteos (FERREIRA, 2009). Atualmente, já se tem conhecimento de criadores de ovelhas leiteiras no país, mas muitos ainda se encontram no mercado informal, pela ausência de certificação.

A Lei mineira nº 19.583, publicada em 2011, visou regulamentar a atividade no setor e incentivar criadores para a produção e comercialização de lácteos de ovelha e cabra. Porém, ainda é difícil obter a licença para a produção de queijos artesanais, já que esse queijo é obtido a partir do leite cru de ovelha. A opção para esses casos remete-os à Lei Estadual n.º 23.157, publicada em dezembro de 2018, que dispõe sobre os queijos artesanais de Minas Gerais, ou à Lei Federal n.º 13.680, de junho de 2018, que dispõe sobre o selo ARTE.

Até a aplicação das leis serem efetivadas, alguns criadores buscam obter a certificação pela legislação que atende a produção artesanal familiar, que se caracteriza pela comercialização local de produtos tradicionais, aliados à preocupação com a qualidade no beneficiamento. A valorização dos queijos artesanais é importante para o desenvolvimento de propriedades rurais, inclusive daqueles de outras espécies domésticas. Para alcançar esse objetivo, são necessários dados mais atualizados, investimentos, estudos e adequação das legislações, que amparem a formalização do comércio e a promoção da inocuidade destes queijos. Esses produtos ainda não padronizados e ricos em variedade microbiológica necessitam de cuidados específicos na elaboração, comercialização e consumo.

A Instrução Normativa nº 30 de 7 de agosto de 2013 do MAPA possibilita a comercialização dos queijos tradicionalmente elaborados com leite cru com período de maturação inferior a 60 dias, desde que comprovada sua inocuidade (BRASIL, 2013). A maturação gera uma série de alterações, como a perda de umidade, aumento dos sólidos e queda do pH. Essas mudanças acarretam na eliminação ou redução de microrganismos indesejáveis e contribuem para o estabelecimento de uma microbiota desejável nos queijos (SALES, 2015). Assim, a pesquisa para determinar o tempo mínimo de maturação é fundamental para verificar a qualidade sanitária destes queijos.

Em Itapeacerica- MG há uma propriedade que tem interesse em comercializar queijo artesanal elaborado com leite de ovelha, mas ainda não consegue fazê-lo devido às razões acima dispostas e da inexistência de estudo científico sobre esse produto. Portanto, faz-se necessário estimar mais precisamente as características físico-químicas e microbiológicas do produto, bem como detalhar a forma de produção atentando-se assim, para as boas práticas agrícolas de produção (BPA) e as boas práticas de fabricação (BPF). A aplicação dessas práticas, em determinados níveis de compreensão e estrutura, com os processos adequados e com os devidos controles, dispensa a necessidade de pasteurização do leite para o beneficiamento do queijo maturado, desde que se mantenha a segurança alimentar do produto. Dessa forma, tem-se a necessidade de pesquisar as características do queijo desta propriedade durante a maturação, verificar sua qualidade microbiológica, acompanhar as práticas de produção e auxiliar na caracterização físico-química, buscando o enquadramento ao Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Queijos (RTIQ) (BRASIL, 1996). Com esse fim, incentivar o registro de um queijo único e novo elaborado com leite de ovelha; gerar maior facilidade na rotulagem, padronização; geração de conhecimento do produto pelo responsável pela produção e consumidores; auxiliar na inclusão da agroindústria familiar no mercado formal de produção.

2. OBJETIVOS

2.1. Gerais

Caracterizar o processo de produção do queijo de ovelha produzido em Itapeçerica - Minas Gerais, desde a criação dos animais e obtenção do leite até a elaboração e completa maturação dos queijos.

2.2. Específicos:

- Avaliar o efeito da aplicação de boas práticas agrícolas (BPA) e de boas práticas de fabricação (BPF) no sistema produtivo de criação de ovelhas em estudo e registrar todo o fluxograma da produção do queijo.
- Avaliar a qualidade do leite de ovelhas empregado na produção de queijo artesanal maturado, com base em aspectos microbiológicos e físico-químicos.
- Avaliar a qualidade microbiológica e físico-química da água empregada na queijaria.
- Realizar a caracterização microbiológica (bactérias ácido-láticas e contaminantes/deteriorantes) e físico-química (proteína, umidade, gordura, cloretos e pH) do queijo artesanal de leite de ovelha, em diferentes períodos de maturação e em duas etapas de experimento (antes da aplicação de boas práticas, em período chuvoso e após a aplicação de boas práticas, durante a seca).
- Propor período mínimo de maturação para conferir inocuidade microbiológica ao queijo artesanal de ovelha.
- Auxiliar o responsável na aplicação das adequações necessárias para a melhoria da qualidade dos queijos.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. Situação mundial e nacional do leite de ovelha e derivados

Segundo a Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura (FAO), em 2016, a população mundial de ovinos leiteiros estava estimada em aproximadamente 1,17 bilhões de animais. A produção mundial de leite de ovelhas foi de aproximadamente 10 milhões de toneladas.

Dentre os continentes, a Ásia era detentora da maior produção de ovelhas leiteiras, e contava com aproximadamente 5 milhões de toneladas. Em contrapartida, o continente americano era detentor da menor produção nesse *ranking*, contando com apenas 90 mil toneladas. A Turquia possuía a maior criação de ovelhas leiteiras, seguida pela China, Grécia, Síria, Romênia, Espanha, Mali, Itália, Sudão e Somália (FAO, 2016).

A tradição desses países na ovinocultura de leite é reconhecida mundialmente, principalmente pelo beneficiamento de queijos de ovelha. A maior parte do leite é destinada à indústria de queijos. No entanto, a ovinocultura leiteira em nosso país é uma atividade recente (SILVA, 2014).

O Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) calculou o efetivo rebanho ovino brasileiro em 17,97 milhões de cabeças em 2017, sendo que o maior número de animais se encontrava na região nordeste do Brasil e o menor no Sudeste, que possuía apenas 3,5% do rebanho brasileiro. O estado de Minas Gerais possuía o segundo maior rebanho ovino da região, estimado em 177 mil cabeças (IBGE, 2017), superado apenas por São Paulo. Entretanto, a maior parte das criações de ovinos está voltada para a produção de carne de cordeiro, e a atividade leiteira a partir da ovelha ainda é recente no país.

Existem poucos dados disponíveis sobre ovinos leiteiros no Brasil. Tanto a FAO quanto o IBGE, não possuem registros referente ao número de cabeças ou litros de leite produzidos por esses animais. Em 2015, a Associação Brasileira de Criadores de Ovinos Leiteiros (ABCOL) estimou o rebanho de ovinos de raças leiteiras no país em aproximadamente nove mil matrizes, produzindo 816.000 litros de leite anualmente. Do volume de leite total, Santa Catarina era líder na produção e efetivo de rebanho, seguida por Rio Grande do Sul e Minas Gerais, que contava com uma produção de 130 mil litros por ano.

Santos (2016) realizou um estudo sobre o sistema agroindustrial do leite de ovelha e relatou a presença de 18 propriedades no Brasil, sendo sete no Rio Grande do Sul, três em Santa Catarina, uma no Paraná, uma em São Paulo, duas no Rio de Janeiro, três em Minas Gerais e uma no Distrito Federal. Estas são caracterizadas, principalmente, por possuírem um sistema de cadeia curta; ou seja, sistema que mantém a aproximação entre produtor e consumidor, possui apenas um agente responsável pela produção e trabalha com mão-de-obra familiar (14 das 18 propriedades possuíam esse tipo de mão-de-obra). Apenas sete propriedades faziam parceria com cooperativas, as demais possuíam a própria produção.

A exploração da atividade leiteira e a produção de derivados lácteos de ovelha são recentes no Brasil, quando comparadas a produção dos derivados lácteos de vaca. Os laticínios no Brasil produzem principalmente queijos, de diferentes maneiras e variedades, em seguida, iogurte, doce de leite, sorvetes e, em menor proporção, pão de queijo. O mercado é formado principalmente por produtos, derivados de leite ovino, importados ou *gourmet*, abrangendo consumidores de maior poder aquisitivo. Atualmente, os produtos são distribuídos principalmente em grandes supermercados e em alguns restaurantes finos ou bistrôs.

Segundo Santos (2016) existiam apenas oito laticínios inspecionados no Brasil, por sistemas de inspeção municipal, estadual ou federal. O tamanho e a capacidade de produção eram diferentes, variando de 16 m² até 900 m² e com capacidade produtiva de 20 litros até 25 mil litros por dia. A capacidade produtiva total era de aproximadamente 39 mil litros/dia, porém, na ocasião nenhum laticínio operava em sua capacidade máxima.

Existem diversas associações que visam apoiar e incentivar não apenas a criação de ovinos, mas também a elaboração de legislação específica para derivados lácteos dessa espécie, no Brasil. Com o apoio da associação mineira de criadores, foi publicada a Lei nº 19.583, de autoridade estadual, que estabeleceu condições de higiene e sanidade para a produção do leite de cabra ou ovelha, além de seus derivados (MINAS GERAIS, 2011). Essa lei regulamentou a atividade, permitindo que os criatórios de cabras e ovelhas possam oferecer seus produtos ao mercado formal de todos os municípios mineiros.

Em vista do número de animais, do volume de produção de leite das ovelhas e forma de produção tradicional e familiar de muitas propriedades criadoras de ovinos leiteiros no Brasil, alguns produtores buscam obter licença para produção por meio da legislação que atende a produção artesanal familiar.

A Lei 11.326 de 2006 descreve a agricultura familiar como aqueles que praticam atividades no meio rural, possuem área maior do que quatro módulos fiscais (medida determinada pela prefeitura de cada região); e utilizam predominantemente mão de obra da própria família nas atividades econômicas e dirigem seu estabelecimento ou empreendimento com sua família

(BRASIL, 2006). Além disso, a Lei nº 19.476 de 2011 acrescenta que a agroindústria rural de pequeno porte sob gestão da agricultura familiar deve conter área útil construída não superior a 250 m² e devem seguir normas estaduais, municipais ou federais relativas às condições gerais das instalações, equipamentos e das práticas operacionais de estabelecimento, observados os princípios de higiene dos alimentos, tendo como objetivo a garantia da inocuidade dos produtos (MINAS GERAIS, 2011).

Contudo, a legislação brasileira tende a generalizar exigências sanitárias e dar pouca atenção a pequena produção familiar e seus processos, exigindo uma infraestrutura industrial e barreiras sanitárias que limitam a possibilidade de explorar os mercados locais e expandir a produção além dos limites regionais (COLETTI, 2013). O desenvolvimento de novos produtos e o registro também são barreiras ao desenvolvimento da atividade, já que é difícil e caro registrar um produto que não seja semelhante a outro existente (ROSSI, 2013).

O Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA) descreve parâmetros de ordenha, higiene, produção e comercialização do leite e derivados (BRASIL, 2017). No entanto, o RIISPOA não especifica claramente as particularidades do leite e derivados lácteos artesanais e de outras espécies domésticas.

Ainda não existem legislações que estabeleçam padrões de qualidade físico-química ou microbiológica para queijos artesanais elaborados em Minas Gerais, principalmente se tratando dos elaborados com leite de ovelha. Existe uma confusão entre o conceito de queijos artesanais de Minas Gerais e do Queijo Minas Artesanal, tradicionalmente conhecido. Entende-se por queijo Minas Artesanal o queijo produzido a partir de leite cru de vacas sadias, beneficiado na queijaria da propriedade de origem, sem a utilização de técnicas industriais, em microrregiões tradicionais em sua produção no Estado de Minas Gerais, ou seja, onde existam tradição histórica e cultural na produção de queijos artesanais (MINAS GERAIS, 2002). As microrregiões e os municípios que as compõem foram identificadas em portarias específicas após a solicitação junto ao IMA, através de organizações representativas dos produtores, mediante estudos feitos pela Empresa de Assistência Técnica e Extensão Rural do Estado de Minas Gerais EMATER/MG e Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais- EPAMIG, que comprovaram através de caracterização da região sua tradição histórica e cultural na atividade.

Os queijos Minas Artesanais já possuem regiões cadastradas para sua produção e padrão de produção estabelecido, entretanto os queijos artesanais de Minas Gerais ainda não são tradicionalmente conhecidos e sua região ou forma de produção não é reconhecida pelas legislações. O tipo de beneficiamento realizado em cada propriedade torna os queijos únicos, mas pela grande variedade e ausência de legislações para estes, ainda não possuem registros.

É possível utilizar a legislação que atende ao queijo Minas Artesanal como um auxílio para averiguação de qualidade, entretanto, a lei 14.185 de 2002, que estabelece padrões microbiológicos e físico-químicos já foi revogada, embora ainda seja utilizada. Além disso, a utilização dessa lei não seria suficiente para a obtenção de certificação. Uma alternativa seria a utilização dos padrões microbiológicos estabelecidos pelo Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Queijos, após a verificação do teor de umidade do queijo analisado (BRASIL, 1996). Ainda assim, seria necessário a criação de legislações específicas para cada produto, visto que existem diferenças quanto a composição dos queijos de diferentes espécies e quanto aos padrões microbiológicos destes.

Atualmente, já existem leis que abordam assuntos referentes aos queijos artesanais. A Lei mineira nº 23.157 de 2018, oficializa a produção artesanal de queijo de agroindústria de pequeno porte e possibilita a criação de variedades de queijos artesanais. Trata a produção artesanal do queijo como forma de agregação de valor à produção leiteira, permitindo o emprego de técnicas tradicionais ou inovações técnicas que garantam a qualidade e padronização do produto. Visa estimular a diversificação dos produtos e incentivar produtores, permitindo queijos feitos com leite de outras espécies domésticas, desde que, na sua denominação, contenha as espécies animais das quais o leite utilizado foi extraído (MINAS GERAIS, 2018). Essa lei estabelece o queijo como um dos símbolos da identidade mineira, a partir disso, a produção artesanal pode ser reconhecida e protegida pela administração pública estadual. Além disso, a Lei Federal nº 13.680 de 2018 permite a comercialização interestadual de produtos alimentícios produzidos de forma artesanal, com características de produção tradicionais ou regionais próprias e com aplicação das boas práticas agropecuárias e de fabricação, desde que submetidos à fiscalização (BRASIL, 2018). A Instrução Normativa nº5, delimita padrões de instalações, higiene e beneficiamento em estabelecimentos industriais de pequeno porte (BRASIL, 2017).

Mesmo que essas leis já tenham sido criadas, a efetivação delas ainda está em andamento, já que, os padrões de qualidade desses queijos ainda não foram estabelecidos, gerando dúvidas quanto as características necessárias para obtenção das certificações. Em contrapartida, esses regulamentos servem de incentivo aos produtores pela possibilidade da inclusão da agroindústria familiar de pequeno porte no mercado formal de produção e geram esperança para registro de queijos artesanais elaborados a partir do leite cru de outras espécies, desde que comprovada a segurança alimentar do produto, a saúde do animal e a adequação da produção.

3.2. Características do leite de ovelha cru

A disseminação de ovinos no Brasil ocorreu devido a facilidade de domesticação, transporte, facilidade de adaptação e ao atendimento às necessidades dos criadores. Os primeiros ovinos com aptidão leiteira foram trazidos ao Brasil em 1992 (BRITO *et al.*, 2006). A raça leiteira mais utilizada no país é a Lacaune, seguida pela East Friesian. Alguns produtores optaram pela utilização da Santa Inês, com o objetivo de melhorar a rusticidade e aptidão materna dos animais (SANTOS, 2016). A produção de leite ovino tem sido vista como alternativa sustentável, de fácil adoção pela mão de obra familiar e de baixo investimento inicial, podendo melhorar a qualidade de vida dos pequenos e médios produtores rurais (PENNA, 2011).

O leite de ovelha possui elevada taxa de β/α caseína, que promove uma coagulação mais rápida, quando comparada ao leite de vaca (MENDONÇA *et al.*, 2010). A gordura é composta por grandes quantidades de triglicerídeos de cadeia média, formados por ácidos graxos com 6 a 8 carbonos na cadeia. Os principais são o caproico, caprílico e cáprico (SANZ SAMPELAYO *et al.*, 2007). Essas características são favoráveis para a melhor absorção lipídica, já que os glóbulos de gorduras formados são menores e mais fáceis de serem digeridos.

O leite de ovino apresenta menor proporção de lactose em relação aos sólidos totais, devido ao alto teor de gordura e proteína. Por outro lado, a lactose é um nutriente valioso pois favorece a absorção intestinal de cálcio, magnésio e fósforo e a utilização de vitamina D. Uma porcentagem dessa lactose também é fermentada nos intestinos, abaixando o pH e ajudando a inibir o crescimento de bactérias putrefativas indesejáveis. Assim como ocorre no leite de outros mamíferos, durante a produção dos derivados, a lactose é fermentada em ácido lático e sua concentração diminui (HAENLEIN e PARK, 2006).

Em alguns trabalhos que abordaram a composição do leite de ovelha, observou-se a variação dos sólidos totais de 16,3 a 18,9 %; a gordura variou entre 5,3 e 7,9%; o teor de proteína total foi de 5,5% a 6,2%; a lactose variou entre 4,3 a 4,9%; o teor de caseína estava entre 4,2% a 4,6% e o cálcio obteve média de 193 mg/L (PULINA e NUDDA, 2002; FERREIRA, 2009; PARK *et al.*, 2007). O leite de ovelha tem maior densidade relativa, viscosidade, acidez titulável, menor ponto de congelamento, mais vitaminas e minerais, sendo cerca de 0,9% de minerais totais comparado a 0,7% no leite de vaca. O cálcio, fósforo, magnésio, zinco, ferro e cobre estão em maior concentração. O potássio, sódio e manganês se encontram em proporções maiores no leite de vaca (HAENLEIN e PARK, 2006). Na tabela 1 é apresentada uma comparação da composição do leite de alguns ruminantes domésticos e do leite humano.

Tabela 1. Composição dos nutrientes básicos dos leites de cabra, ovelha, vaca e humano

Composição	Cabra	Ovelha	Vaca	Humano
Gordura (%)	3,8	7,9	3,6	4,0
Sólidos não gordurosos (%)	8,9	12,0	9,0	8,9
Lactose (%)	4,1	4,9	4,7	6,9
Proteína (%)	3,4	6,2	3,2	1,2
Caseína (%)	2,4	4,2	2,6	0,4
Albumina e globulina (%)	0,6	1,0	0,6	0,7
N não proteico (%)	0,4	0,8	0,2	0,5
Cinzas (%)	0,8	0,9	0,7	0,3
Calorias (Kcal/100 mL)	70	105	69	68

Fonte: Adaptado de Park *et al.* (2007)

Como o leite gera um bom rendimento em seus derivados, não é economicamente vantajoso o consumo do leite fluido (FERREIRA, 2009). Brito *et al.* (2006) avaliaram a composição de leite de ovelha em diferentes períodos de lactação (7, 30, 60 e 140 dias). O pH médio do leite foi de 6,53, a acidez média obtida no estudo foi de 25,13°D, a densidade foi de 1,036 g/mL, proteína de 4,46%, lactose média de 4,76%, sendo que o maior valor coincidiu com o pico de produção. O teor médio de gordura foi de 5,79%, mostrando gradativo aumento com o progresso da lactação, resultado inverso ao da densidade. Os valores médios de contagem de células somáticas (CCS) foram de 171.750 UFC/mL.

3.3. Qualidade de queijos artesanais elaborados com leite de ovelha

A qualidade dos queijos depende de uma série de fatores, dentre os quais podem ser destacados a qualidade da água e do leite, além da adoção de tecnologias adequadas e da higiene do processo de beneficiamento, maturação e distribuição do produto.

3.3.1. Qualidade da água empregada na produção de queijos

A qualidade da água utilizada para higienização dos equipamentos e utensílios utilizados na ordenha ou na queijaria é muito importante no processo de elaboração dos queijos. A ocorrência de contaminações pode ser proveniente do local de captação da água, do reservatório ou mesmo como consequência de cloração deficiente (SALES, 2015). Se a água estiver contaminada pode atuar como veículo para microrganismos indesejáveis, contaminando alimentos e prejudicando a elaboração dos queijos.

Dessa forma, é fundamental a verificação da qualidade da água utilizada no beneficiamento dos queijos. Entretanto não existe uma legislação específica com padrões microbiológicos e físico-químicos para queijarias produtoras de queijo artesanal mineiro, para isso foram utilizados os padrões de aceitabilidade microbiológicos e físico-químicos estabelecidos pelo Decreto nº 42.645 de 2002, para utilização da água na produção de queijo Minas Artesanal e pela portaria da ANVISA nº 1469 de 29 de dezembro de 2000 e pela portaria nº 2.914 de 12 de dezembro de 2011, que descreve padrões de potabilidade de água. Os parâmetros físico-químicos que definem a qualidade e potabilidade da água de abastecimento são: dureza ≤ 500 mg/L; pH 6,0 a 9,5; cloro residual de até 2 ppm e cloretos ≤ 250 mg/L e os parâmetros microbiológicos envolvem a ausência de coliformes a 30°C e 45°C (NMP/100 mL) e contagem padrão em placas $\leq 5 \times 10^2$ UFC/mL (BRASIL, 2000; MINAS GERAIS, 2002b; BRASIL, 2011b).

Sales (2015) avaliou a qualidade de água em queijarias em Araxá e verificou que 33% das amostras estavam fora do padrão para coliformes totais, mas nenhuma para coliformes termotolerantes. Castro (2015), ao analisar a qualidade da água de queijarias do Campo das Vertentes, encontrou contagens superiores a 3 NMP/100 mL de coliformes a 30°C e a 45°C, tanto no período da seca quanto na chuva, em 50% das propriedades. A contagem de mesófilos aeróbios na água das queijarias no período da seca foi inferior à do período da chuva ($p < 0,05$), sendo que, no período da chuva os resultados estavam acima do permitido pela legislação. Uma propriedade que não realizava a cloração da água foi responsável pelos valores máximos dos microrganismos pesquisados. A falta de conformidade com a legislação, para coliformes a 30°C e mesófilos aeróbios, no período de chuva, também foram relatadas em águas usadas em queijarias artesanais na mesorregião do Campo das Vertentes (OLIVEIRA, 2014). Na chuva, a contaminação da água pode ser agravada pelo maior aporte de matéria orgânica presente no solo.

Em relação às propriedades físico-químicas da água das queijarias do Campo das Vertentes, Castro (2015) encontrou valores médios de pH e dureza dentro da faixa exigida pela legislação vigente. A concentração de cloro residual encontrado na água no período da seca foi superior a encontrada no período das águas ($p < 0,05$), já que durante a seca, a vazão de água no reservatório é menor, causando maior concentração de cloro neste período (50% das amostras apresentaram valor de cloro igual ou superior a 6,03). Por outro lado, os valores mínimos demonstraram falha na cloração e representam riscos de contaminação. Resultados semelhantes foram encontrados por Sales (2015), em que, todas as amostras de água de queijarias em Araxá foram reprovadas na avaliação de cloro residual por não apresentarem valores dentro dos limites estabelecidos pela legislação (BRASIL, 2011b).

3.3.2. Qualidade do leite empregado na produção de queijos

O leite é o principal componente para a elaboração de queijo, sendo a fonte de nutrientes e bactérias consideradas desejáveis. Quando a qualidade do leite está inadequada, a qualidade do queijo é prejudicada.

É importante a avaliação da contagem de células somáticas (CCS) e contagem bacteriana total (CBT) a fim de conhecer o estado sanitário do rebanho, incluindo risco de mastite ou contaminações microbianas no leite durante ou após ordenha, indicando ausência de higiene nas instalações e equipamentos.

Em um experimento de Olives *et al.* (2015), um total de 97 amostras de leite de tanque de ovelhas da raça Manchega foram agrupados de acordo com a contagem de células somáticas (CCS). Observou-se que a relação caseína:proteína e o teor de lactose diminuíram conforme o aumento

da CCS. A proteólise aumentou com concentração de CCS maior do que 500.000 células/mL. Além disso, o tempo de coagulação da coalhada aumentou com a elevação da CCS. Os resultados mostraram o baixo rendimento na elaboração do queijo devido a inflamação intramamária.

O leite com bom rendimento deve ser rico em componentes como a gordura e, principalmente, proteína (caseína) e deve possuir um bom equilíbrio mineral (cálcio e fósforo), para que ocorra a coagulação enzimática, gerando agregação da caseína (BARROS, 2012). A gordura é um dos componentes com maior quantidade no leite de ovelha e também contribui para o rendimento, mas a capacidade de retenção dessa gordura depende do teor em proteína. A gordura do leite exerce e influência direta na qualidade sensorial do queijo e pode desempenhar um papel importante no valor nutricional do produto final. Durante a maturação a lipólise e reações subsequentes induzem o aumento de ácidos graxos livres e o desenvolvimento do *flavour* do queijo (RAYNAL-LJUTOVAC *et al.*, 2008 e BARROS, 2012). A composição do leite é importante para a produção do queijo, pois, influencia tanto no rendimento quanto na qualidade do produto final.

Farahani *et al.* (2013) pesquisou sobre queijo de ovelha iraniano Siahmazgi e avaliou as características físico-químicas do leite utilizado na produção do queijo. Os valores médios de pH, acidez titulável e lactose do leite foram de 6,3, 21,33°D e 5,02%, respectivamente. Os resultados de matéria seca (15,72%), gordura (5,55%), proteína (4,57%) e cinzas (0,6%), foram considerados menores do que os de pesquisas relacionadas.

O objetivo das queijarias é, além de um produto de qualidade, obter um maior rendimento queijeiro, ou seja, obter mais queijo a partir de menor quantidade de leite. Para isso é imprescindível que o leite possua bons requisitos físico-químicos, tecnológicos e higiênicos.

3.3.3. Características físico-químicas dos queijos

Durante a produção de queijo, é feito o corte da coalhada em pedaços pequenos para drenagem do soro. Os grânulos são prensados, formando uma estrutura mais compacta e homogênea, com suas características (PINHO *et al.*, 2004). Proteína, umidade, gordura, acidez e cloreto de sódio são importantes propriedades físico-químicas avaliadas para caracterização de um novo produto e avaliação de qualidade. O aumento do cloreto de sódio (NaCl) e a redução da umidade e do pH podem garantir maior segurança alimentar, durante o processo de maturação, pois, favorecem a eliminação de bactérias indesejáveis (CASTRO, 2015).

Pisano *et al.* (2006) avaliaram as características físico-químicas e microbiológicas de 12 amostras do queijo artesanal Fiore Sardo, um queijo com Denominação de Origem Protegida (DOP), com massa dura, produzido a partir de leite de ovelha. Houve redução significativo ($P < 0,05$) da umidade com consequente aumento dos sólidos totais no decorrer do tempo de maturação. As características foram avaliadas com 48 horas de maturação, um mês, três meses, seis e nove meses de maturação. No entanto, só houve aumento de NaCl significativo ($P < 0,05$) com até um mês de maturação e ausência de diferença significativa quanto ao teor de proteína, nitrogênio total e gordura ($P > 0,05$). Resultados semelhantes foram encontrados por Farahani *et al.* (2013) que investigaram o efeito do tempo de maturação sobre características físico-químicas de 18 amostras de queijo iraniano Siahmazgi durante seis meses. O queijo Siahmazgi possui massa dura e gordurosa, com leite de ovelha ou misturado com leite de cabra e mantido em pele de carneiro durante a maturação, em temperatura e umidade controladas. Os valores de pH diminuíram com a maturação, enquanto que a acidez e os teores de matéria seca, gordura, proteína, cinzas, sal, nitrogênio solúvel em água e nitrogênio não protéico aumentaram significativamente durante a

maturação ($P < 0,05$). O aumento da matéria seca se justifica pela perda de umidade, além disso, o aumento do teor de sal contribuiu para o aumento do teor de cinzas.

A lipólise, proteólise e o pH desempenham um papel importante na alteração do sabor, aroma e textura do queijo. As alterações no pH estão diretamente relacionadas a mudanças químicas na rede de proteínas da coalhada de queijo. A influência da atividade da água e do teor de sal nas propriedades reológicas do queijo é indireta. Diminuições na atividade da água (a_w) de forma significativa a taxa de atividade proteolítica no queijo. Uma alta concentração de sal aumenta a pressão osmótica, desviando uma quantidade significativa de água das ligações estruturais da rede de caseína (PINHO *et al.* 2004).

O conhecimento da composição do produto estudado também é útil para a classificação dos queijos quanto ao Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de produtos lácteos (RTIQ), que define o conteúdo de umidade dos queijos como: de baixa umidade ou massa dura, até 35,9% de umidade; queijos de média umidade ou massa semidura, 36,0 a 45,9%; de alta umidade ou "macios", 46,0 a 54,9% e queijos de muita alta umidade ou massa "mole", de umidade não inferior a 55,0% (BRASIL, 1996).

Também é definido no RTIQ o conteúdo de matéria gorda. Baseado neste componente, o queijo se classifica em: extra gordo ou duplo creme, mínimo de 60% de gordura; gordos, com valores entre 45,0 e 59,9%; semigordo, com 25,0 a 44,9%; magros, 10,0 a 24,9% e desnatados, com valores menores do que 10,0% (BRASIL, 1996). Esta classificação se aplica a todos os tipos de queijos e, ainda, permite ao laticínio a denominação e especificação das características de cada variedade.

Pinho *et al.* (2004) avaliaram amostras de queijo Terrincho, feito com leite cru de ovelha, durante a maturação, típico da região nordeste de Portugal. Os autores relataram que o teor médio de proteína era de 40%, teor de gordura de 50%, NaCl de 5,5% e cinza de 1,5%. A umidade e a atividade de água apresentaram diferenças significativas durante os 60 dias de maturação. A acidez aumentou durante a maturação e o pH diminuiu até 30 dias e aumentou ligeiramente entre 30 e 60 dias, confirmando assim a importante atividade metabólica das bactérias ácido láticas.

3.3.4. Características microbiológicas dos queijos

Os queijos artesanais mineiros possuem uma microbiota diversa, diretamente influenciada pela região, clima de produção e processo de beneficiamento. No entanto, a utilização do leite cru para a produção desses queijos e a elevada manipulação desse produto pode trazer riscos para a saúde por veicular bactérias patogênicas, como: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella spp.*, entre outras.

Salmonelas são bacilos Gram-negativos, anaeróbicos facultativos, pertencentes à família Enterobacteriaceae. Podem se multiplicar em diversas condições ambientais e, dessa forma, são amplamente distribuídos na natureza, com seres humanos e animais sendo seus principais reservatórios. A transmissão resulta da ingestão de alimentos, águas e fezes contaminados (GERMANO e GERMANO, 2011). O habitat primário de *Salmonella spp.* é o trato intestinal de animais como pássaros, répteis, animais de fazenda, humanos e, ocasionalmente, insetos, mas também podem ser encontrados em outras partes do corpo (JAY, LOERSSNER e GOLDEN, 2005). Estas bactérias podem se multiplicar em temperaturas que variam de 7°C a 49,5°C, sendo a temperatura ótima de 37 °C, porém, não toleram altas temperaturas e são destruídas na pasteurização do leite. Também não toleram valor de a_w menor que 0,94, pH inferior a 3,8 e

salmouras com concentração maior que 9% (GERMANO e GERMANO, 2011; JAY, LOERSSNER e GOLDEN, 2005). Não fermentam lactose ou sacarose, sendo assim, a produção de gás raramente pode ocorrer pela fermentação da glicose e alguns outros monossacarídeos. Essas bactérias são capazes de causar doenças no ser humano como a febre tifoide, as febres entéricas e as salmoneloses. Os sintomas são caracterizados normalmente por diarreia, febre, dores abdominais e vômitos (JAY, LOERSSNER e GOLDEN, 2005).

Segundo Forsythe (2002), coliforme é um termo geral para bactérias Gram negativas, anaeróbias facultativas, pertencentes a família Enterobacteriaceae. Esses microrganismos podem ser encontrados no trato gastrointestinal de humanos e outros animais (*Escherichia coli*) ou podem ser bactérias não entéricas (espécies de *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Klebsiella* e *Serratia*, dentre outras) (BRENNER e FARMER III, 2005).

Coliformes totais são aqueles microrganismos capazes de fermentar a lactose com produção de gás, em 24 a 48 horas a 35°C. Os coliformes termotolerantes ou comumente chamados coliformes fecais fermentam a lactose, no período de 48 horas, a 45,5°C, com produção de gás. A principal espécie no grupo dos coliformes a 45°C é *Escherichia coli* (FORSYTHE, 2002), causadoras de importantes enfermidades trato gastrointestinais. São conhecidas algumas classes enterovirulentas do patógeno, responsáveis pelas gastroenterites, como: as enteropatogênicas, enterotoxigênicas, enteroinvasiva e entero-hemorrágica (BRENNER e FARMER III, 2005). A presença de coliformes pode indicar más condições de higiene nos processos de fabricação dos alimentos e falhas de pasteurização ou contaminação após o aquecimento. A presença de *E. coli* é indicador de contaminação fecal em alimentos *in natura*.

Staphylococcus spp. são microrganismos Gram-positivos, homofermentadores de ácido-lático e apresentam temperatura ótima de 37°C (BIER, 1984). A contaminação por *Staphylococcus spp.* em queijos ocorre principalmente por meio do leite de qualidade insatisfatória, pelo manipulador, pelo ambiente e por utensílios mal higienizados (SALES, 2015). O principal representante do gênero é o *Staphylococcus aureus*. Esse microrganismo apresenta a característica de tolerar baixa atividade de água (0,86 mínimo) e concentrações de sal mais elevadas. Todas as estirpes são coagulase-positiva, mas apenas 50%, aproximadamente, produzem enterotoxinas estáveis ao calor associadas a intoxicações alimentares nos humanos. A contaminação com 10⁶ UFC/g de *Staphylococcus aureus* indica alto risco de intoxicação (GERMANO e GERMANO, 2011). A metodologia para contagem de *S. aureus*, no que se refere aos resultados da prova de coagulase, apresenta limitações quanto à especificidade, devido ao fato de que algumas espécies de *Staphylococcus*, como o *S. intermedius*, *S. hyicus*, *S. delphini* e *S. schleiferi ssp coagulans*, também serem coagulase positivas (BRASIL, 2013). A fonte principal de *S. aureus* é o organismo humano. Muitas das pessoas portadoras desse microrganismo os possuem principalmente nas narinas, mãos e outras partes do corpo, além dos pelos. Os animais também são fontes importantes desses microrganismos e, estes, podem ser encontrados nos úberes e tetos, causando mastite (HAYES, 1993).

A presença dos bolores e leveduras é, na maioria dos casos, indesejável. Estes podem representar deficiências de higiene durante o processamento dos queijos. No entanto, existem bolores e leveduras úteis na produção de queijos. Os esporos de bolores presentes no ar requerem oxigênio para crescimento e esporulação e, em geral, crescem em superfícies de queijos. As leveduras (fungos unicelulares) são contaminantes naturais (superfícies molhadas, leite derramado e soro). Altos teores de sal na superfície do queijo fazem com que haja migração de umidade, criando ambiente favorável as leveduras (ZACARCHENCO *et al.*, 2011). As condições de umidade, temperatura, teor de sal criam condições seletivas para leveduras e bolores. Os bolores toleram

valores de atividade de água (a_w) mais baixos do que as bactérias (abaixo de 0,7), as leveduras ocupam um lugar intermediário entre as bactérias e bolores, tolerando níveis de 0,9 de a_w (HAYES, 1993). Por possuírem características proteolíticas e lipolíticas e pelo metabolismo heterofermentativo, exercem forte influência no aroma e sabor dos queijos, mas podem causar sua deterioração (SALES, 2015). Algumas espécies de bolores produzem micotoxinas que representam riscos à saúde. As micotoxicoses se devem a ingestão de metabolitos tóxicos produzidos por fungos que crescem em alimentos. As aflatoxinas têm importância na saúde pública, permanecem no leite mesmo após a pasteurização e são hepatocarcinogênicas (GERMANO e GERMANO, 2011).

Pamela *et al.* (2018) realizaram um estudo sobre queijo italiano produzido com leite cru de ovelhas e maturado em cavernas. Os autores pesquisaram os fungos presentes nesses queijos e o potencial risco toxigênico e encontraram, principalmente, espécies de *Aspergillus* e *Penicillium*, sendo que, algumas espécies eram produtoras de toxinas. Dessa forma, a possível contaminação por micotoxinas na superfície dos queijos gera preocupações quanto a segurança alimentar. Entretanto, *Aspergillus flavus* foi isolado de uma única amostra e uma única micotoxina foi detectada, podendo estar associada a presença de *A. westerdijkiae* ou *A. steynii*, encontrados na superfície de alguns queijos.

As bactérias ácido-láticas (BAL) são Gram positivas, catalase-negativas e não formadoras de endosporos. Possuem inúmeras associações com seres humanos, fazendo parte da microbiota intestinal natural adquirida após o nascimento e estão presentes em uma ampla variedade de produtos alimentícios. Podem inibir a microbiota patogênica de queijos por possuir fatores antimicrobianos, capacidade de redução de pH e pela competição de nutrientes, dessa forma, são consideradas benéficas na elaboração dos derivados lácteos. São principalmente mesófilas e ácido-tolerantes. São divididas entre bactérias homofermentativas (*Pediococcus*, *Streptococcus*, *Lactococcus* e alguns *Lactobacillus*) e heterofermentativas (*Weisella*, *Leuconostoc* e alguns *Lactobacillus*) (FORSYTHE, 2002).

Em queijos artesanais de ovelha produzidos na região da Sardenha, na Itália, foram encontrados de forma predominante, durante três meses de maturação, as bactérias: *Lactococcus lactis* ssp. *lactis*, *Enterococcus faecium*, *Lactobacillus plantarum* e *Lactobacillus casei* (PISANO et al., 2006)

3.4. Importância da maturação na segurança e na qualidade de queijos artesanais

Sabe-se que a maturação gera alterações físico-químicas e microbiológicas, como a perda de umidade, aumento dos sólidos, queda do pH, redução de microrganismos indesejáveis e estabelecimento de uma microbiota desejável. Todos esses fatores acrescentam sabor, cheiro, cor e textura característicos ao produto final.

Cardoso (2011) estudou o queijo Minas Artesanal do Serro durante diferentes períodos de maturação. Em sua pesquisa, altas contagens de coliformes totais e termotolerantes foram encontradas, mas reduziram nos queijos com 60 dias de maturação. Houve redução na contagem de *Staphylococcus coagulase* positivo e, somente, após 45 dias as contagens atenderam ao parâmetro estabelecido na legislação. Um aumento na contagem de levedura foi observado e espécies diferentes foram encontradas em período seco e chuvoso. A grande variação nos parâmetros físico-químicos indicou a falta de padronização no processo de produção do queijo. Martins (2006) também pesquisou o queijo artesanal do Serro e encontrou resultados semelhantes ao se tratar do efeito da maturação nas características microbiológicas dos queijos. As contagens

de *Staphylococcus* coagulase positivo e *E. coli* reduziram atingindo os padrões estabelecidos na legislação aos 17 dias. Os teores de sólidos totais aumentaram, enquanto a umidade reduziu. Sales (2015) pesquisou queijos artesanais da microrregião de Araxá e concluiu que o tempo de maturação influenciou diretamente na microbiota do queijo, uma vez que houve redução significativa ($P < 0,05$) na contagem dos microrganismos indesejáveis. Os queijos foram classificados como gordos e de média umidade. A partir de 14 dias os queijos atenderam a legislação para queijo Minas Artesanal.

Pisano *et al.* (2006) ao avaliar as características microbiológicas de 12 amostras do queijo artesanal Fiore Sardo relataram a diminuição significativa de coliformes totais e estafilococos, caindo para níveis abaixo de $2 \log^{10}$ UFC/g, aos 3 meses de maturação. As bactérias ácido-láticas foram os microrganismos dominantes ao longo da maturação. Baixos níveis de leveduras foram detectados. *Listeria* e *Salmonella* estavam ausentes em todas as amostras. Em contrapartida, Oliveira (2014), ao caracterizar o queijo Minas Artesanal produzido na mesorregião do Campo das Vertentes, durante 60 dias de maturação, não encontrou diferenças significativas para a queda de microrganismos indesejáveis. Para os padrões físico-químicos do queijo, a adequação às legislações ocorreu entre os dias 10 e 15. Se tratando das contagens de bactérias, os resultados variaram de acordo com as propriedades nas quais as amostras foram coletadas. O tempo recomendado de maturação variou de 7 a 45 dias no período de seca e 7 e 60 dias na chuva, pelas elevadas contagens de coliformes totais e termotolerantes.

Os riscos de produção de queijo a partir do leite cru são imensuráveis, sendo necessário um controle rigoroso de qualidade nas etapas de produção, dessa forma, a maturação pode ser considerada apenas um fator que auxilia a inocuidade dos queijos. A qualidade microbiológica do queijo é influenciada pela qualidade da água da queijaria, do soro-fermento utilizado, do leite, das boas práticas de fabricação aplicadas, pela higiene durante a obtenção do leite, pela higiene durante o beneficiamento dos queijos e saúde dos animais. A contaminação dos queijos representa um risco para a população consumidora, quando estes são elaborados de forma inadequada e sem o devido tempo de maturação.

3.5. Boas práticas Agrícolas e Boas Práticas de Fabricação: importância na qualidade dos queijos

A avaliação das condições de criação dos animais e dos fatores interferentes na qualidade do leite é essencial para se assegurar a qualidade de vida da sociedade de consumo e dos pastores (PENNA, 2011). Diversos fatores relacionados as condições de manejo da produção animal alteram diretamente a composição do leite usado para elaboração do queijo, tais como genética, idade, número de crias, estágio de lactação, alimentação, saúde dos animais, tipo de ordenha, dentre outros. Se a genética do animal não for boa, não há alternativas externas capazes de melhorar significativamente a composição do leite. É comum o cruzamento entre raças puras para aumentar a quantidade de leite, mas a composição pode ser alterada (BARROS, 2012).

Penna (2011) avaliou a composição do leite de ovelhas Lacaune, Santa Inês e Mestiças alimentadas com semente de soja e linhaça. A produção individual de leite foi medida semanalmente e foram colhidas amostras para a análise da composição centesimal. Os resultados demonstraram menor ($P < 0,05$) produção leiteira das ovelhas Santa Inês (438,78 mL/dia), enquanto os genótipos $\frac{1}{2}$ Lacaune x $\frac{1}{2}$ Santa Inês, $\frac{3}{4}$ Lacaune x $\frac{1}{4}$ Santa Inês e Lacaune obtiveram maiores médias, em ordem decrescente ($P < 0,05$). Foi também observado efeito significativo do genótipo sobre a composição do leite, sendo o leite das ovelhas Santa Inês e das mestiças $\frac{1}{2}$ Lacaune x $\frac{1}{2}$ Santa Inês os mais ricos ($P < 0,05$) em constituintes.

A quantidade de leite produzida aumenta com a idade, sendo mais elevada entre a 3ª e a 6ª lactações. O número de partos e número de lactações estão diretamente relacionados com a idade do animal. Os maiores produtores de leite são os que tem uma lactação mais duradoura. O número de crias pode aumentar a quantidade de leite produzido, mas reduzir o rendimento (BARROS, 2012).

Segundo Brito (2006) a produção de leite diminuiu com o com o estágio da lactação, enquanto os conteúdos de gordura, proteína e sólidos totais e desengordurados aumentaram e o conteúdo de lactose teve seu pico com 30 dias de lactação. Resultados semelhantes foram encontrados por Penna (2011) que observou efeito ($P < 0,05$) dos dias em lactação sobre a produção de leite e sobre a composição do leite de todos os genótipos estudados, com tendência de aumento dos teores dos constituintes em função do avanço da lactação, enquanto a produção diminuiu.

Segundo Barros (2012) a ordenha mecânica, no geral, aumenta a incidência de mastites, pelo maior desafio quando aos procedimentos de higiene, evidenciando diferenças de composição de leite ordenhado manualmente. É fundamental que sejam adotadas todas as boas práticas de ordenha e que o estado sanitário do úbere esteja em condições saudáveis, de forma a prevenir infecções. As mastites podem reduzir o rendimento dos queijos.

Entre os pontos decisivos que podem influenciar a produção leiteira e composição, um dos mais marcantes é a alimentação. A lactação é uma fase de alta exigência nutritiva por parte do animal, sendo necessário o fornecimento de dietas balanceadas para atingir suas exigências (NATEL, 2010). Estudos demonstram que a dieta influencia principalmente a percentagem de gordura e também pode ter influência na composição proteica.

Correa *et al.* (2008) realizaram um estudo comparando as características do leite de ovinos da raça Corriedale em diferentes níveis de suplementação e demonstraram que os teores de proteína, gordura, lactose e a produção de leite aumentaram significativamente ($P > 0,05$) em animais suplementados. Penna (2011), ao suplementar ovinos com soja, verificou aumento significativo na produção de leite ($P < 0,05$), mas pouca variação na composição. Segundo Natel (2012), a quantidade de fibra na dieta afeta a composição dos ácidos graxos, sendo que os maiores teores de fibra proporcionaram aumento nos teores de ácidos graxos insaturados, monoinsaturados e poliinsaturados, porém menores teores de ácido linoléico. A redução do teor de fibra da dieta promove diminuição do tempo gasto com a mastigação ruminação, e consequente redução do pH ruminal, que pode desfavorecer o crescimento de microrganismos celulolíticos e a relação acetato:propionato e, desta forma, afetar o teor de gordura do leite.

Assim sendo, as práticas adotadas para criação dos animais e boas práticas de ordenha aliadas a infraestrutura das instalações e treinamento dos funcionários são essenciais para se obter um leite de qualidade. A qualidade do leite pode ser afetada por contaminantes presentes no ambiente, fezes dos animais, infecções mamárias ou por microbiota natural das glândulas mamárias, falta de higiene dos animais, do equipamento de ordenha ou mesmo do tratador. A maior manipulação aumenta o potencial de contaminação (BARROS, 2012). A Instrução Normativa nº 30 exige, na produção do queijo Minas Artesanal, a implementação de Programa de Controle de Mastite, Programa de Boas Práticas de Ordenha e de Fabricação, incluindo o controle dos operadores, controle de pragas e transporte adequado do produto até o entreposto; e cloração e controle de potabilidade da água utilizada nas atividades (BRASIL, 2013).

É importante que o leite provenha de animais saudáveis, que a ordenha seja feita higienicamente e que o leite seja feito o controle da temperatura de estocagem, principalmente, se tratando de

leite cru na produção dos queijos. Para minimizar ou eliminar os riscos para a saúde ou os riscos tecnológicos deve-se evitar as contaminações, trabalhando em condições adequadas desde o estábulo até à utilização do leite e a transformação (BARROS, 2012). O estudo das Boas Práticas Agrícolas e Boas Práticas de Fabricação aplicadas nas propriedades beneficiadoras é fundamental como complemento de pesquisas que avaliem a qualidade dos queijos produzidos.

Segundo Brito (2008), as Boas Práticas Agrícolas são atividades realizadas na propriedade produtora de leite, que estão relacionadas a saúde e bem-estar dos trabalhadores, a saúde dos animais e a elaboração de produtos saudáveis em ambiente sustentável. Para o autor as BPA são análises referentes a:

- Saúde animal

Histórico de compras de animais, transporte, manutenção dos limites territoriais (cercas, arames, que impede contato com outros animais), programa de controle de pragas, identificação dos animais, calendário de vacinação, monitoramento de animais doentes e tratamento, isolamento dos doentes, registros de medicamentos usados, prevenção das zoonoses, verificação da existência do profissional habilitado ao tratamento dos animais, armazenamento de medicamentos e capacitação dos funcionários.

- Higiene de ordenha

Como práticas de higiene de ordenha, avaliar e listar a forma de obtenção do leite, equipamentos, armazenamento, procedimento de ordenha, descarte do leite de animais doentes, higiene das instalações e equipamentos. Avaliar a temperatura de estocagem do leite, tempo para estocagem e limpeza da área.

- Alimentação do animal e água

Assegurar a qualidade do alimento e da água, por meio da avaliação da higiene dos bebedouros e temperatura da água, avaliação dos equipamentos para preparação de alimentos, verificação do uso de aditivos químicos, estocagem e rejeição de alimentos estragados.

- Bem-estar animal

Deve-se garantir que os animais sejam mantidos livres de fome, sede e subnutrição; livres de desconforto, por meio de construções seguras, protegidas e ventiladas. Deve-se avaliar adoção de procedimentos de parto e desmame, procedimentos para ordenha e procedimentos de abate.

- Ambiente

Observar a área de reserva florestal legal, tratamento de efluentes, proteção de nascentes de água, destino adequado do lixo e dos recipientes de químicos utilizados na propriedade.

Conforme descrito em EMBRAPA/MAPA (2015) as Boas Práticas de Fabricação estão relacionadas a:

- Instalação

Avaliar o fluxo de produção, características das paredes, pisos, tetos, escoamentos, portas, janelas, instalações elétricas; visando o bem-estar no trabalho, a higiene das instalações e a segurança do alimento.

- Pessoal

Deve-se ter a garantia de higiene de mãos e botas, uso de aventais e máscaras protetoras, a não utilização de adornos, utilização de uniformes, higiene das unhas e conduta adequada do profissional.

- Controle de pragas

O controle de pragas deve ser avaliado em todas as etapas da produção. Assim, deve-se evitar a entrada de insetos em portas, janelas e ralos. É necessária a avaliação periódica da presença ou ausência de roedores. A forma de prevenção de pragas também deve ser listada, seja ela, química ou física.

- Operações

Registrar todo o processo de recepção da matéria-prima, estoque, processamento, embalagem, armazenamento do produto final e produtos químicos.

- Registro e documentação

Avaliar o manual de BPF disponibilizado pela agroindústria e verificar sua aplicação.

Todas as etapas de produção e produtos utilizados são importantes para a qualidade dos queijos. Esse fator ressalta a necessidade da avaliação da aplicação de BPA, BPF, verificação da qualidade da água do estabelecimento, do leite, de soro-fermento e, por fim, do queijo, conforme descrito na metodologia abaixo.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Amostragem

O experimento contou com a participação voluntária de uma agroindústria familiar de pequeno porte, localizada em Minas Gerais. A propriedade possui registro no Instituto Mineiro de Agropecuária (IMA) para a produção iogurte de leite de ovelha e queijo tipo *Boursin*, principal atividade econômica na fazenda, mas não exclusiva. O responsável pela propriedade produz um queijo artesanal maturado, tradicional e de características únicas, feito com leite de ovelhas da raça Lacaune e algumas mestiças de Santa Inês. O queijo artesanal de ovelha foi desenvolvido, mas diante das questões legais, ainda não tem o devido registro nos órgãos fiscalizadores.

O ovil foi visitado seis vezes e foram registrados o fluxograma da produção do queijo e a adoção de BPA e BPF, a fim de verificar a adequação das mesmas. Foi registrado também as variações de umidade e temperatura no local de maturação dos queijos, através de um aparelho medidor localizado nesta área. Além disso, foram analisados seis lotes de produção de queijo artesanal.

Para cada lote foram feitas quatro amostras de queijos, de aproximadamente 500 gramas, para avaliação em diferentes períodos de maturação (0, 15, 30 e 45 dias). Pequenas variações no peso dos queijos ocorreram em vista do baixo volume diário de leite produzido pelos animais e pela elevada demanda no dia da produção das amostras para o experimento.

As amostras do dia zero (dia de beneficiamento) foram transportadas sob refrigeração, embaladas em papel alumínio estéril, para o laboratório do Departamento de Tecnologia e Inspeção de Produtos de Origem Animal da Escola de Veterinária da UFMG (DTIPOA/EV/UFMG) e, imediatamente, encaminhadas aos procedimentos de análise. Queijos do mesmo lote, das quais as amostras zero foram coletadas, continuaram na propriedade para maturação até os tempos propostos, quando foram novamente coletados e analisados.

Os três primeiros lotes de queijos foram coletados e analisados nos meses de fevereiro a maio, os três últimos nos meses de agosto a novembro de 2018. Para os três lotes feitos no segundo período experimental, foram adotadas algumas práticas de BPF e manejo de ordenha, não realizadas inicialmente. Tendo em vista o número de repetições (lotes) e os períodos de maturação, o experimento contou com um total de 12 amostras avaliadas antes da adoção de BPF e manejo de ordenha e 12 avaliadas após a aplicação dessas práticas.

As coletas de leite, fermento e água ocorreram nas mesmas visitas em que foram feitas a avaliação das BPA e BPF e a produção dos queijos. A água foi coletada na torneira situada dentro da queijaria e o leite foi obtido no latão, logo após a ordenha e após ser filtrado. O transporte do leite, fermento e água foi feito em garrafas de vidro de 500 mL estéreis e caixas de isopor contendo gelo.

Na primeira etapa do experimento foi utilizado soro de queijos de ovelha como fermento para beneficiamento de outras amostras de queijos e esses soros foram coletados e analisados. No entanto, para a obtenção do soro-fermento inicial foi adicionado uma cultura comercial (CH®), comumente utilizadas na produção de queijos Grana Padano. O soro retirado dessa produção inicial foi utilizado para o beneficiamento do queijo no dia seguinte e, assim por diante. Vale ressaltar que a adição dessa cultura para queijos Grana Padano ocorreu bem antes do início das pesquisas. Posteriormente foi utilizado como fermento apenas o soro obtido na produção de queijos no dia anterior (armazenados em geladeira).

Na segunda etapa a utilização do soro-fermento foi substituída por iogurte como cultura iniciadora para produção dos queijos. O iogurte era fabricado na propriedade a partir de leite de ovelha e possuía registro junto ao Instituto Mineiro de Agropecuária (IMA). Nesta etapa, foram feitas as coletas da água, leite e do iogurte.

4.2. Relatórios de avaliação de boas práticas

A adoção das BPA e BPF foram monitoradas durante as seis visitas feitas na propriedade e durante a produção dos queijos. Todo que era aplicado foi registrado em relatórios elaborados para esta pesquisa.

As BPF registradas foram aquelas que abrangeram as avaliações quanto as instalações, saúde e higiene dos funcionários, controle de pragas, controle operacional e avaliação dos registros e documentações, conforme descrito em EMBRAPA/MAPA (2015) e as observações foram informadas ao responsável.

Conforme descrito por Brito (2008), as BPA avaliadas foram referentes aos itens relacionados a saúde dos animais, higiene de ordenha, alimentação dos animais e oferta de água, bem-estar animal, ambiência e fichas zootécnicas do estabelecimento.

Junto ao registro das BPA e BPF fez-se um acompanhamento de todo o processo de elaboração dos queijos, incluindo o “passo a passo” da produção e controle de temperatura e umidade relativa do local de beneficiamento e de maturação destes.

Além disso, foram feitas adequações durante a segunda parte do experimento com base nos critérios de BPF obtidos na primeira parte do experimento e segundo um *check list* sobre manejo de ordenha, nomeado como Índices de Controle e Prevenção de Mastite (ICPM). O objetivo do ICPM foi a averiguação dos protocolos de higiene pré-ordenha, durante a ordenha e após a ordenha pelos funcionários e aplicação de ajustes para a adequação. Através disso, é possível obter uma porcentagem que classifica o manejo de ordenha como ruim, médio ou bom.

4.3. Análises laboratoriais

4.3.1. Análise microbiológica e físico-química da água

Foi realizada a coleta de água que abastece a queijaria. Esta foi monitorada quanto à contagem de microrganismos mesófilos aeróbios (UFC/mL); número mais provável de coliformes a 30°C e a 45°C (NMP/mL); teores de cloro residual (ppm), pH, acidez (mg/L), cloretos (mg/L) e dureza (mg/L) (BRASIL, 2003; BRASIL, 2006).

4.3.2. Análise microbiológica e físico-química do leite e soro-fermento

Para o controle da qualidade físico-química e microbiológica do leite das ovelhas e fermento utilizados na produção dos queijos, foram coletadas seis amostras de leite de conjunto (utilizados na produção dos queijos na primeira e na segunda parte do experimento), três de soro-fermento (apenas na primeira etapa do experimento) e três de iogurte (utilizado na segunda parte do experimento).

Os frascos com as amostras de leite de ovelha foram conservados em Bronopol® e foram encaminhados para o Laboratório de análise da qualidade do leite (LabUFMG) para a determinação da composição centesimal pelo método de citometria de fluxo e a contagem de células somáticas (CCS) por citometria de fluxo no infravermelho, Delta CombiScope™ FTIR (Delta Instruments, Drachten, Holanda). As amostras conservadas em Azidiol® foram submetidas à contagem bacteriana total (CBT) por radiação no infravermelho, no equipamento BactoScan FC® (Foss Analytics, Dinamarca, Hilleroed) (ISO 9622:2013 – IDF 141).

Os parâmetros microbiológicos analisados para os fermentos (soro e iogurte) e leite foram contagens de coliformes a 30°C e 45°C (AOAC, 1986), *Staphylococcus* spp., *Staphylococcus* coagulase positivo, BAL e pesquisa de *Salmonella* spp. (BRASIL, 2003). Os parâmetros físico-químicos analisados foram acidez Dornic (D°), densidade avaliada em termolactodensímetro e ponto de congelamento (BRASIL, 2006).

4.3.3. Análise microbiológica e físico-química dos queijos

A Instrução Normativa nº68 de 12 de dezembro de 2006 (BRASIL, 2006) regeu a metodologia de determinação de umidade pelo método gravimétrico, gordura pelo método de Gerber, compostos nitrogenados pelo método de Kjeldahl, cloretos pelo método argentométrico, determinação da acidez titulável, pH e pesquisa de amido. As análises físico-químicas foram realizadas em triplicata.

O queijo foi analisado quanto às contagens de bactérias ácido-láticas (International..., 1988; Resende, 2010), contagem de coliformes a 30°C e 45°C (AOAC, 1986), *Staphylococcus* spp. (UFC/g), *Staphylococcus* coagulase positivo (UFC/g), bolores e leveduras (UFC/g), pesquisa de *Salmonella* spp. (UFC/g), seguindo a Instrução Normativa n.º 62, de 26 de agosto de 2003 (BRASIL, 2003).

4.4. Metodologia das análises microbiológicas

Para análises microbiológicas foram realizadas diluições seriadas das amostras (queijo, leite e soro-fermento) a fim de se obter a contagem ou a detecção dos diferentes microrganismos testados. A diluição 10^0 é a que corresponde ao próprio produto, ou seja, o produto puro, posteriormente, tem-se a diluição 10^{-1} . Para esta primeira diluição, alíquotas de 25 mL de água, leite e soro-fermento, foram adicionadas em três frascos de 225 mL de salina peptonada 0,1% e foram pesados 25 g de queijo, em sacos *Stomacher*, trituradas e homogeneizadas com 225mL do mesmo diluente.

Após homogeneização, seguiram-se as diluições posteriores. Neste caso, foram transferidas alíquotas de 1mL da diluição 10^{-1} para tubos contendo 9 mL de salina peptonada 0,1%, para se obter a diluição 10^{-2} e, assim, sucessivamente, até a diluição 10^{-9} para queijo, 10^{-9} para leite e soro-fermento e 10^{-2} para água.

4.4.1. Contagem de coliformes a 30°C e *E. coli*

Foi utilizado o método rápido Petrifilm® da 3M (AOAC, 1986) para leite, soro-fermento e queijos. Foram inoculados 1 mL das diluições 10^{-1} a 10^{-4} nas placas Petrifilm®. As placas foram incubadas a 36°C, por, 24 horas, para contagem de coliformes 30°C e por 48 horas para contagem de *E. coli*. Após o crescimento, as placas que continham entre 15 e 150 colônias foram contadas. As colônias que representam coliformes a 30°C devem ficar rosas, com produção de gás; as que representam *E. coli*, devem ficar roxas, com produção de gás.

4.4.2. Contagem de Bolores e Leveduras

Foram plaqueadas alíquotas de 0,1 mL das diluições de 10^{-2} a 10^{-9} das amostras de queijo em ágar batata dextrose 2% (*Acumedia*, Baltimore, Estados Unidos), com adição de ácido tartárico 10% (*Dinamica*, Indaiatuba, São Paulo). Utilizou-se a alça de Drigalsky para espalhar o inóculo pela superfície do ágar, iniciando pela maior diluição. As placas foram incubadas em temperatura ambiente por 7 dias. Após crescimento, as placas que continham entre 15 e 150 colônias foram contadas (BRASIL, 2003).

4.4.3. Contagem de *Staphylococcus* spp.

Foram pipetados volumes de 0,1 mL das diluições 10^{-2} até 10^{-8} das amostras de leite, soro-fermento e queijo em placas contendo ágar Baird-Parker (*Acumedia*) enriquecido com emulsão de gema de ovo e telurito de potássio (*Laborclin*, Vargem Grande dos Pinhais, Brasil). Utilizou-se a alça de Drigalsky para espalhar o inóculo pela superfície do ágar, iniciando pela maior diluição. As placas foram incubadas a 36°C, por 48 horas. Após crescimento, as placas que continham entre 20 e 200 colônias foram contadas e classificadas em típicas ou atípicas (BRASIL, 2003).

4.4.4. *Staphylococcus* coagulase positivo

Foram selecionadas as placas utilizadas na pesquisa *Staphylococcus* spp. de maior diluição que continham entre 20 e 200 colônias para verificação de *Staphylococcus* coagulase positivo. Nas placas em que as colônias de um só tipo foram encontradas, foram selecionadas 5 colônias. Entretanto, nas placas em que os dois tipos de colônias foram encontrados, três de cada tipo foram selecionadas, inoculadas, com auxílio de alças de inoculação, em caldo *Brain Heart Infusion* (BHI) (*Acumedia*) e incubadas a 36°C por 24 horas.

Após a incubação, 300 µL de plasma de coelho (*Laborclin*) hidratado com salina 0,85% foram adicionados em tubos de vidro estéreis junto a mesma quantidade do cultivo em BHI (*Acumedia*). Os tubos foram incubados a 36°C, por 24 horas. Verificou-se a presença do coágulo nos tubos, inclinando-os lentamente, para determinação de *Staphylococcus* coagulase positivo (BRASIL, 2003).

4.4.5. Contagem de bactérias ácido-láticas

Foram plaqueadas alíquotas de 0,1 mL das diluições de 10^{-2} a 10^{-9} , das amostras de leite, soro-fermento e queijo em ágar Man-Rogosa-Sharpe (MRS) (*BD*, Franklin Lanes, Estados Unidos). Utilizou-se a alça de Drigalsky para espalhar o inóculo pela superfície do ágar, iniciando pela maior diluição. As placas foram incubadas em aerobiose a 36°C, por 48 horas. Após crescimento, as placas que continham entre 20 e 200 colônias foram contadas (INTERNATIONAL..., 1988; RESENDE, 2010).

4.4.6. Pesquisa de *Salmonella* spp.

A pesquisa de *Salmonella* spp. foi feita no leite, soro-fermento e no queijo. Para análises de leite e soro-fermento utilizou-se uma pipeta de 25 mL para pipetar esse volume em um frasco de vidro contendo 225 mL de salina peptonada tamponada 0,1%. Processo semelhante ocorreu para as amostras de queijo, mas, nesse caso, foram pesadas amostras de 25 g de queijo em sacos de *stomacher* e, nele, a salina peptonada tamponada 1% foi adicionada. O queijo foi triturado e homogeneizado. Os frascos e o saco de *stomacher* contendo os cultivos foram incubados em estufa a 37°C, por 24 horas, para pré-enriquecimento.

No dia seguinte 1 mL de cada cultivo foi transferido para tubos contendo caldo Selenito Cistina (*Oxoid*, Waltham, Estados Unidos) e 0,1 mL de cada cultivo para tubos contendo Rappaport Vassiliadis (*Acumedia*). Os tubos foram incubados em banho-maria a 41°C, por 24 horas, para enriquecimento seletivo.

A partir dos caldos de enriquecimento seletivo, amostras de cada tubo (Selenito e Rapapport) foram repicadas, estriando sobre a superfície da placa contendo ágar vermelho de fenol lactose sacarose (BPLS) (*Oxoid*), ágar *Salmonella-Shigella* (SS) (*Kasvi*, São José dos Pinhais, Brasil) e ágar Hektoen entérico (*Kasvi*), até esgotamento, com auxílio de alça de inoculação. As placas foram incubadas invertidas em estufa a 36°C, por 24 horas e foram identificadas as colônias típicas e atípicas nos respectivos crescimentos.

Oito colônias consideradas típicas foram selecionadas para a prova bioquímica. Essa prova consiste em introduzir, com auxílio de alça bacteriológica, tipo agulha de níquel-cromo, as colônias selecionadas nos tubos contendo meio ágar Rugai (PESSOA E SILVA, 1972), até o fim do tubo e retirar a agulha, semeando a superfície em forma de estrias. A incubação ocorre em estufa a 36°C, por 24 horas. Dos tubos suspeitos, colônias foram semeadas em ágar nutriente (*Kasvi*) e foram incubadas por 24 horas, a 36°C.

Por fim, para a reação sorológica frente ao antissoro polivalente para *Salmonella*, o cultivo obtido no ágar nutriente foi suspenso com 400 µL de salina 0,85%. Uma gota de soro salmonela polivalente (*Probac*, São Paulo, Brasil) e 50 µL de salina 2% foram depositadas em lados apostos de lâminas identificadas. Acrescentou-se em ambos 25 µL de suspensão do cultivo. O resultado positivo deveria apresentar aglutinação após reação do soro com o cultivo (BRASIL, 2003).

4.4.7. Pesquisas de coliformes a 30°C e a 45°C para análise de água

Foram recolhidos 250 mL de água em frasco estéril e adicionado 100 µL de tiosulfato de sódio 15% ao frasco, representando a diluição 10⁰. A partir disso, 25 mL da água 10⁰ foi adicionada em 225 mL de salina peptonada 0,1% para obter a diluição 10⁻¹.

Foram inoculados volumes de 10 mL da diluição 10⁰ em uma série de 10 tubos contendo 10 mL de caldo Lauril dupla concentração (*Acumedia*), 1mL da diluição 10⁰ em uma série de 10 tubos contendo 10 mL de caldo Lauril concentração simples (*Acumedia*) e volumes de 1 mL da diluição 10⁻¹ em uma série de 10 tubos contendo 10 mL de caldo Lauril concentração simples (*Acumedia*). Os tubos foram incubados em estufa a 36°C, por 48 horas. Os resultados positivos foram os que apresentaram produção e gás e turbidez nos tubos, neste caso, fez-se a prova confirmativa.

Na prova confirmativa foi necessário repicar com alça de inoculação uma alíquota de cada tubo positivo para tubos contendo caldo verde brilhante (CVB) (*BD*) e para tubos contendo caldo EC (*Himedia*, Mumbai, Índia). O CVB foi incubado a 36°C por 48 horas e o caldo EC em banho maria a 44,5°C por 48 horas. O resultado é expresso em NMP/100 mL, após recorrer ao auxílio da Tabela de Número Mais Provável (BRASIL, 2003).

4.4.8. Contagem padrão em placas de microrganismos mesófilos aeróbios para análise de água

A diluição 10⁰ e 10⁻¹ foram as mesmas descritas no item anterior. A diluição 10⁻² foi obtida após a adição de 0,1 mL da diluição 10⁻¹ em tubo contendo 9 mL da salina peptonada 0,1%.

Após homogeneização foram transferidos volumes de 1mL das diluições 10⁰, 10⁻¹ e 10⁻² para placas de Petri estéreis devidamente identificadas. Foi adicionado 20mL de ágar Plate Count Agar

(PCA) fundido e homogeneizado até solidificação. As placas foram incubadas a 36°C, por 48 horas, para leitura (BRASIL, 2003).

4.5. Delineamento experimental e análises estatísticas

Foi realizada estatística descritiva dos resultados obtidos para cada parâmetro testado, nos períodos de seca e chuva e para a adoção de BPA e BPF. O volume de leite e produção de queijo da propriedade eram limitados e não permitiram a obtenção de números amostrais apropriados para que fossem feitas as comparações entre as médias.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Descrição da propriedade

5.1.1. Relatório de Boas Práticas Agrícolas e de Fabricação

O queijo artesanal de ovelha é único, feito com leite cru, de massa cozida e maturado em “caverna” de maturação. A “caverna” (como denominado pelo responsável) é um ambiente fechado, revestido por pedras, com uma única porta de entrada e saída (Fig. 1).



Fonte: próprio autor

Figura 1. “Caverna” de maturação dos queijos. A figura (A) representa a área destinada aos queijos de ovelha e em (B) tem-se a área destinada aos queijos mistos de ovelha e vaca e o espaço reservado ao *Toillete* dos queijos.

A maturação ocorre em tábuas de madeira e cada tábua contém queijos separados conforme período de produção e tipo. Diariamente as paredes da caverna são umidificadas por aspersão de água através de mangueira, os queijos artesanais são virados e salgados. As variações de umidade, durante os períodos experimentais foram de 80 a 88%, influenciadas por variações externas, volume de queijos e processo de aspersão de água, por parte do responsável. A temperatura foi medida uma vez em março e uma vez em setembro e estava marcando 24 e 21 °C, respectivamente.

Durante a fase experimental a propriedade contava com aproximadamente 40 animais em lactação, produzindo cerca de 15 litros de leite ao dia. Esse volume era suficiente para produzir cerca de 2,5 kg de queijo. Aproximadamente 12 litros da produção eram destinados ao experimento, nos dias de coleta de queijos com zero dias de maturação.

Os animais são mantidos em manejo semi-intensivo, exceto para as ovelhas lactantes e suas crias em lactação, que ficam exclusivamente nas baias. São liberados em pastos durante o dia e voltam para as baias no fim da tarde. Todas as áreas são cercadas com o objetivo de evitar o contato com outros animais. Não houve compra de animais durante todo o período de pesquisa. Existe um veterinário responsável pelo controle sanitário e pelo tratamento dos animais doentes.

A propriedade possui um escritório, uma farmácia com a área para o atendimento veterinário, um depósito de materiais, pasto e baias. As baias são divididas entre as ovelhas recém paridas, lactantes e secas. Os carneiros ficam com as fêmeas durante todo o ano. Não existe controle zootécnico registrado, portanto não se tem uma identificação precisa para os animais, período reprodutivo definido e registros de cobertura, partos, nascimentos ou óbitos. Apenas um funcionário é responsável pelo trato dos animais e ordenha. Os processos produtivos são descritos a seguir, na tabela 2:

Tabela 2 – Levantamento dos processos produtivos da propriedade

Ovelhas em produção							
60 DIAS Pré-parto	30 DIAS Pré-parto	Parto	15 DIAS	30 DIAS	90 DIAS	180 DIAS	210 DIAS
Manejo secagem	Vermífugo	Vermífugo	Manejo mamada	Desmame	Exposição a monta Vermífugo	Exposição a monta Vermífugo	Exposição a monta Vermífugo
Observação: Vacinação anual contra clostridioses							
Cordeiras							
Nascimento	7 Dias	15 Dias	30 Dias	60 Dias	8 Meses	12 Meses	
Cura de umbigo Iodo 10 %	Caudectomia Identificação	Manejo mamada Fornecimento de leite de vaca	Desmame Vermífugo	Separação M/F	Exposição a monta	Exposição a monta	
Observação: Vacinação anual contra Clostridioses a partir dos 30 dias de vida							
Cordeiros							
Nascimento	7 Dias	15 Dias	30 Dias	60 Dias	150 Dias	12 Meses	
Cura de umbigo Iodo 10%	Identificação	Manejo mamada Fornecimento de leite de vaca	Desmame Fornecimento de leite de vaca vermífugo	Separação M/F	Seleção para abate	Seleção de reprodutor	
Observação: Vacinação anual contra Clostridioses a partir dos 30 dias de vida							

Fonte: Tabela desenvolvida pela assessoria técnica da *Startup Qualibée*

Como práticas de higiene de ordenha foram avaliados diversos fatores que podem influenciar na qualidade do leite. A sala de ordenha é do tipo paralelo e possui capacidade de ordenha para até 11 animais. A rampa de acesso é feita com concreto, com presença de ranhuras, que evitam que as ovelhas escorreguem. Dessa forma, a ordenha é feita de forma tranquila (Fig. 2).



Fonte: próprio autor

Figura 2. Momento de ordenha das ovelhas

As ovelhas são alimentadas com concentrado durante o procedimento de ordenha. São realizados pré-dipping e pós-dipping. Todos os dias, a sala é higienizada e os equipamentos são imersos em detergente alcalino, após o fim da ordenha. A ordenha é feita uma vez ao dia, no período da manhã. Os animais com mastite clínica são isolados, tratados, ordenhados a mão e o leite é descartado. O leite obtido é armazenado em refrigerador de 4°C, por até dois dias, para então, ser processado.

O pasto possui capim *Braquiaria decumbens*, mas esse volumoso é complementado com feno e cana de açúcar nos períodos chuvosos e silagem durante a seca. O fornecimento é feito nos cochos duas vezes ao dia. Os animais lactantes são alimentados durante a ordenha com concentrado a base de milho e soja. A água e sal ficam em cochos separados com fornecimento ininterrupto. A água é corrente, fria e limpa. Todos os cochos mostravam-se desprovidos de sujidades. Os alimentos são preparados em máquinas apropriadas. As rações são estocadas em potes plásticos tampados e armazenadas em área exclusiva para estocagem de alimentos, desprovida de roedores ou pragas, com boa ventilação e cobertura adequada.

A ordenha ocorre pela manhã e, durante a tarde, os cordeiros ficam com as mães para amamentação, sendo separados a noite. Dessa forma, o desmame acontece de forma gradativa. A ingestão de leite é complementada com leite de vaca.

A propriedade possui área de reserva florestal legal, os efluentes vão para o esgoto doméstico, devido a pequena produção. O lixo é recolhido pela prefeitura e a água é oriunda de poço artesiano.

A área estabelecida para o beneficiamento dos queijos, possui pisos e paredes brancas, de material lavável, e ralo para escoamento dos resíduos. Também possui mesas, janela e portas de vidro. As portas e janelas são de correr, sendo que as janelas possuem telas de proteção contra insetos. Possui forro de PVC bem vedado, branco e lavável. A sala de beneficiamento apresenta um único ambiente de aproximadamente 20m², fresca e bem ventilada, possui ar condicionado, luz fria, duas pias de aço inoxidável, papel toalha e lixo com acionamento por pedal (Fig. 3-a). As embalagens são estocadas em um cômodo fora da queijaria.

O responsável pela propriedade é quem produz os queijos. Para trabalhar na área de beneficiamento do queijo é necessário a utilização de touca, botas, máscara e avental. Na entrada da queijaria existe um higienizador de botas e uma pia para lavagem das mãos, com sabão líquido e papel toalha (Fig. 3-b). A conduta da profissional se mostrou adequada durante todo o processo de elaboração dos queijos.



Fonte: próprio autor

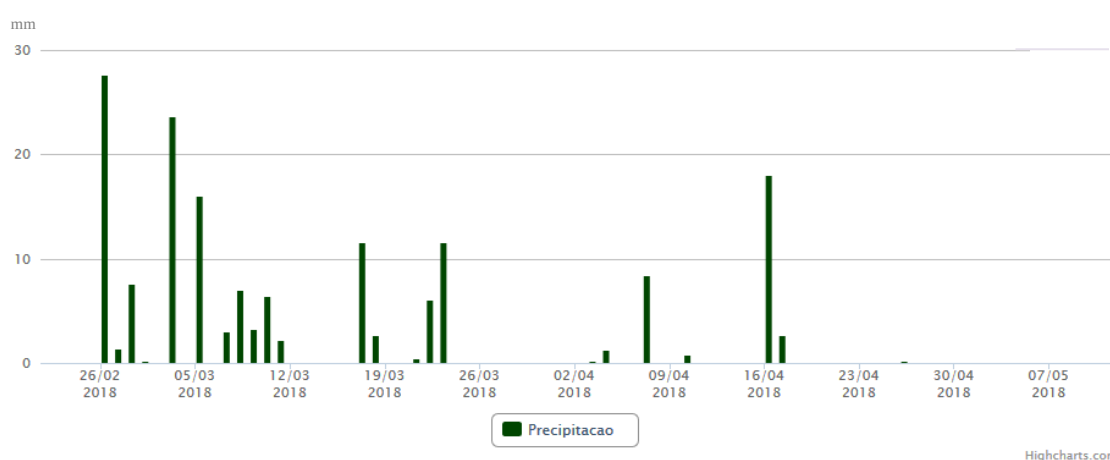
Figura 3. **Área de produção do queijo.** A figura (A) é a área destinada a produção dos queijos e em (B) está a área de higiene de mãos e botas antes de entrar na área de produção, também conhecida como gabinete de higienização

Após dessoragem em mesa de aço inoxidável, o queijo artesanal é encaminhado imediatamente para sala de maturação.

Não é feito controle de pragas, mas não se nota a presença de vetores ou roedores. A única barreira para insetos é o uso das janelas teladas e a higienização local. Existem alguns documentos com registros, como o de lavagem de caixa d'água e o manual de Boas Práticas de Fabricação.

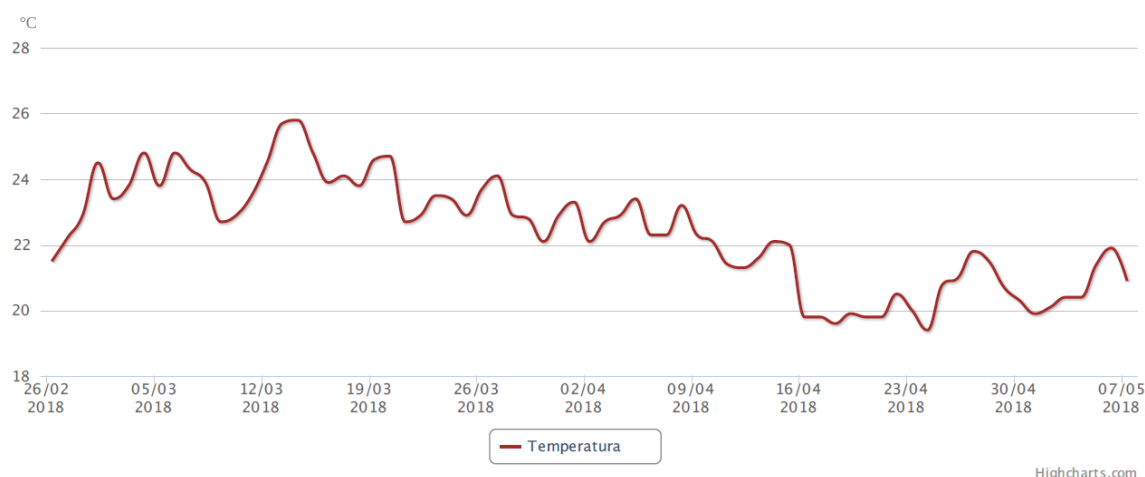
5.1.2. Aspectos meteorológicos

Informações sobre os índices de precipitação e temperatura para a microrregião de Formiga, Minas Gerais, foram obtidas no Instituto Nacional de Meteorologia (INMET) para conhecimento acerca de possíveis influências climáticas meteorológicas na produção dos queijos nos dois períodos experimentais. Os três primeiros lotes de queijos foram elaborados entre os dias 26 de fevereiro e 26 de março, período de maior precipitação e temperatura. No entanto, no decorrer da maturação dos queijos, houve redução das chuvas e diminuição da temperatura (Fig. 4 e 5).



Fonte: INMET (2018)

Figura 4. Monitoramento da precipitação (mm) de fevereiro a maio, na microrregião de Formiga – MG

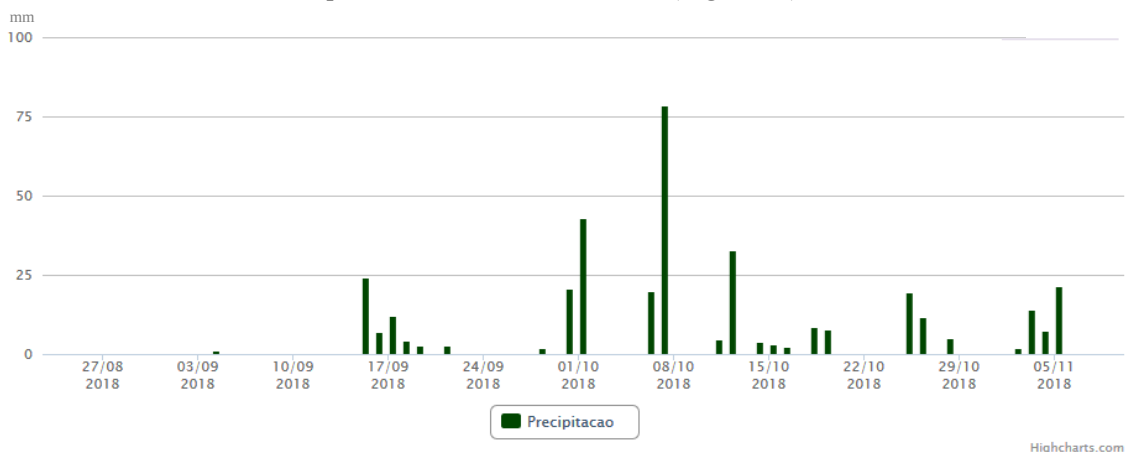


Fonte: INMET (2018)

Figura 5. Monitoramento da temperatura (°C) de fevereiro a maio, na microrregião de Formiga – MG

A temperatura ambiental durante o primeiro período variou, principalmente, entre 20 e 25°C (Fig. 5). Sendo que, no período de produção do queijo, a temperatura foi mais elevada do que no decorrer da maturação dos mesmos.

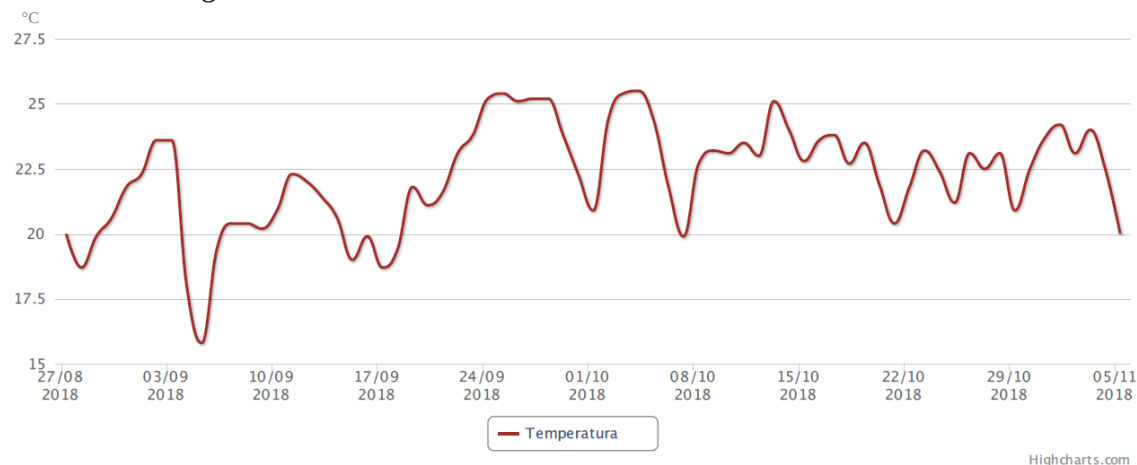
Os três lotes de queijos, da segunda etapa do experimento, foram elaborados nos dias 27 de agosto até 24 de setembro, período de baixa precipitação e temperatura, no entanto, no decorrer dos períodos de maturação houve aumento das chuvas e temperatura, se igualando ou até sobrepondo os valores encontrados nos períodos de fevereiro a maio (Fig. 6 e 7).



Fonte: INMET (2018)

Figura 6. Monitoramento da precipitação (mm) de agosto a novembro, na microrregião de Formiga – MG

A variação de temperatura na época da seca foi maior do que na época das chuvas. Em setembro chegou a atingir aproximadamente 15°C, mas a partir de outubro, a temperatura variou entre 20 e 25°C (Fig. 7). A elevada temperatura em outubro coincidiu com a maior precipitação, demonstrado na figura 6.



Fonte: INMET (2017)

Figura 7. Monitoramento da temperatura (°C) de agosto a novembro, na microrregião de Formiga – MG

Na primeira etapa do experimento os queijos foram produzidos na chuva (fevereiro a março), em altas temperaturas, no entanto, no decorrer da maturação houve queda da precipitação e temperatura. Os queijos da segunda etapa foram elaborados na seca (agosto a setembro) e a maturação acompanhou o aumento da precipitação. Em outubro as chuvas atingiram 75 mm e, posteriormente se mantiveram com valores semelhantes ou até maiores do que os demonstrados na figura 4.

O efeito do clima exerce alterações, principalmente, no decorrer da maturação dos queijos. Segundo Sales (2015), altas temperaturas aceleram a perda de água do queijo devido à maior evaporação, entretanto, a precipitação pode contribuir para deixar o ambiente com temperaturas mais baixas e com maior umidade do ar. Quando a precipitação é menor a perda de água pelo queijo ocorre de forma mais rápida, assim como o processo de maturação (SALES, 2015).

Não é esperado que este seja o principal fator de variação das características dos queijos, entre os períodos experimentais. A maior precipitação poderia influenciar, principalmente na segunda parte do experimento, entretanto, a “caverna” foi vedada e o responsável umidificou o ambiente através de aspersão de água, com intuito de manter a umidade constante. Acredita-se que essa prática possa influenciar mais nas características do queijo do que o clima propriamente dito.

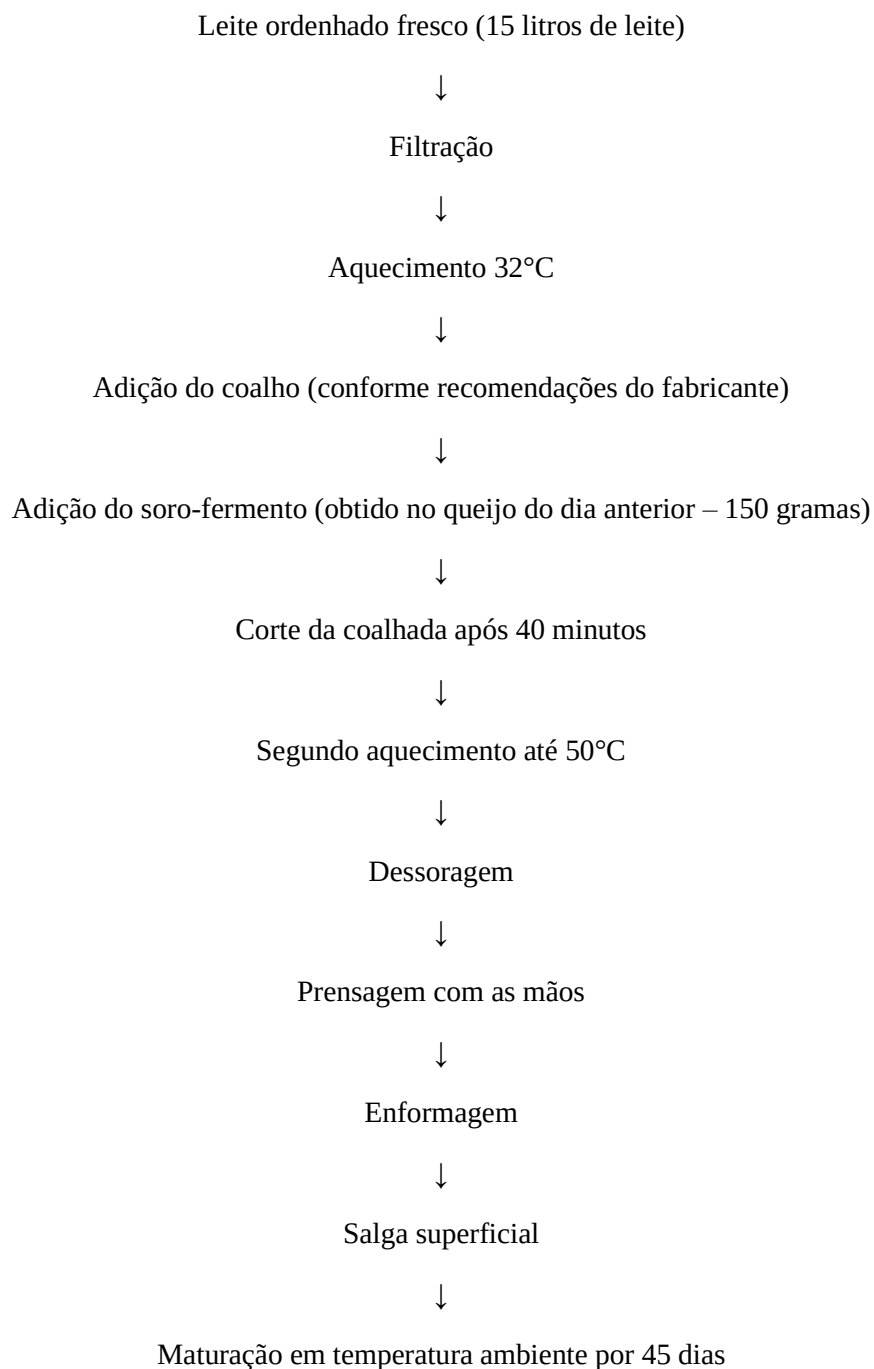
5.2. Fluxograma de produção dos queijos elaborados na primeira etapa do experimento e sugestões para adequação de Boas Práticas

5.2.1. Beneficiamento do queijo

Durante a elaboração do queijo foi utilizado, como ingrediente, o coalho, fermento e o sal. O fermento utilizado aqui foi o de soro de queijo, retirado da produção anterior e conservado na geladeira por 24 horas.

A produção se iniciava logo após o término da ordenha. O leite cru era filtrado e encaminhado por tubulação para a sala de beneficiamento. Lá ele era armazenado em panelas próprias para a produção de queijo. A partir disso, o primeiro aquecimento era feito para auxiliar o processo de coagulação. O coalho e fermento foram adicionados e, em aproximadamente 40 minutos, ocorria a coagulação. Iniciava-se o corte da coalhada com o auxílio de um utensílio específico para esta função. Posteriormente, ocorria o segundo aquecimento da massa, que acelerava o processo de dessoragem. Nesta etapa, o soro eliminado era coletado para elaboração do próximo queijo. Esta massa era, então, colocada em panos para prensagem com as mãos para eliminação do soro e modelada em forma para queijo. Era salgada superficialmente, virada e, após 24 horas de prensagem e dessoragem nas formas, era encaminhada para maturação.

A produção do queijo ocorria de acordo com o fluxograma representado na figura 8:



Fonte: Próprio autor

Figura 8. Fluxograma de fabricação de queijo de ovelha na primeira etapa do experimento

5.2.2. Ajustes sugeridos na primeira etapa do experimento

Considerando a existência de perigos a que os alimentos estão expostos, recomendou-se a utilização das Boas Práticas de Fabricação, para minimizar ou evitar esses riscos. Os fatores que

interferem na qualidade do alimento são: o ambiente, o manipulador e a qualidade da matéria prima. A verificação do cumprimento das BPF foi acompanhada e algumas adequações foram sugeridas.

A cloração da água era feita por meio de pastilha em caixa d'água, dessa forma, não se tinha controle da concentração para sanitização dos materiais e do ambiente. Assim, foi sugerida a utilização de cubas com sanitizante, contendo 200 ppm de cloro ou 0,02% de cloro ativo, para imersão dos materiais. Partes fixas de equipamentos poderiam ser higienizadas com álcool 70%. A limpeza da ordenhadeira e equipamentos com detergente ácido deveria ser feita toda a semana. A caverna também deveria ser higienizada, conforme a possibilidade do responsável (raspagem das prateleiras e vassoura de fogo), já que isso não era feito com frequência. Além disso, os queijos mantidos na caverna deveriam ser organizados em prateleiras distintas, conforme avanço da maturação.

A higiene pessoal também é de extrema importância para a manipulação de alimentos. Os vestuários deveriam ser exclusivos para cada área de produção, neste caso, seria necessário a troca de roupa e sapatos para a queijaria e para a área de maturação, evitando a difusão de fungos na área de beneficiamento.

Esses pontos de controle também são requisitados pelos órgãos fiscalizadores. O serviço de fiscalização também solicitou banheiro próprio para uso exclusivo de funcionários que trabalhem na área de produção e torneiras de acionamento por pedal.

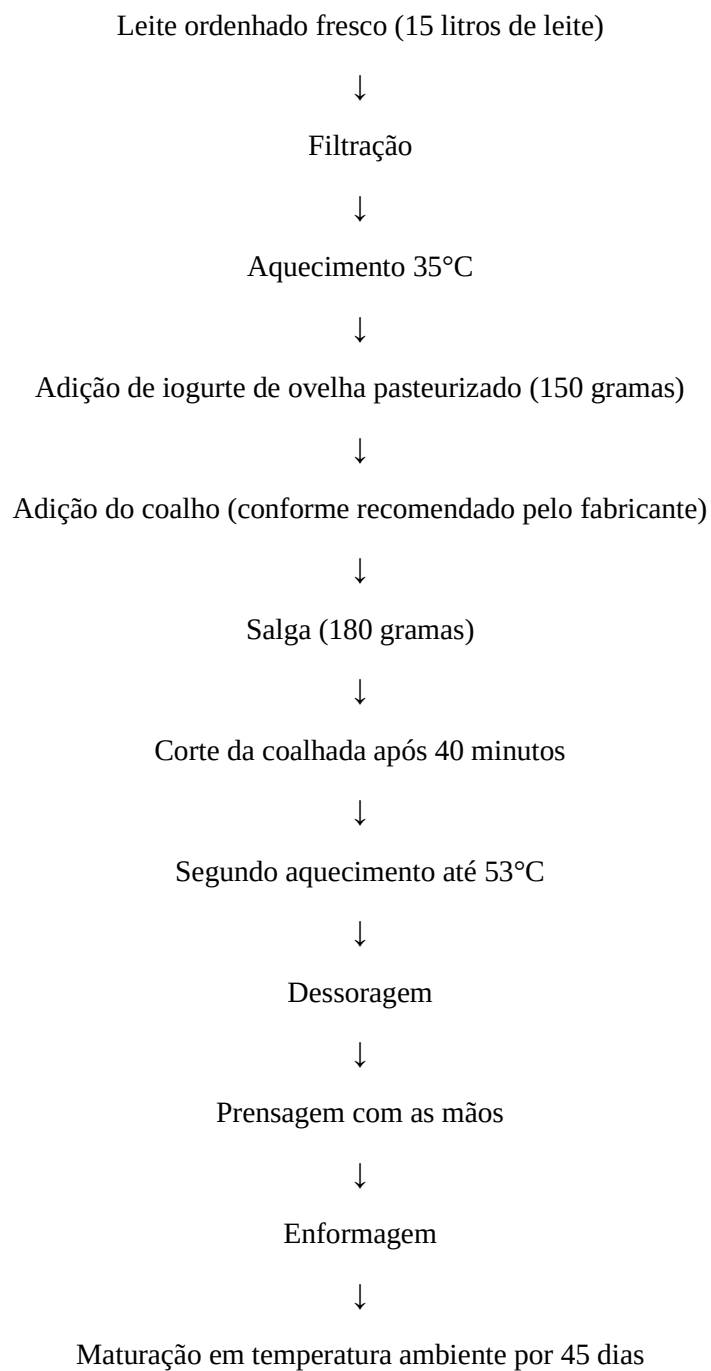
5.3. Fluxograma de produção dos queijos e Boas Práticas adotadas, na segunda etapa do experimento

5.3.1. Beneficiamento do queijo

Na segunda etapa do experimento houve algumas mudanças no processo de beneficiamento dos queijos por parte do responsável e após a adoção de boas práticas. A produção se iniciava logo após o término da ordenha e foram feitas as etapas de: filtração do leite, aquecimento, adição coalho, adição de iogurte, salga, corte da coalhada, segundo aquecimento da massa, dessoragem, prensagem e enformagem.

O iogurte era um produto pasteurizado e feito com leite de ovelha, com certificação estadual. Passou a ser utilizado como fermento para a produção de queijos a na segunda fase do experimento.

A produção do queijo ocorreu de acordo com o fluxograma representado na figura 9:



Fonte: Próprio autor

Figura 9. Fluxograma de fabricação de queijo de ovelha na segunda etapa do experimento

5.3.2. Aplicação das novas práticas de manejo de ordenha e BPF

Algumas adequações foram adotadas pelo responsável na segunda etapa da pesquisa. Dessa forma, foi feita a imersão de materiais em cubas contendo 200 ppm de cloro e lavagem diária de equipamentos (incluindo os latões que transportam leite e formas de queijo) com detergente alcalino e semanal com detergente ácido.

Na caverna foi feita a remoção das taboas, raspagem e higienização com o uso da vassoura de fogo. Esse procedimento foi necessário após um furo na tela, que se encontrava na porta da caverna (havia uma porta de madeira e uma porta telada), permitindo a entrada de insetos e contaminação de alguns queijos. Foi adicionado uma armadilha luminosa para controle de vetores, a tela foi removida e a porta de madeira foi parcialmente vedada com vidro (Fig. 10-a). A janela telada que existia foi completamente vedada com vidro, o que contribuiu para o aumento da umidade do local. Uma prateleira exclusiva, com três andares de madeira, foi separada para os queijos do experimento (Fig. 10-b).

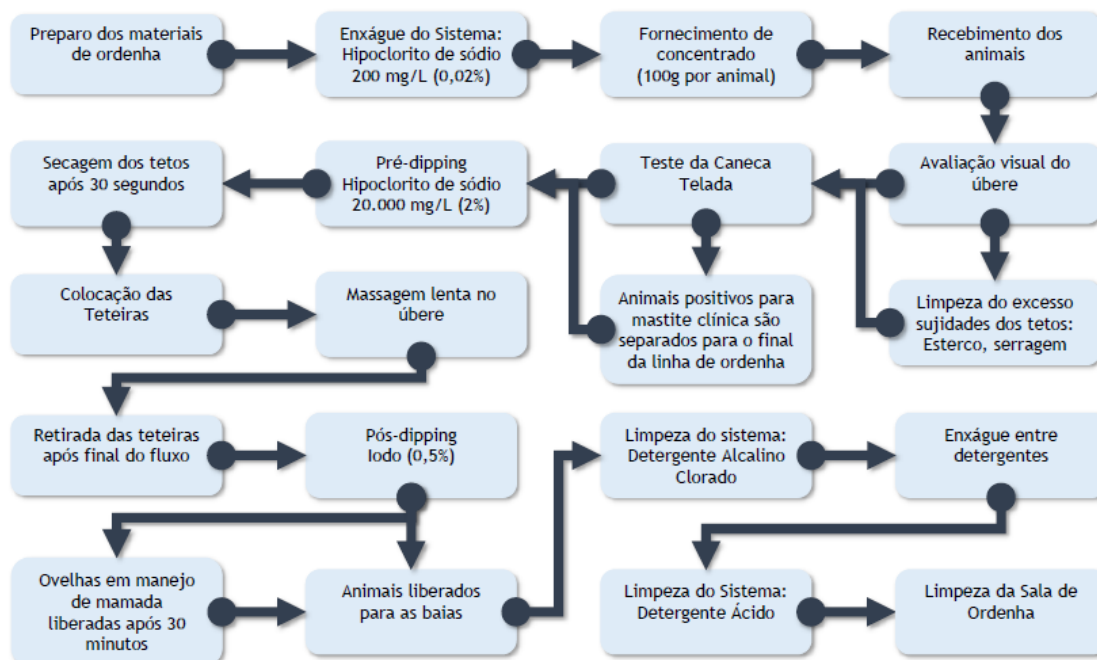


Fonte: próprio autor

Figura 10. **“Caverna” de maturação dos queijos após a adoção das Boas Práticas.** A figura (A) representa a porta onde foi feita a retirada da tela e vedação e em (B) é possível notar a área destinada aos queijos do experimento sob a janela de vidro vedada.

A aplicação de medidas relacionadas ao manejo de ordenha foi feita em parceria aos técnicos da *startup* Qualibeé, com base em um *check list* ou Índices de Controle e Prevenção de Mastite (ICPM) desenvolvido pela assessoria técnica da *Startup*. Essa adequação foi, principalmente, iniciativa do responsável, que teve o objetivo de melhorar a qualidade dos produtos usados no experimento, diante dos resultados obtidos preliminarmente.

O ICPM consiste na a averiguação de ações pontuais de manejo de pré-ordenha, ordenha e pós-ordenha, conforme fluxograma representado pela figura 11. Cada etapa do fluxograma contém itens que geram uma pontuação final de 1 a 100%, sendo o resultado igual a 100 indicativo do cumprimento de todas as etapas propostas. Dessa forma, valores acima de 90% indicam adequação, entre 90 e 70% representam níveis de aceitação e abaixo de 70% representa valor indesejado, necessitando de melhorias. Essa avaliação foi feita por três vezes, nos dias 28 de julho, 13 de agosto e 13 de setembro, coincidindo com a coleta dos queijos elaborados na seca, e após o encerramento das análises dos queijos elaborados nos meses chuvosos. Os resultados do ICPM foram de 70%, 76% a 89%, respectivamente. Esses resultados representam a melhoria nos processos de ordenha e indicam que o funcionário e o responsável se empenharam para garantir que as sugestões propostas fossem aplicadas. Foi fixado na sala de ordenha o fluxograma recomendado pela equipe, apresentado na figura 11, para auxiliar o ordenhador no cumprimento dos itens propostos.



Fonte: Fluxograma desenvolvido pela assessoria técnica da *Startup Qualibée*
 Figura 11. Fluxograma de ordenha

Com isso, foram realizadas as seguintes adequações: troca das mangueiras e teteiras do equipamento de ordenha; foi adotado o teste da caneca de fundo escuro; realizado mensalmente o Califórnia Mastite Teste ou teste de mastite subclínica (CMT); foi feita a separação por lotes de animais; ajuste no *pré-dipping*; sanitização, higiene dos equipamentos; manejo de secagem.

O teste da caneca foi proposto para identificação, separação e tratamento dos animais que possuíam mastite clínica. Neste caso, os animais não iriam para a linha de ordenha e seriam tratados. No entanto, não houve caso de mastite clínica durante a pesquisa. Além disso, o CMT foi recomendado para identificação dos animais que apresentavam mastite subclínica. Neste caso, os animais positivos eram marcados e ordenhados por último. Esse teste também auxilia na identificação dos lotes, normalmente, fêmeas em estágios finais de lactação apresentavam maior ocorrência de mastite subclínica e, após a identificação desses animais, tornou-se possível o

tratamento das ovelhas secas para o preparo da glândula mamária para a próxima lactação. Também foi acrescida a sanitização dos equipamentos, com água clorada (200 ppm), a cada mudança de lote.

O *pré-dipping*, que inicialmente era feito com *spray* de hipoclorito, passou a ser realizado com água clorada a 2% e com a utilização de copo sem retorno. A higiene dos equipamentos, além de ser feita diariamente com detergente alcalino, passou a ser feita semanalmente, com detergente ácido. Essa limpeza também foi feita nos utensílios usados para a produção de queijos (como latões e formas).

Vários procedimentos passaram a ser observados durante a ordenha, dentre eles, os níveis de vácuo (38 a 46 mmHg), pulsação (120 a 160/min), com o objetivo de prevenir as mastites e melhorar a qualidade do leite para a elaboração dos queijos.

5.4. Qualidade físico-química e microbiológica da água antes e depois da aplicação das Boas Práticas na propriedade

Como representado na tabela 3, não houve crescimento microbiano nas três amostras de água obtidas na primeira etapa do experimento. Dessa forma, os resultados atenderam ao que é estabelecido pela legislação, que preconiza ausência dos microrganismos analisados (BRASIL, 2011 e MINAS GERAIS, 2002b). Vale ressaltar que para muitos resultados foi utilizado como parâmetro a legislação que atende ao queijo Minas Artesanal. Tem-se o conhecimento que os produtos são diferentes, mas ainda não existe legislação com padrões de qualidade específicos para os produtos obtidos nas queijarias produtoras do queijo artesanal mineiro.

Tabela 3. Padrão de potabilidade exigido pela legislação, valores médios (X), coeficiente de variação (CV) e valores mínimos e máximos dos resultados de amostras de água analisadas antes da aplicação das Boas Práticas (fevereiro a março)

Parâmetros físico-químicos e microbiológicos iniciais da água					
	Padrão*	X	CV (%)	Mínimo	Máximo
Cloro residual (ppm)	2 a 3	17,51	119,25	2,37	41,33
pH (mg/L)	6,0 a 9,5	7,34	0	7,34	7,34
Acidez (mg/L)	Até 120	3	26,03	2,1	3,52
Dureza (mg/L)	Até 500	52,69	17,61	42	58,67
Cloretos (mg/L)	Até 250	11,58	57,6	4,79	18,12
Coliformes totais (NMP/100mL)	0	0	0	0	0
Coliformes termotolerantes (NMP/100mL)	0	0	0	0	0
Mesófilos aeróbios (UFC/mL)	<5x10 ²	0	0	0	0

*(BRASIL, 2000; MINAS GERAIS, 2002b; BRASIL, 2011b)

Considerando a média obtida pelas três amostras de água analisadas, posse constatar que o teor de cloro residual foi inadequado, pois estava fora da faixa recomendada pela legislação estadual que é de 2 a 3ppm. A cloração era feita por pastilhas de cloro adicionadas periodicamente dentro da caixa d'água, essa prática impede o controle da concentração de cloro liberado durante os dias. A desvantagem é que ocorre um excesso de liberação de cloro após a adição da pastilha e a redução da concentração quando a mesma se encontra no fim. Este fato foi observado durante as análises já que a primeira amostra que água se encontrava com valor igual a 41,33 ppm de cloro

e a última amostra estava com 2,37 ppm, como representado nos valores máximos e mínimos da tabela 3.

Os parâmetros de dureza, acidez, pH e cloretos na água atenderam aos padrões estabelecidos pela legislação nos dois períodos experimentais (Tab. 3 e 4) (BRASIL, 2000; MINAS GERAIS, 2002b; BRASIL, 2011b). Esses padrões são importantes de serem mantidos, pois em concentrações inadequadas podem interferir na eficiência da limpeza dos equipamentos e dos produtos utilizados (SALES, 2015).

Tabela 4. Padrão de potabilidade exigido pela legislação, valores médios (X), coeficiente de variação (CV) e valores mínimos e máximos dos resultados de amostras de água analisadas depois da aplicação das Boas Práticas (agosto a setembro)

Parâmetros físico-químicos e microbiológicos da água após a adoção das Boas Práticas					
	Padrão*	X	CV (%)	Mínimo	Máximo
Cloro residual (mg/L)	2 a 3	2,92	86,98	0	4,61
pH (mg/L)	6,0 a 9,5	7,16	4,75	6,82	7,5
Acidez (mg/L)	Até 120	7,21	34,21	5,66	10,05
Dureza (mg/L)	Até 500	60,45	3,75	58,67	63
Cloretos (mg/L)	Até 250	10,42	77,49	1,27	16,54
Coliformes totais (NMP/100mL)	0	6,17	97,41	0	12
Coliformes termotolerantes (NMP/100mL)	0	2,6	173,08	0	7,8
Mesófilos aeróbios (UFC/mL)	<5x10 ²	84	173,20	0	252

*(BRASIL, 2000; MINAS GERAIS, 2002b; BRASIL, 2011b)

Houve crescimento de coliformes a 30°C e 45°C em uma amostra analisada na segunda etapa do experimento (Tab. 4). Isso ocorreu pela falha de cloração na caixa d'água utilizada na queijaria e esse fato foi o suficiente para que houvesse crescimento microbiano e elevasse as médias referentes as três amostras coletadas nesse período. A presença de coliformes na água pode gerar contaminação do leite utilizado na fabricação dos queijos. Como se utiliza leite cru esses microrganismos não são eliminados, produzem gás e podem causar o estufamento precoce nos queijos, caracterizado pela formação de pequenas olhaduras e pela alteração de sabor e aroma.

Os resultados médios da amostra de água mostraram-se acima do estabelecido pela legislação que aponta para a ausência de coliformes em 100 mL, indicando que a água estava imprópria para ser utilizada na queijaria. O crescimento de mesófilos aeróbios atendeu a legislação, que preconiza o valor de até 5 x 10² UFC/g para água potável (BRASIL, 2000; MINAS GERAIS, 2002b; BRASIL, 2011b).

Na produção do queijo, a água é utilizada para limpar as instalações, higienizar materiais e utensílios, higienizar mãos dos manipuladores, na diluição do coalho e na toalete do queijo. Deste modo, é de grande importância que seja isenta de contaminantes. Visando evitar contaminações como as que foram constatadas, é importante que os produtores verifiquem a eficiência do sistema de cloração e se o local de captação da água está devidamente protegido de contaminações (SALES, 2015).

Na segunda etapa do experimento, o responsável adequou a cloração com a utilização de filtro 3M e os valores de duas amostras de água se mantiveram dentro da legislação quanto ao teor de

cloro residual. O filtro reteve o excesso de cloro liberado pela pastilha adicionada na caixa d'água, mas a falha de cloração durante a coleta de uma amostra de água foi suficiente para a contaminação da mesma e justifica o elevado CV. É importante a cloração adequada, pois os valores altos podem ser prejudiciais ao crescimento de microrganismos desejáveis no queijo, mas em baixas concentrações, podem permitir o crescimento daqueles indesejáveis.

Com exceção do teor de cloro, o período do ano pode influenciar nos resultados físico-químicos e microbiológico da água. Isto ocorre, pois, a composição do solo e, consequentemente, da água podem modificar por vários motivos. A taxa de decomposição da matéria orgânica pode influenciar os valores de pH pela maior concentração de CO₂ dissolvido e essa variação pode ocorrer com mais frequência em períodos chuvosos (SALES, 2015). Além disso, a dureza depende da concentração de cátions bivalentes dissolvidos, em especial, os de cálcio (Ca⁺²) e magnésio (Mg⁺²). Na água, em grandes concentrações, estes cátions, levam a formações de biofilmes e podem ser prejudiciais no beneficiamento dos queijos (CASTRO, 2015).

5.5. Qualidade físico-química e microbiológica do leite antes e depois da aplicação das Boas Práticas na propriedade

A qualidade do leite é muito importante na elaboração dos queijos, por ser o principal ingrediente e, também, o principal contaminante. A qualidade do leite também garante o bom rendimento dos derivados lácteos, já que o aumento dos microrganismos e aumento da CCS são responsáveis pela redução de nutrientes importantes na elaboração dos queijos. No Brasil, não existe uma legislação específica para leite de ovelha. Com base nas reconhecidas diferenças de composição centesimal e de propriedades físico-químicas dessa espécie, não é recomendada a comparação com os padrões citados em regulamentos direcionados para leite de vaca. Por sua vez, diante da ausência de legislação para queijos elaborados com leite de ovelha, e pressupondo que os microrganismos contaminantes dos leites desses ruminantes são semelhantes, os resultados microbiológicos podem ser comparados ao estabelecido pela legislação específica para queijo Minas Artesanal (MINAS GERAIS, 2002 e MINAS GERAIS, 2002b). Assim, as características físico-químicas e microbiológicas do leite cru foram comparadas com a legislação aplicada a produção dos queijos artesanais e aos estudos sobre composição de leite de ovelha e pesquisas relacionadas. De acordo com a legislação para queijo Minas Artesanal o leite cru deve respeitar os seguintes padrões: microrganismos aeróbios totais $\leq 1,00 \times 10^5$ UFC/mL; células somáticas $\leq 4,00 \times 10^5$ cels/mL; *Staphylococcus aureus* $\leq 1,00 \times 10^2$ UFC/mL; coliformes a 45°C $\leq 1,00 \times 10^2$ UFC/mL; ausência de *Salmonella* em 25 mL. Segundo Park *et al.* (2007), o leite de ovelha possui em média 7,9% de gordura, teor de estrato seco total igual a 12%, lactose igual a 4,9%, proteína de 6,2%, densidade variando entre 1,0347 e 1,0384g/mL, acidez com variação de 22 a 25°D, pH entre 6,51 e 6,85 e ponto de congelamento de 0,570°H.

Na tabela 5 estão os resultados de composição físico-química e microbiologia do leite antes da aplicação das boas práticas.

Resultados de gordura, acidez e densidade do leite dessa pesquisa foram semelhantes aos encontrados por Barros (2012), em sua pesquisa com ovelhas Lacaune, mas inferiores quanto aos teores de lactose e proteína. A explicação para o baixo teor de proteína pode ser a necessidade de ração com dosagem e formulação adequadas para cada estágio de vida das ovelhas. As concentrações de ingredientes nas rações eram, principalmente, produzidas conforme oferta de mercado, necessitando de melhorias na formulação. Uma adequação na dieta com maior teor de proteína poderia resultar no aumento do teor de sólidos totais no leite dos animais, elevando a

porcentagem de proteína e aumentando o rendimento na produção dos queijos. Vale ressaltar que alguns animais estavam muito magros e a causa poderia ser verminose ou insuficiência alimentar. Brito *et al.* (2006) também obtiveram resultados semelhantes para composição do leite de ovelha, mas encontrou resultados de lactose (4,69 a 4,56%) mais elevados do que os dessa pesquisa. O estado de saúde dos animais também influencia na composição do leite e, durante o experimento, foi verificado, através do teste CMP, a mastite subclínica em algumas ovelhas. As mastites afetam a composição do leite, diminuindo teores de caseína e lactose, consequentemente, o rendimento queijeiro e aumentando os teores de albuminas do soro, imunoglobulinas e cloretos (HAENLEIN, 1996). Esse fator é mais uma possibilidade para a baixa concentração de proteína e explica o teor baixo de lactose encontrado nesta pesquisa.

Espera-se para leite de ovelha teores de acidez mais elevados quando comparados ao de vaca, pelo maior teor de caseínas, fosfatos e elementos ácidos. No entanto, a elevada acidez do leite pode representar presença de maior número de microrganismo contaminantes, que promovem a quebra da lactose em ácido láctico. Entretanto o resultado deste trabalho foi semelhante aos teores de encontrados por Barros (2006) e Brito *et al.* (2012), mas superiores aos valores descritos por Park *et al.* (2007), ao se tratar dos resultados iniciais de acidez do leite.

Tabela 5. Valores médios (X), coeficiente de variação (CV) e valores mínimos e máximos dos resultados de amostras de leite analisadas antes da aplicação das Boas Práticas (fevereiro a março)

Parâmetros físico-químicos do leite antes da adoção de Boas Práticas				
	X	CV (%)	Mínimo	Máximo
Acidez (D°)	27,21	9,19	25,17	30
Densidade (g/mL)	1,035	0,56	1,033	1,038
Crioscopia (°H)	-0,596	1,19	-0,591	-0,601
Gordura (%)	6,54	10,94	5,81	7,24
Proteína (%)	4,83	8,59	4,49	5,29
Lactose (%)	4,16	3,48	4,02	4,31
Sólidos Totais (%)	16,41	5,93	15,49	17,43
Parâmetros microbiológicos do leite antes da adoção de Boas Práticas				
	X	CV (%)	Mínimo	Máximo
Coliformes a 30°C (UFC/mL)	4,20x10 ⁶	145,29	<1,00x10 ²	1,12x10 ⁷
<i>Escherichia coli</i> (UFC/mL)	5,73x10 ³	170,18	<1,00x10 ²	1,70x10 ⁴
<i>Staphylococcus spp.</i> (UFC/mL)	2,02x10 ⁵	68,78	4,30x10 ⁴	3,00x10 ⁵
<i>Staphylococcus coagulase positivo</i> (UFC/mL)	<1,00x10 ²	0	<1,00x10 ²	<1,00x10 ²
BAL MRS (UFC/mL)	5,09x10 ⁷	170,08	3,40x10 ⁵	1,51x10 ⁸
<i>Salmonella spp.</i>	Ausente em 25g	0	Ausente em 25g	Ausente em 25g
Contagem de Células Somáticas (Cels /mL)	1,48x10 ⁶	35,12	1,02x10 ⁶	2,04x10 ⁶
Contagem Bacteriana Total (UFC/mL)	1,74x10 ⁷	155,44	4,24x10 ⁵	4,85x10 ⁷

Considerando a legislação para queijo Minas Artesanal, observa-se na tabela 5 que o leite se encontra impróprio para o beneficiamento do queijo, se tratando das elevadas contagens de *Escherichia coli*, CBT e CCS (MINAS GERAIS 2002; MINAS GERAIS, 2002b). Entretanto, para CCS, espera-se valores médios mais elevados quando se avalia leite de ovelha. O padrão internacional de qualidade do estado de Wisconsin, nos Estados Unidos, preconiza no máximo 1,00x10⁶ céls./mL para CCS e 1,00x10⁵ UFC/mL de CBT para leite de ovelha tipo A (Regulation..., 1994). Penna (2011) encontrou, para ovelhas da raça Lacaune e mestiças Lacaune

x Santa Inês, valores de CCS que variaram entre $3,68 \times 10^5$ e $6,64 \times 10^5$ céls/mL e CBT entre $3,83 \times 10^5$ e $7,12 \times 10^5$ UFC/mL. Brito *et al.* (2006) encontraram, para leite de ovelha, valores de CCS que variaram de $2,31 \times 10^5$ a $2,07 \times 10^5$ UFC/mL. Apesar de serem valores elevados, as pesquisas relacionadas obtiveram contagens menores de CBT e CCS do que os resultados do leite analisado na primeira etapa do experimento. Esses resultados podem estar relacionados a mastite subclínica no rebanho e práticas de higiene ineficientes, promovendo a contaminação do leite.

Diante das inadequações observadas quanto as práticas de ordenha, para a segunda fase do experimento foram necessárias intervenções, com a aplicação do *check list*, com o objetivo de melhorar a qualidade do leite desses animais. Os resultados obtidos após a adoção das Boas Práticas se encontram na tabela a seguir (tabela 6).

Tabela 6. Valores médios (X), coeficiente de variação (CV) e valores mínimos e máximos dos resultados de amostras de leite analisadas depois da aplicação das Boas Práticas (agosto a setembro)

Parâmetros físico-químicos do leite após a adoção das Boas Práticas				
	X	CV (%)	Mínimo	Máximo
Acidez (D°)	22,67	8,27	21,5	24,83
Densidade (g/mL)	1,037	0	1,036	1,038
Crioscopia (°H)	-0,563	0,86	-0,558	-0,568
Gordura (%)	5,96	10,25	5,33	6,55
Proteína (%)	5,08	3,84	4,89	5,28
Lactose (%)	4,47	2,76	4,37	4,61
Sólidos Totais (%)	16,34	3,86	15,84	17,05
Parâmetros microbiológicos do leite após a adoção das Boas Práticas				
	X	CV (%)	Mínimo	Máximo
Coliformes a 30°C (UFC/mL)	$1,5 \times 10^3$	140,91	$2,00 \times 10^2$	$4,00 \times 10^3$
<i>Escherichia coli</i> (UFC/mL)	$<1,00 \times 10^2$	0	$<1,00 \times 10^2$	$<1,00 \times 10^2$
<i>Staphylococcus spp.</i> (UFC/mL)	$2,80 \times 10^4$	19,88	$2,20 \times 10^4$	33000
<i>Staphylococcus coagulase positivo</i> (UFC/mL)	$<1,00 \times 10^2$	0	$<1,00 \times 10^2$	$<1,00 \times 10^2$
BAL MRS (UFC/mL)	$1,18 \times 10^5$	156,51	$<1,00 \times 10^2$	$3,30 \times 10^5$
<i>Salmonella spp.</i>	Ausente em 25g	0	Ausente em 25g	Ausente em 25g
Contagem de Células Somáticas (x1000 UFC/mL)	$1,16 \times 10^6$	55,71	$4,64 \times 10^4$	$1,74 \times 10^6$
Contagem Bacteriana Total (x1000 UFC/mL)	$1,35 \times 10^5$	62,73	$6,90 \times 10^4$	$2,31 \times 10^5$

Como é possível notar as contagens de *Escherichia coli*, que inicialmente apresentaram-se maiores do que estabelecido pela legislação para leite de vaca, posteriormente, se adequaram ao valor máximo de $1,00 \times 10^2$ UFC/mL. Em ambos os períodos foi possível observar contagens de *Staphylococcus aureus* menores que $1,00 \times 10^2$ UFC/mL e ausência de *Salmonella* em 25 mL. Embora as contagens de CCS e CBT ainda estejam elevadas, elas se encontram semelhantes as pesquisas relacionadas e reduziram após as aplicações de manejo de ordenha.

As Contagens Bacterianas Totais (CBT) dependem da carga bacteriana inicial e da taxa de multiplicação dos microrganismos e representam a aplicação das práticas de higiene de ordenha e as condições de estocagem do leite cru, permitindo avaliar a qualidade do leite desde a ordenha até sua estocagem. A alta contagem de CBT pode oferecer risco a saúde humana, pelo potencial de veiculação de microrganismos (MESQUITA *et al.*, 2018). As células somáticas estão presentes no leite e são constituídas pelas células de descamação do epitélio secretor e pelas células de

defesa provenientes da corrente sanguínea. Sabe-se que elevado número dessas células indica mastite subclínica.

Quanto a composição do leite, não se pode afirmar que as alterações, caso ocorram, sejam consequência da alteração de manejo exclusivamente. Sabe-se que a composição do leite se modifica por vários fatores: alimentares, período de lactação, clima, genética, etc. Portanto, diferentes resultados, em períodos de análise diferentes, são esperados. A menor densidade nos primeiros resultados pode ser consequência do maior teor de gordura e, posteriormente, a menor quantidade de gordura e maior lactose, podem elevar a densidade das médias do leite colhido no período de seca. Segundo HAENLEIN e PARK (2006), o leite de ovelha naturalmente possui maior densidade relativa, viscosidade, índice de refração, acidez titulável, mas menor ponto de congelamento que o leite de vaca.

Os parâmetros microbiológicos do leite da segunda etapa do experimento se enquadram na legislação (MINAS GERAIS, 2002b). Deve-se ressaltar que foi realizado o teste da caneca de fundo escuro em todas as ordenhas e que o leite de eventuais animais positivos não foi usado para produção dos queijos, portanto, estes resultados não refletem efeitos de mastite clínica no rebanho. Assim, refletem a melhoria de condições higiênicas.

A contaminação do leite pode ser proveniente de sujidades do úbere, mãos do ordenhador, dos equipamentos de ordenha (como as teteiras), de tambores e baldes mal higienizados. Nesses casos, ela ocorre principalmente por microrganismos ambientais como coliformes. Entretanto a contaminação pode ser devido à mastite, podendo ser causada tanto por patógenos contagiosos como ambientais (JAMES *et al.*, 2018). Procedimentos de desinfecção dos tetos, secagem dos tetos com papel toalha, higiene do sistema de ordenha, limpeza das mãos, além de auxiliar a qualidade microbiológica, previne a mastite. Além disso, os latões, as tubulações, utensílios e equipamentos também devem estar sempre limpos, a fim de evitar contaminações após a ordenha. O leite de qualidade é aquele obtido de forma higiênica e de ovelhas sadias.

5.6. Qualidade microbiológica do soro-fermento antes e depois da aplicação das Boas Práticas na propriedade.

Não existe legislação com valores limítrofes para contagem microbiana ou para as características físico-químicas nos soro-fermentos empregados na produção dos queijos. A importância da avaliação é conhecer o risco de contaminação que ele pode fornecer ao ser adicionado no queijo. Para isso foram feitas avaliações microbiológicas no soro-fermento antes e depois da implantação das Boas Práticas. Na etapa inicial de análises, era utilizado como fermento o soro armazenado a partir da produção do queijo anterior. Este soro era mantido na geladeira por no máximo 24 horas, para então, ser utilizado. Os resultados microbiológicos do soro-fermento antes da aplicação das BPs é são representados na tabela 7.

O risco da utilização desse soro-fermento é a contaminação oriunda do ambiente e vinda do próprio leite desprovido de processamento térmico. Como é possível observar na tabela 7, as contagens bacterianas foram elevadas, com exceção de *Staphylococcus coagulase positivo* e da ausência de *Salmonella spp.*

Tabela 7. Valores médios (X), coeficiente de variação (CV) e valores mínimos e máximos dos resultados de amostras de soro-fermento analisadas antes da aplicação das Boas Práticas (fevereiro a março)

Parâmetros microbiológicos iniciais do soro-fermento				
	X	CV	Mínimo	Máximo
Coliformes a 30°C (UFC/mL)	7,13x10 ⁵	88,79	<1,00x10 ²	1,21x10 ⁶
<i>Escherichia coli</i> (UFC/mL)	7,67x10 ²	150,61	<1,00x10 ²	2,10x10 ³
<i>Staphylococcus spp.</i> (UFC/mL)	1,27x10 ⁵	84,77	5,40x10 ⁴	2,50x10 ⁵
<i>Staphylococcus coagulase positivo</i> (UFC/mL)	<1,00x10 ²	0	<1,00x10 ²	<1,00x10 ²
BAL MRS (UFC/mL)	1,53x10 ⁶	140,68	<1,00x10 ²	4,00x10 ⁶
<i>Salmonella spp.</i>	Ausente em 25g	0	Ausente em 25g	Ausente em 25g

Com o objetivo de melhorar a qualidade dos queijos e por escolha do responsável pela propriedade, utilizou-se, na segunda etapa do experimento, iogurte pasteurizado como fermento para processamento dos queijos. Dessa forma, o uso de iogurte processado termicamente fez com que, com exceção das BAL, não houvesse contagem microbiana no fermento, impedindo a contaminação dos queijos por meio desse produto (tabela 8).

Tabela 8. Valores médios (X), coeficiente de variação (CV) e valores mínimos e máximos dos resultados de amostras de fermento analisadas depois da aplicação das Boas Práticas (agosto a setembro)

Parâmetros microbiológicos do iogurte-fermento após Boas Práticas				
	x	CV (%)	Mínimo	Máximo
Coliformes a 30°C (UFC/mL)	<1,00x10 ²	0	<1,00x10 ²	<1,00x10 ²
<i>Escherichia coli</i> (UFC/mL)	<1,00x10 ²	0	<1,00x10 ²	<1,00x10 ²
<i>Staphylococcus spp.</i> (UFC/mL)	<1,00x10 ²	0	<1,00x10 ²	<1,00x10 ²
<i>Staphylococcus coagulase positivo</i> (UFC/mL)	<1,00x10 ²	0	<1,00x10 ²	<1,00x10 ²
BAL MRS (UFC/mL)	9,64x10 ⁶	135,31	3,30x10 ⁴	2,45x10 ⁷
<i>Salmonella spp.</i>	Ausente em 25 g	0	Ausente em 25 g	Ausente em 25 g

As BAL são microrganismos esperados nesse fermento, já que são componentes das culturas *starter* no beneficiamento do iogurte, adicionadas após a pasteurização do leite, para promover a acidificação e formação da coalhada.

Apesar de minimizar a contaminação dos queijos pela utilização do iogurte pasteurizado, a desvantagem é a perda de diversidade microbiológica, características dos queijos artesanais brasileiros e possível perda de intensidade do sabor.

5.7. Características físico-químicas e microbiológicas do queijo artesanal de ovelha avaliados antes e depois da aplicação das Boas Práticas na propriedade

Foram avaliados queijos fabricados com leite de ovelha em diferentes períodos de maturação e em duas etapas distintas. A primeira etapa ocorreu nos meses de fevereiro a maio, em que, as produções foram acompanhadas sem que houvesse sugestões de melhorias de práticas locais. Na segunda etapa, que ocorreu entre os meses agosto e novembro, houve mudanças no manejo de ordenha e boas práticas de fabricação, com o intuito de melhorar a qualidade da matéria prima e produto final, a fim de atender as exigências das legislações.

Os padrões microbiológicos utilizados para averiguação dos resultados foram os estabelecidos pelo RTIQ, pela Lei nº 14.185 de 2002, Decreto nº 42.645 de 2002 e Decreto nº 44.864 de 2008 preconizam a contagem de coliformes totais de até 5×10^3 UFC/g, de 5×10^2 UFC/g para coliformes a 45°C, 1×10^3 UFC/g para *Staphylococcus* coagulase positivo e ausência de *Salmonella* spp (BRASIL, 1996; MINAS GERAIS, 2002; MINAS GERAIS, 2002b; MINAS GERAIS, 2008). Esses padrões microbiológicos foram utilizados como critério de qualidade devido à ausência de legislações específicas para os queijos artesanais de outras espécies domésticas, como as ovelhas.

5.7.1. Características microbiológicas do queijo artesanal de ovelha avaliados na primeira e na segunda etapa do experimento

5.7.1.1. Coliformes a 30°C

Os resultados de contagens de coliformes a 30°C entre os queijos coletados, durante a maturação, antes e após a adoção das boas práticas, foram apresentados no gráfico a seguir (Fig. 12).

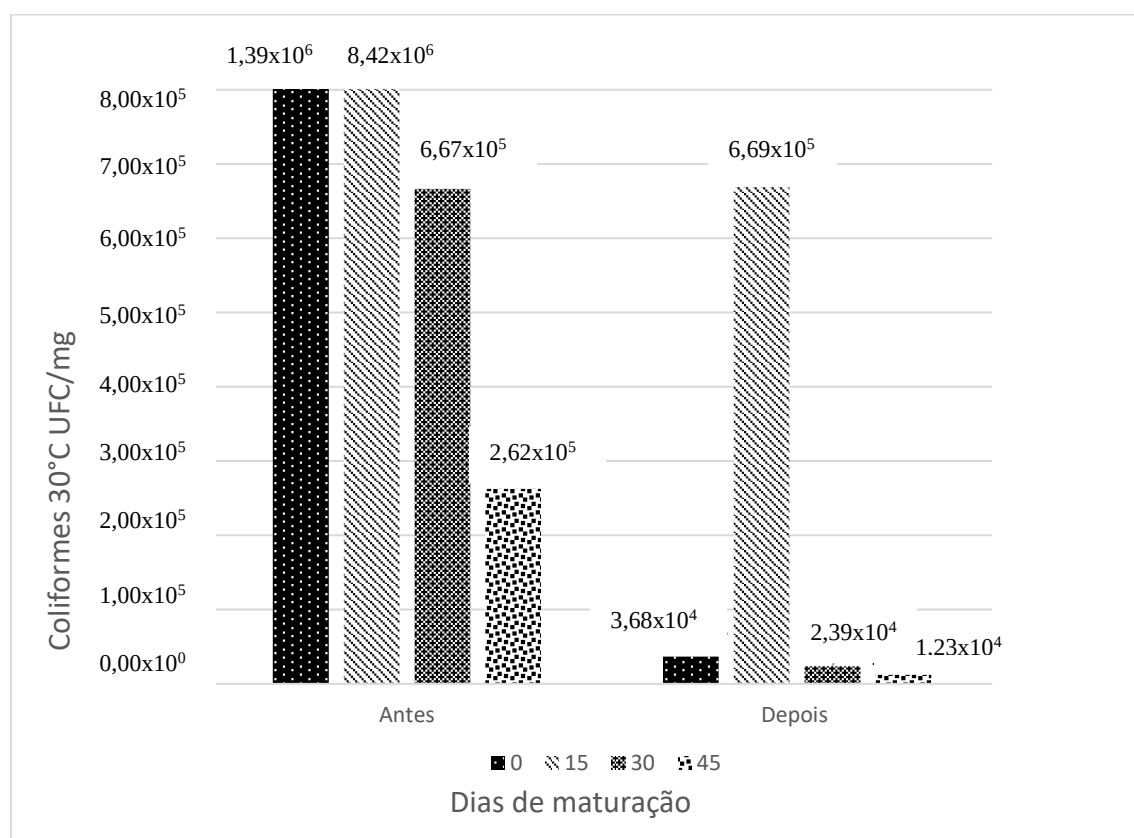


Figura 12. Resultados médios de contagem de coliformes a 30°C das amostras de queijo analisados durante os quatro períodos de maturação, antes e depois da aplicação das Boas Práticas, nos períodos de fevereiro a maio e agosto a novembro. O valor máximo da ordenada vertical foi limitado a 8×10^5 UFC/mg, para melhor visualização dos resultados no gráfico. Os valores médios foram representados sobre cada coluna.

As amostras da primeira etapa do experimento obtiveram resultados médios elevados em relação as amostras coletadas depois da adoção das Boas Práticas (BP). O uso dos detergentes neutro e

ácido, do cloro, a troca das mangueiras, dentre outros, auxiliaram na melhoria da higiene do local e podem melhorar a qualidade microbiológica do leite, consequentemente, a qualidade do queijo.

Ocorreu variação das contagens de coliformes, no decorrer da maturação, de $1,38 \times 10^6$ UFC/mg para $2,39 \times 10^5$ UFC/mg, na primeira parte do experimento, e $3,68 \times 10^4$ UFC/mg para $1,23 \times 10^4$ UFC/mg, na segunda etapa do experimento. Essa variação pode ser favorecida pela competição com as bactérias ácido-láticas, alterações físico-químicas dos queijos (NaCl e umidade). Pisano *et al.* (2006), relataram em sua pesquisa com queijo de ovelha Fiore Sardo, a redução de microrganismos indesejáveis no decorrer da maturação, sendo que, aos três meses já não havia crescimento de coliformes totais nos queijos estudados.

Entretanto, ocorre uma discrepância do resultado dos queijos de 15 dias de maturação analisados no período após a adoção das boas práticas. O resultado máximo do queijo analisado aos 15 dias foi muito superior aos queijos restantes, analisados no mesmo período (Tab. 9). A explicação possível para o aumento da média das amostras de 15 dias na segunda etapa foi a ausência do responsável na propriedade durante a coleta de um desses queijos, junto as falhas de higiene da “caverna”, já que, práticas como: viragem dos queijos, controle de umidade, raspagem das taboas, retirada de queijos contaminados, limpeza da “caverna”, são feitas pelo responsável. Além disso, como outra pessoa foi responsável pelo envio da amostra, existe a possibilidade de que tenha ocorrido alguma falha na coleta, entretanto não é possível confirmar essa informação. O aumento de coliformes nos queijos de 15 dias também podem representar maior contaminação ambiental, dentro da “caverna” de maturação, provocada por sujidades do ambiente ou mãos do manipulador.

Tabela 9. Valores médios (X), coeficiente de variação (CV) e valores mínimos e máximos dos resultados de contagem de coliformes a 30°C analisados em queijos antes e depois da aplicação das Boas Práticas (BPs) nos períodos de fevereiro a maio e agosto a novembro

Coliformes 30°C (UFC/mg)		Antes da adoção das BPs			
Dias de maturação	n°	X	CV	Mínima	Máxima
0	3	$1,39 \times 10^6$	80,9	$1,01 \times 10^5$	$2,17 \times 10^6$
15	3	$8,42 \times 10^6$	170,69	$5,20 \times 10^3$	$2,50 \times 10^7$
30	3	$6,67 \times 10^5$	173,2	$<1,00 \times 10^1$	$2,00 \times 10^6$
45	3	$2,62 \times 10^4$	127,76	$<1,00 \times 10^1$	$6,40 \times 10^4$
Coliformes 30°C (UFC/mg)		Depois da adoção das BPs			
Dias de maturação	n°	X	CV	Mínima	Máxima
0	3	$3,68 \times 10^4$	124,21	$3,10 \times 10^2$	$8,80 \times 10^4$
15	3	$6,69 \times 10^5$	172,29	$1,90 \times 10^3$	$2,00 \times 10^6$
30	3	$2,39 \times 10^4$	135,25	$1,04 \times 10^3$	$6,10 \times 10^4$
45	3	$1,23 \times 10^4$	153,86	$3,70 \times 10^2$	$3,40 \times 10^4$

Vale ressaltar que mesmo após a adoção das BPs, nenhum dos resultados foi menor do que os estabelecidos pela legislação, que preconizam a contagem de coliformes totais de até 5×10^3 UFC/g (BRASIL, 1996; MINAS GERAIS, 2002; MINAS GERAIS, 2002b; MINAS GERAIS, 2008). Apesar das melhorias feitas na propriedade, ainda há necessidade de melhorar a forma de obtenção do leite e as condições de beneficiamento do queijo para a garantia da sua qualidade.

5.7.1.2. Coliformes a 45°C

A pesquisa de coliformes a 45°C é importante pois a *E. coli* é um microrganismo causador de gastroenterites infecciosas e sua ausência determina qualidade nos queijos. Antes da adoção das BP só foi possível notar a redução dos coliformes, para valores menores do que o máximo estabelecido pela legislação, em queijo com 45 dias de maturação (Tab. 10). Isso pode ser explicado pelo avanço

de maturação, em que, as alterações físico-químicas propiciam a redução dos microrganismos indesejáveis e pela competição destes microrganismos com as bactérias ácido láticas. Entretanto, os valores médios observados ao longo da maturação mostraram comportamento errático, sem apresentarem redução gradativa. Resultados semelhantes foram encontrados por Sales (2015), já que, não houve diferença ($P>0,05$) entre contagens de coliformes 45°C durante a maturação de queijos Minas Artesanal da microrregião de Araxá. Oliveira (2014) justificou a ausência da evolução negativa para coliformes 45°C em queijos artesanais da Região Campo das Vertentes, pela permanência da fonte de contaminação de coliformes termotolerantes durante a maturação e pela possível resistência a BAL, que faz com que esses microrganismos se mantenham na matriz dos queijos.

Tabela 10. Valores médios (X), coeficiente de variação (CV) e valores mínimos e máximos dos resultados de contagem de coliformes a 45°C analisados em queijos antes e depois da aplicação das Boas Práticas (BPs) e nos períodos de fevereiro a maio e agosto a novembro

Coliformes 45°C (UFC/mg)		Antes da aplicação das BPs			
Dias de maturação	n°	X	CV	Mínima	Máxima
0	3	4,01x10 ³	172,77	<1,00x10 ¹	1,20x10 ⁴
15	3	1,24x10 ³	171,81	<1,00x10 ¹	3,70x10 ³
30	3	1,23x10 ⁴	173,06	<1,00x10 ¹	3,70x10 ⁴
45	3	<1,00x10 ¹	0	<1,00x10 ¹	<1,00x10 ¹
Coliformes 45°C (UFC/mg)		Depois da aplicação das BPs			
Dias de maturação	n°	X	CV	Mínima	Máxima
0	3	<1,00x10 ¹	0	<1,00x10 ¹	<1,00x10 ¹
15	3	1,10x10 ²	157,46	<1,00x10 ¹	3,10x10 ²
30	3	<1,00x10 ¹	0	<1,00x10 ¹	<1,00x10 ¹
45	3	<1,00x10 ¹	0	<1,00x10 ¹	<1,00x10 ¹

Depois das BPs todos obtiveram valores médios que atendiam os padrões estabelecidos pela legislação, que preconizam a contagem de 5x10²UFC/g para coliformes a 45°C (BRASIL, 1996; MINAS GERAIS, 2002; MINAS GERAIS, 2002b; MINAS GERAIS, 2008). A redução da contagem de coliformes a 45°C neste momento ocorreu, principalmente, pela limpeza da “caverna” e vedação, após furo na tela e entrada de insetos e pela troca de tábuas para os queijos do experimento, quando foram colocados distantes dos outros queijos da propriedade e em tábuas separadas.

Observa-se elevado coeficiente de variação nas amostras coletadas após a aplicação das BP aos 15 dias de maturação (Tab. 10), que se deve ao fato de que uma única amostra obteve contagens de coliformes termotolerantes elevadas. Isso ocorreu, pois, o responsável se ausentou da fazenda e não realizou a umidificação da caverna, raspagens das tábuas e viragem dos queijos.

5.7.1.3. *Staphylococcus* spp.

Não existe na legislação padrão específico para a contagem de *Staphylococcus* spp. A importância da pesquisa de *Staphylococcus* spp. está relacionada ao risco da presença do *Staphylococcus aureus* e sua relação com a produção de enterotoxinas associadas a intoxicações alimentares nos humanos.

Observa-se (Fig. 13) a diferença desses microrganismos antes e depois da adoção das BP, com sua provável redução após as melhorias nas práticas de manejo de ordenha e BPF. A sanitização dos equipamentos entre ordenhas, limpeza, *pré* e *pós-dipping*, linha de ordenha, teste da caneca, teste de CMT, são práticas importantes, pois com elas é possível reduzir o índice de mastite clínica

e subclínica e melhorar a qualidade do leite ordenhado, consequentemente, dos queijos elaborados.

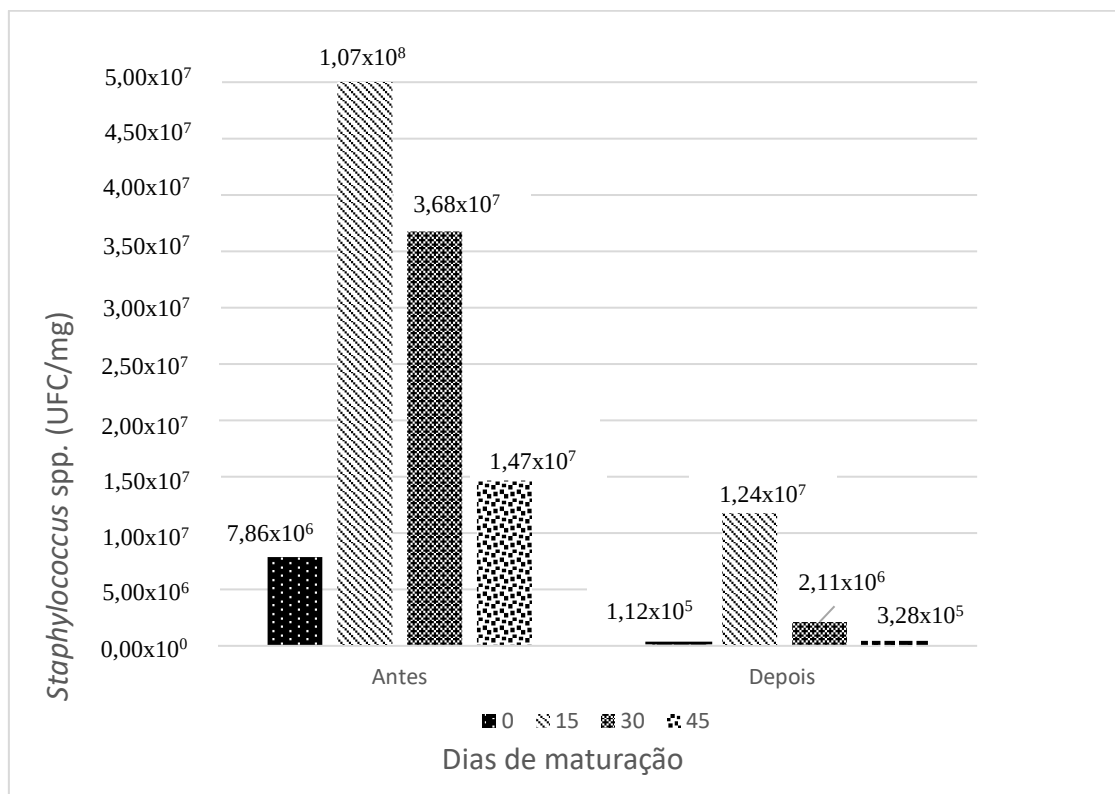


Figura 13. Resultados médios de contagem de *Staphylococcus* spp. das amostras de queijo analisados durante os quatro períodos de maturação, antes e depois da aplicação das Boas Práticas, nos períodos de fevereiro a maio e agosto a novembro. O valor máximo da ordenada vertical foi limitado a 5×10^7 UFC/mg, para melhor visualização dos resultados no gráfico. Os valores médios foram representados sobre cada coluna.

Em ambas as etapas de análises desse experimento a contagem desses microrganismos foi elevada aos 15 dias e, aparentemente, reduziu com o avanço da maturação (Tab. 11). Esse fator pode ser explicado pelo fato de *Staphylococcus* spp. fermentarem a lactose disponível no início da maturação, que provocaria seu crescimento inicial, com possível queda, por competição com as BAL, durante a maturação. Entretanto, pode ser explicado pela contaminação após início do processo de maturação. Sabe-se que esses microrganismos podem estar presentes em mãos e pelos dos seres humanos e em utensílios mal higienizados. Dessa forma, a contaminação pode ocorrer pelo excesso de manipulação na “caverna” ou pelas tábuas contaminadas.

Ao pesquisar as características microbiológicas de queijos Minas Artesanais da microrregião de Araxá, Sales (2015), relatou que contagens de *Staphylococcus* spp. não reduziram durante a maturação. O autor encontrou resultados médios que variaram de $1,4 \times 10^6$ a $2,8 \times 10^7$, em todos os

períodos de maturação estudados. Resultados semelhantes, mas mais variáveis, foram encontrados nessa pesquisa, com variação de $3,28 \times 10^5$ a $1,07 \times 10^8$.

Tabela 11. Valores médios (X), coeficiente de variação (CV) e valores mínimos e máximos dos resultados de *Staphylococcus* spp. analisados em queijos antes e depois da aplicação das Boas Práticas (BPs) e nos períodos de fevereiro a maio e agosto a novembro

<i>Staphylococcus</i> spp. (UFC/mg)		Antes da aplicação das BPs			
Dias de maturação	n°	X	CV	Mínima	Máxima
0	3	$7,86 \times 10^6$	166,71	$2,50 \times 10^5$	$2,30 \times 10^7$
15	3	$1,07 \times 10^8$	147,46	$9,10 \times 10^6$	$2,90 \times 10^8$
30	3	$3,68 \times 10^7$	165,48	$2,00 \times 10^5$	$1,07 \times 10^8$
45	3	$1,47 \times 10^7$	68,97	$3,00 \times 10^6$	$2,10 \times 10^7$
<i>Staphylococcus</i> spp. (UFC/mg)		Depois da aplicação das BPs			
Dias de maturação	n°	X	CV	Mínima	Máxima
0	3	$1,12 \times 10^5$	153,16	$6,10 \times 10^3$	$3,10 \times 10^5$
15	3	$1,24 \times 10^7$	103,7	$4,20 \times 10^5$	$2,60 \times 10^7$
30	3	$2,11 \times 10^6$	73,34	$4,40 \times 10^5$	$3,50 \times 10^6$
45	3	$3,28 \times 10^5$	110,84	$3,10 \times 10^3$	$7,20 \times 10^5$

5.7.1.4. *Staphylococcus coagulase positivo*

A tabela 12 representa os resultados médios, coeficiente de variação e mínima e máxima de *Staphylococcus coagulase positivo* em três amostras de queijos nos diferentes períodos de maturação, antes e após a aplicação das BP.

Tabela 12. Valores médios (X), coeficiente de variação (CV) e valores mínimos e máximos dos resultados de *Staphylococcus coagulase positivo* analisados em queijos antes e depois da aplicação das Boas Práticas (BPs) e nos períodos de fevereiro a maio e agosto a novembro

<i>Staphylococcus coagulase positivo</i> (UFC/mg)		Ates da aplicação das BPs			
	n°	X	CV	Mínima	Máxima
0	3	<1,00x10 ²	0	<1,00x10 ²	<1,00x10 ²
15	3	<1,00x10 ²	0	<1,00x10 ²	<1,00x10 ²
30	3	<1,00x10 ²	0	<1,00x10 ²	<1,00x10 ²
45	3	<1,00x10 ²	0	<1,00x10 ²	<1,00x10 ²
<i>Staphylococcus coagulase positivo</i> (UFC/mg)		Depois da aplicação das BPs			
	n°	X	CV	Mínima	Máxima
0	3	<1,00x10 ²	0	<1,00x10 ²	<1,00x10 ²
15	3	5,61x10 ⁴	172,9	<1,00x10 ²	1,68x10 ⁵
30	3	<1,00x10 ²	0	<1,00x10 ²	<1,00x10 ²
45	3	<1,00x10 ²	0	<1,00x10 ²	<1,00x10 ²

Staphylococcus aureus são bactérias coagulase positivo e sua pesquisa é importante pelo risco de causar toxinfecções em humanos e também por ser causador de mastite nos animais. Apenas em uma amostra de 15 dias de maturação após a adoção das BP houve contagem, sendo essa amostra a mesma que gerou os resultados elevados nas pesquisas de coliformes a 30 e 45°C, que justifica o elevado CV neste período. As demais amostras obtiveram valores estimados $<1 \times 10^3$ UFC/mg, que atende a legislação para queijo Minas Artesanal e o RTIQ de queijos (BRASIL, 1996; MINAS GERAIS, 2002; MINAS GERAIS, 2002b; MINAS GERAIS, 2008).

Pesquisas com queijos artesanais feito com leite de vaca encontraram contagens de *Staphylococcus coagulase positivo* maiores do que o permitido pela legislação no início e até em determinado momento da maturação (CARDOSO, 2011; OLIVEIRA, 2012; CASTRO, 2015;

SALES, 2015). Esses resultados podem demonstrar uma vantagem do queijo de ovelha sobre o de vaca, já que não foi comum encontrar esse microrganismo nesse tipo de queijo e eles só foram encontrados em uma única amostra, que sofreu contaminação vinda do ambiente ou manipulador, já que o mesmo queijo analisado antes da maturação (0 dias) não obteve contagens.

5.7.1.5. Bolores e Leveduras

Também não existe na legislação padrão específico para a contagem de bolores e leveduras em queijos. No entanto, esses microrganismos são mais resistentes à menor umidade e à elevada acidez do que as bactérias, dessa forma se espera seu crescimento no decorrer da maturação. Além disso, na caverna de maturação é comum a presença de pequenas colônias superficiais de bolores e leveduras em tábuas e nos queijos.

Na Itália, tem-se a produção de um queijo feito com leite cru de ovelhas e maturado em cavernas, na região de Apúlia. A maturação desse queijo da caverna ocorre tipicamente nesses locais, onde a temperatura é de 15-25°C e a umidade entre 85-90%. Os fungos colonizam espontaneamente os queijos durante a maturação e conferem características sensoriais muito apreciadas pelos consumidores. A população fúngica é capaz de tornar o produto único e típico. Ao final do processo de maturação, os queijos costumam ser lavados e escovados, para remover os resíduos desenvolvidos na superfície, eliminando informações sobre a população fúngica cultivada (PAMELA *et al.*, 2018).

Como representado na figura 14, ocorreu variação das contagens de bolores e leveduras, no decorrer da maturação, de $4,18 \times 10^6$ UFC/mg para $7,00 \times 10^9$ UFC/mg, na primeira parte do experimento, e $3,79 \times 10^4$ UFC/mg para $3,19 \times 10^7$ UFC/mg, na segunda etapa do experimento.

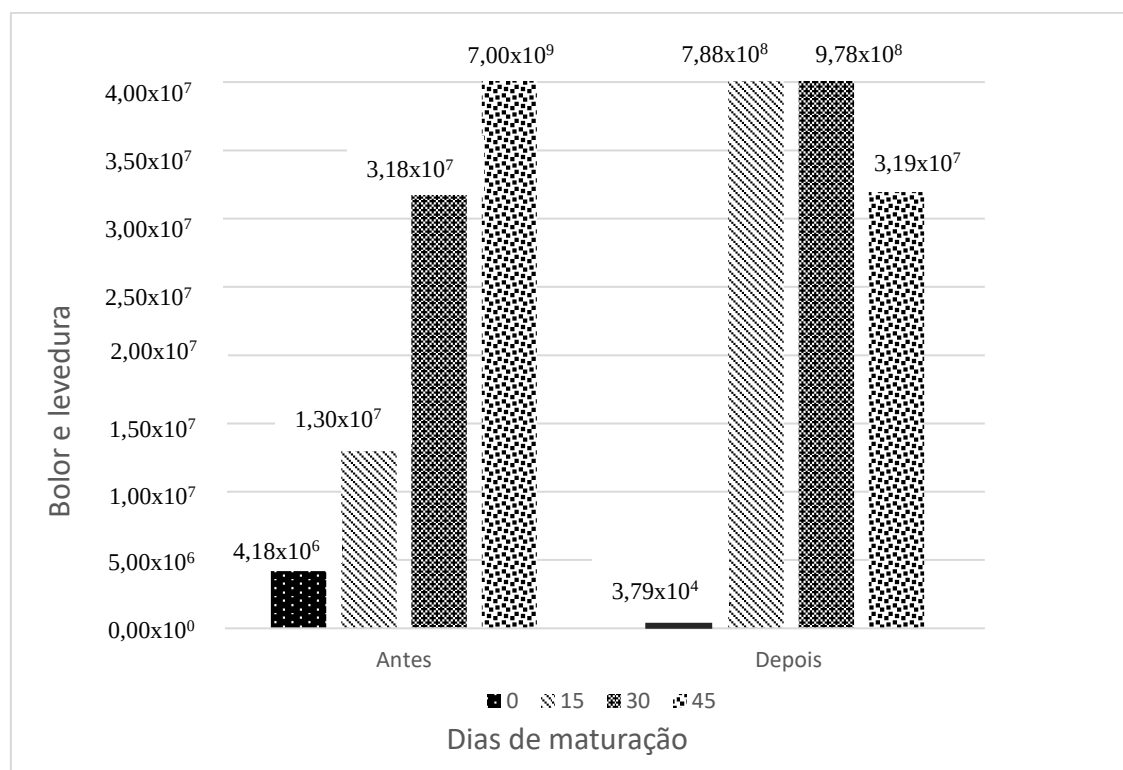


Figura 14. Resultados médios de contagem de Bolores e Leveduras das amostras de queijo analisados durante os quatro períodos de maturação, antes e depois da aplicação das Boas Práticas, nos períodos de fevereiro a maio e agosto a novembro. O valor máximo da ordenada vertical foi limitado a 4×10^7 UFC/mg, para melhor visualização dos resultados no gráfico. Os valores médios foram representados sobre cada coluna.

O aumento da contagem de bolores e leveduras é esperado no decorrer de maturação já que, a redução da umidade e pH favorecem o crescimento desses microrganismos. A menor contagem de bolores e leveduras nos queijos que não sofreram maturação (0 dias), pode indicar que pouca contaminação destes proveniente do leite, já que ocorreu, principalmente, depois que o queijo chegou na “caverna”. A “caverna” pode ser considerada um ambiente propício para a presença desses microrganismos pela irregularidade da superfície da parede (dificultando higienização), presença de queijos de outras espécies no mesmo local (contaminação cruzada), umidade e temperatura.

Para queijos elaborados após a adoção das BPs, houve aparente equilíbrio entre valores mínimos e máximos dos queijos de 15 e 30 dias e no dia 45, houve aparente redução dessa contagem (Tab. 13). O mesmo queijo, que aos 15 dias obteve contagens altas de coliformes e *Staphylococcus* coagulase positivo, pode ter influenciado para o aumento no resultado médio encontrado nesse período de maturação e nos queijos com 30 dias, isso por que, o responsável não raspou as tábuas, não umidificou a caverna e não virou esse queijo, o que favoreceu o acúmulo de bolor em sua superfície. A possível redução da contagem de bolores e leveduras aos 45 dias de maturação pode ser explicada pela competição desses microrganismos com as BAL.

Tabela 13. Valores médios (X), coeficiente de variação (CV) e valores mínimos e máximos dos resultados de Bolores e Leveduras analisados em queijos antes e depois da aplicação das Boas Práticas (BPs) e nos períodos de fevereiro a maio e agosto a novembro

Bolor e levedura (UFC/mg)		Antes da aplicação das BPs			
Dias de maturação	n°	X	CV	Mínima	Máxima
0	3	$4,18 \times 10^6$	167,96	$4,40 \times 10^4$	$1,23 \times 10^7$
15	3	$1,30 \times 10^7$	166,94	$3,50 \times 10^5$	$3,80 \times 10^7$
30	3	$3,18 \times 10^7$	85,61	$9,30 \times 10^6$	$6,20 \times 10^7$
45	3	$7,00 \times 10^9$	173,13	$1,56 \times 10^6$	$2,10 \times 10^{10}$
Bolor e levedura (UFC/mg)		Depois da aplicação das BPs			
Dias de maturação	n°	X	CV	Mínima	Máxima
0	3	$3,79 \times 10^4$	164,82	$1,00 \times 10^2$	$1,10 \times 10^5$
15	3	$7,88 \times 10^8$	166,28	$2,10 \times 10^7$	$2,30 \times 10^9$
30	3	$9,78 \times 10^8$	170,19	$1,50 \times 10^7$	$2,90 \times 10^9$
45	3	$3,19 \times 10^7$	92,74	$1,80 \times 10^6$	$6,10 \times 10^7$

Segundo Pamela *et al.* (2018), o uso de fungos na produção de derivados lácteos contribui para o processamento dos alimentos e suas propriedades organolépticas, mas podem afetar a segurança de produtos alimentícios pelo risco de produção de micotoxinas genotóxicas para animais e humanos. Os fungos micotoxigênicos podem ocorrer em queijos e podem crescer em condições comparáveis as que caracterizam cavernas de maturação. Para garantir a produção de queijo cavernoso artesanal seguro e de alta qualidade, as micotoxinas devem ser analisadas. As espécies de *Aspergillus westerdijkiae* e *A. steynii*. são amplamente difundidas em cavernas e ambientes semelhantes a cavernas, bem como a seleção de iniciadores secundários nativos seguros, o seu monitoramento poderia ser uma solução eficaz para impedir a população fúngica indesejável.

Seriam necessárias mais pesquisas e isolamento desses microrganismos a fim de obter sua identificação dos bolores e leveduras na primeira e na segunda fase do experimento e verificar o seu potencial risco.

5.7.1.6. Bactérias ácido-láticas

O limite das BAL não são estabelecidos na legislação de queijos, mas sua presença é importante, já que, essas bactérias fermentadoras de lactose são comumente encontradas em queijos no decorrer do período de maturação, podendo competir e reduzir ou inibir microrganismos indesejáveis. Além disso são importantes por fornecer mais sabor e textura aos queijos.

Na figura 15 é possível notar que os valores de BAL estão, aparentemente, menores aos 30 dias em relação aos 15 e 45 dias de maturação, em ambos os períodos experimentais. Essa redução pode ocorrer pelo aumento da acidez que, em certo ponto, exerce efeito negativo ao crescimento desses microrganismos. Pisano *et al.* (2016) relataram aumento das contagens de BAL até um mês de maturação em queijos de ovelha, manutenção até três meses e posterior decréscimo gradativo, até nove meses de maturação, período máximo de realização da pesquisa.

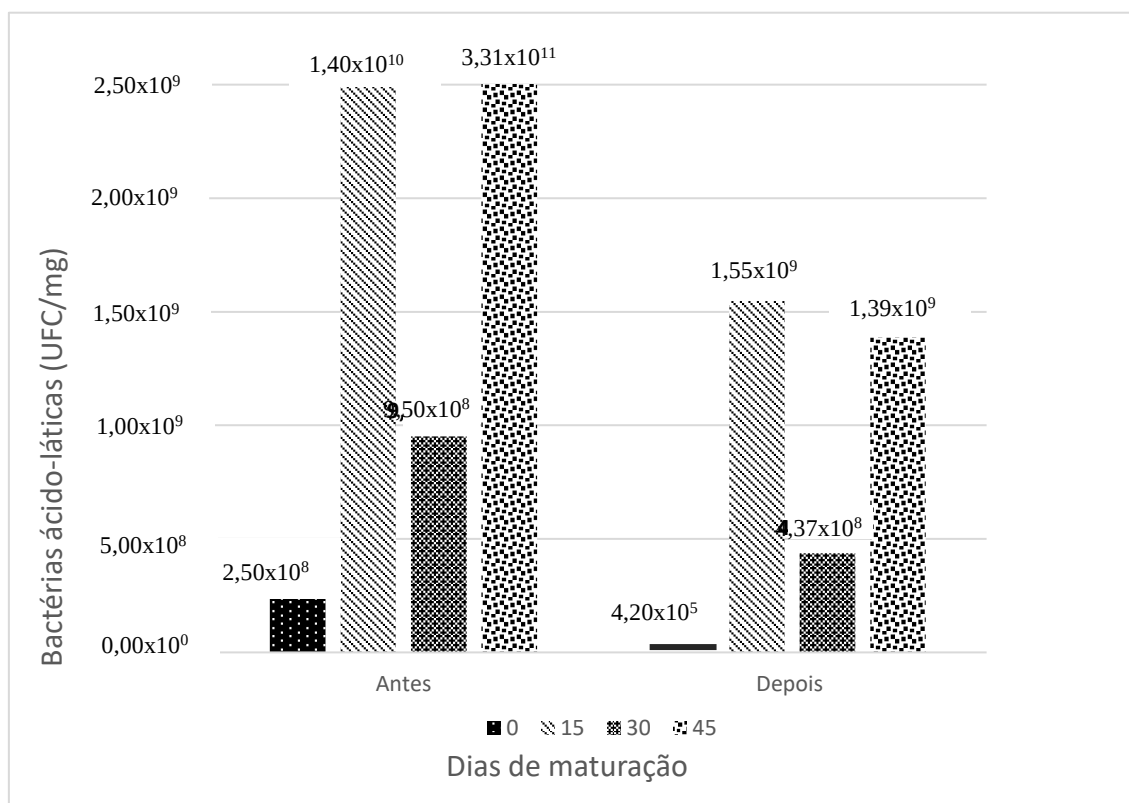


Figura 15. Resultados médios de contagem de bactérias ácido-láticas das amostras de queijo analisados durante os quatro períodos de maturação, antes e depois da aplicação das Boas Práticas, nos períodos de fevereiro a maio e agosto a novembro. O valor máximo da ordenada vertical foi limitado a 2×10^9 UFC/mg, para melhor visualização dos resultados no gráfico. Os valores médios foram representados sobre cada coluna.

Na primeira etapa do experimento o responsável usava soro-fermento na elaboração dos queijos e depois passou a usar iogurte. Essa alteração pode explicar as menores contagens de BAL após a adoção das BPs, já que, as BAL do iogurte podem ser piores competidoras do que as do soro-fermento. Essa hipótese também explicaria o aumento de bolores e leveduras nos queijos analisados na segunda etapa experimental.

A tabela 14 descreve os valores médios, coeficientes de variação e valores mínimos e máximos das contagens de BAL nos queijos.

Tabela 14. Valores médios (X), coeficiente de variação (CV) e valores mínimos e máximos dos resultados de bactérias ácido-láticas analisados em queijos antes e depois da aplicação das Boas Práticas (BPs) e nos períodos de fevereiro a maio e agosto a novembro

BAL (UFC/mg)		Antes da aplicação das BPs			
Dias de maturação	n°	X	CV	Mínima	Máxima
0	3	2,50x10 ⁸	80,56	2,10x10 ⁷	4,00x10 ⁸
15	3	1,40x10 ¹⁰	86,12	6,10x10 ⁸	2,40x10 ¹⁰
30	3	9,50x10 ⁸	150,38	9,10x10 ⁷	2,60x10 ⁹
45	3	3,31x10 ¹¹	151,71	2,80x10 ⁸	9,10x10 ¹¹
BAL (UFC/mg)		Depois da aplicação das BPs			
Dias de maturação	n°	X	CV	Mínima	Máxima
0	3	4,20x10 ⁵	31,5	2,70x10 ⁵	5,20x10 ⁵
15	3	1,55x10 ⁹	131,33	2,90x10 ⁸	3,89x10 ⁹
30	3	4,37x10 ⁸	58,67	1,41x10 ⁸	5,90x10 ⁹
45	3	1,39x10 ⁹	60,62	4,60x10 ⁸	2,10x10 ⁹

Os resultados deste experimento demonstram que as BAL são microrganismos predominantes nos queijos, pela sua presença durante toda a maturação (Tab. 14). A presença das BAL é importante para a redução de microrganismos indesejados, pela síntese e aumento da concentração de ácido lático, diminuição do pH, aumento do peróxido de hidrogênio, diminuição do açúcar disponível e produção de bacteriocinas, agentes inibidores potenciais para diversos microrganismos (SALES, 2015).

5.7.1.7. *Salmonella* spp.

Conforme descrito na legislação, *Salmonella* spp. deve estar ausente em 25 gramas (Minas Gerais, 2002; Minas Gerais, 2002b; Minas Gerais, 2008), em todos os alimentos. Todas as amostras pesquisadas demonstraram ausência desse microrganismo. Segundo Sales (2015), a ausência de *Salmonella* spp. pode ser justificada por diversos fatores, como diminuição da atividade de água e umidade durante a maturação, aumento da proporção de sal e pela presença das BAL. Entretanto, os cuidados nas boas práticas, a higiene dos manipuladores, dos equipamentos e materiais que entram em contato com os queijos devem compreender todas as etapas de produção e qualquer falha pode acarretar contaminações.

5.7.2. Características físico-químicas do queijo artesanal de ovelha avaliados na primeira e na segunda etapa do experimento

5.7.2.1. Percentual de umidade

Existem diversos fatores que afetam a umidade da massa durante o beneficiamento do queijo, são eles: o corte, favorecendo a dessoragem; mexedura, pressão física; aquecimento; prensagem, salga e tensão osmótica. Cada queijo tem sua forma de beneficiamento e isso os torna únicos. As

diferenças estruturais entre os vários tipos de queijo resultam dos efeitos das diferenças nos procedimentos de fabricação (PINHO, 2004).

A umidade dos queijos variou entre 46,09% a 37,09% e 46,90% a 31,88%, do dia 0 até os 45 dias de maturação, antes e depois da adoção das BPs (Tab. 15).

Embora a janela da caverna de maturação tenha sido modificada de uma tela fina para um vidro vedado, esse fato não pareceu elevar a umidade dos queijos na segunda etapa de produção. As variações de umidade podem ter ocorrido pela menor umidade do ar, favorecida pelo clima e frequência de umidificação da caverna com água ou pelo maior aquecimento da massa na segunda etapa do experimento. Segundo Paula *et al.* (2009), a maior temperatura de cozimento favorece a sinerese quando a coalhada é cortada.

Tabela 15. Valores médios (X), coeficiente de variação (CV) e valores mínimos e máximos dos teores de umidade (%) analisados em queijos antes e depois da aplicação das Boas Práticas (BPs) e nos períodos de fevereiro a maio e agosto a novembro

Umidade (%)		Antes da aplicação das BPs			
Dias de maturação	nº	X	CV	Mínima	Máxima
0	3	46,09	9,74	40,99	49,44
15	3	41,75	12,67	35,89	46,17
30	3	37,15	5,01	36,01	39,3
45	3	37,09	12,35	32,73	41,86
Umidade (%)		Depois da aplicação das BPs			
Dias de maturação	nº	X	CV	Mínima	Máxima
0	3	46,9	6,36	44,96	50,34
15	3	37,7	8,38	34,72	41,01
30	3	30,16	7,05	27,92	32,15
45	3	31,88	13,21	27,13	35,15

Com base nos resultados médios encontrados nessa pesquisa e segundo o RTIQ (BRASIL, 1996) os queijos da primeira etapa do experimento podem ser considerados como de média umidade ou massa semidura, a partir dos 15 dias de maturação. Entretanto, na segunda etapa do experimento, os resultados médios de umidade, a partir de, 30 dias representam queijos de baixa umidade. Segundo o RTIQ os queijos de baixa umidade são aqueles com percentagem de umidade de até 35,9%; os de média umidade variam entre 36 a 45,9% e os de alta umidade são os de 46 a 54,9%.

A redução da umidade é esperada em queijos maturados e, aparentemente, os queijos deste trabalho sofreram perda de umidade. Estudos durante a maturação em queijos feitos com leite de ovelha condizem com essa afirmação (NARDES, 2002; PINHO, 2004; PISANO *et al.*, 2006).

O emprego do cloreto de sódio nos queijos tem importância por promover a sinérese do soro, com redução da umidade e atividade de água do produto, e desta maneira, afetar no desenvolvimento das bactérias lácticas e patogênicas e enzimas proteolíticas e lipolíticas importantes no processo de maturação (SILVA *et al.*, 2012).

Vale ressaltar que, segundo a Legislação do queijo Minas Artesanal, o padrão de umidade deve ser de até 45,9% (MINAS GERAIS, 2002a; MINAS GERAIS, 2002b; MINAS GERAIS, 2008). Como representado na tabela 15, valores menores do que 45,9% foram obtidos em queijos a partir de 15 dias de maturação. O queijo da propriedade não é consumido fresco, portanto, pode-se considerar que o produto atente ao que é preconizado pela legislação.

5.7.2.2. Percentual de proteína

O valor médio do percentual de proteína na matéria seca dos queijos artesanais de ovelha foi de 41,75%, com variação mínima e máxima de 31,56% em queijo de 0 dias e 71,50% em queijo de 45 dias (Tab. 16). Com a redução da umidade nos queijos ocorre o aumento, consequente dos sólidos totais, dessa forma espera-se o aumento da concentração de proteína no decorrer da maturação. Entretanto, alguns estudos não relataram o aumento de proteína no decorrer da maturação de queijos de ovelha (NARDES, 2002; PISANO *et al.*, 2006).

Tabela 16. Valores médios (X), coeficiente de variação (CV) e valores mínimos e máximos dos resultados proteína (%) no estrato seco total (EST) analisados em queijos antes e depois da aplicação das Boas Práticas (BPs) e nos períodos de fevereiro a maio e agosto a novembro

% proteína no EST		Antes da aplicação das BPs			
Dias de maturação	nº	X	CV	Mínima	Máxima
0	3	33,72	6,43	31,56	35,90
15	3	36,27	5,74	34,82	38,66
30	3	38,54	13,11	33,91	43,93
45	3	52,21	32,00	42,36	71,50
% proteína no EST		Depois da aplicação das BPs			
Dias de maturação	nº	X	CV	Mínima	Máxima
0	3	42,04	13,47	35,79	46,85
15	3	43,55	9,86	39,11	47,69
30	3	41,65	2,77	40,65	42,91
45	3	45,98	9,46	41,27	49,83

Durante a maturação também pode ocorrer a proteólise, que provoca um aumento do pH, redução da proteína e contribui em textura, sabor e formação de compostos aromáticos. Esse fato pode explicar a menor variação do teor de proteína nos queijos analisados na segunda etapa do experimento e o teor médio de 41,65% de proteína dos queijos de 30 dias, da segunda etapa do experimento.

5.7.2.3. Percentual de gordura

Sabe-se que vários fatores podem alterar o teor de gordura no leite, como alimentação dos animais, estágio de lactação, número de crias, etc., alterando, consequentemente, a quantidade de gordura nos queijos. Esse fator pode justificar o fato de que na segunda etapa do experimento a porcentagem de gordura tenha se mostrado aparentemente menor, uma vez que os animais estavam com menor disponibilidade de volumoso na dieta, diante do período seco do ano (Tab. 17). Portanto, podem ter passado por certo grau de redução de precursores da gordura láctea, resultando em menor síntese desse constituinte (FRUSCALSO, 2007).

Os resultados de gordura no estrato seco (EST) dos queijos de ovelha deste trabalho apresentaram valores mínimos e máximos variando entre 46,88 a 67,44% antes e 39,52 a 61,59% na segunda etapa de produção. Entretanto, é possível notar que não houve aumento gradativo nos resultados médios de gordura. Teores de gordura encontrados aos 30 dias de maturação, antes da adoção das BP, e aos 45 dias, após a aplicação das BP, podem ser explicados pela ocorrência de uma falha de homogeneização durante o preparo das amostras para análise.

Tabela 17. Valores médios (X), coeficiente de variação (CV) e valores mínimos e máximos dos resultados gordura (%) no estrato seco total (EST) analisados em queijos antes e depois da aplicação das Boas Práticas (BPs) e nos períodos de fevereiro a maio e agosto a novembro

% gordura no EST		Antes da aplicação das BP			
Dias de maturação	n°	X	CV	Mínima	Máxima
0	3	62,26	7,51	58,35	67,44
15	3	59,20	8,85	54,87	65,02
30	3	52,56	9,36	46,88	55,47
45	3	58,03	16,79	47,30	66,32
% gordura no EST		Depois da aplicação das BP			
Dias de maturação	n°	X	CV	Mínima	Máxima
0	3	50,27	14,55	44,97	58,62
15	3	57,01	6,95	54,64	61,59
30	3	51,99	9,80	47,41	57,48
45	3	46,62	13,32	39,52	51,01

De acordo com os padrões estabelecidos pelo RTIQ (BRASIL, 1996) o queijo desta pesquisa pode ser classificado como semigordo em todos os períodos de maturação e fases do experimento.

5.7.2.4. Teores de cloretos

Os resultados de cloretos no estrato seco (EST) dos queijos de ovelha deste trabalho apresentaram valores mínimos e máximos variando entre 0,03 a 0,97% antes e 0,21 a 0,90% na segunda etapa do experimento (Tab. 18). As respostas foram muito variáveis, conforme observado nos elevados resultados de CV. Os teores diversificados de cloretos se devem as formas de adição de sal e variação de quantidade. Inicialmente, o responsável pela produção fazia a salga superficial dos queijos no decorrer da maturação. Entretanto, na segunda etapa do experimento, a salga passou a ser na massa durante a produção dos queijos.

Tabela 18. Valores médios (X), coeficiente de variação (CV) e valores mínimos e máximos dos resultados NaCl (%) no estrato seco total (EST) analisados em queijos antes e depois da aplicação das Boas Práticas (BPs) e nos períodos de fevereiro a maio e agosto a novembro

Cloretos no EST		Antes da aplicação das BP			
Dias de maturação	n°	X	CV	Mínima	Máxima
0	3	0,51	81,18	0,03	0,79
15	3	0,47	70,04	0,09	0,70
30	3	0,91	7,25	0,84	0,97
45	3	0,82	9,59	0,76	0,91
Cloretos no EST		Depois da aplicação das BP			
Dias de maturação	n°	X	CV	Mínima	Máxima
0	3	0,58	35,08	0,40	0,81
15	3	0,58	54,81	0,21	0,80
30	3	0,38	49,61	0,22	0,59
45	3	0,65	34,99	0,45	0,90

O emprego do sal no queijo é importante para promover a sinérese do soro, com redução da umidade e a_w , afetando o desenvolvimento de bactérias patogênicas e a atividade de enzimas nos queijos. Além disso, a relação sal e da umidade, interferem na hidrólise da lactose e na hidratação das proteínas, fenômenos que tem influência no sabor, odor e textura dos queijos durante a sua maturação ou cura (SILVA *et al.*, 2012)

5.7.2.5. Determinação de acidez titulável

A microbiota do queijo é composta principalmente de bactérias ácido-láticas, que permaneceram em contagens elevadas durante todo o período de maturação avaliado. A medição da acidez titulável representa a quantidade de ácido lático produzido, principalmente, pelas bactérias ácido-láticas. O ácido lático produzido pelas BAL aumenta com a maturação e pode se acumular e exercer efeito inibitório para as próprias bactérias láticas quando presentes em elevadas concentrações. Esse comportamento pode explicar os valores de BAL aos 30 dias de maturação. As medias das duas épocas de produção variaram entre 8,75 a 27,72°D e 32,73 a 40,42°D e foram inversamente proporcionais aos parâmetros de pH (Tab. 19).

A justificativa para os valores de acidez entre as duas épocas de produção pode ser a alteração na quantidade e no tipo de fermento utilizado. Inicialmente foi utilizado o soro-fermento e na segunda etapa utilizou-se o iogurte, que possui bactérias com forte perfil de produção de ácido lático.

Provavelmente o soro-fermento inicial continha bactérias com perfil menos acidificante, principalmente se considerarmos o emprego de cultura para Grana-Padano, que é um queijo de longa maturação, portanto, não pode acidificar-se rápida e excessivamente. Esse fato pode explicar o CV menor dos queijos depois da adoção das BPs (Tab. 19).

Além disso, o soro-fermento possui maior chance de resultados oscilantes, pela variação de tempo de conservação em geladeira, contaminações, etc. Por sua vez, o iogurte é fabricado de maneira tradicional e rotineira e é o leite é pasteurizado, aumentando o controle da microbiota presente no produto.

Tabela 19. Valores médios (X), coeficiente de variação (CV) e valores mínimos e máximos dos resultados acidez (°D) analisados em queijos antes e depois da aplicação das Boas Práticas (BPs) e nos períodos de fevereiro a maio e agosto a novembro

Acidez (°D)		Antes da aplicação das BP			
Dias de maturação	n°	X	CV	Mínima	Máxima
0	3	8,75	96,01	3,57	18,45
15	3	15,15	7,79	13,82	16,08
30	3	37,73	25,05	26,92	44,43
45	3	27,72	20,6	21,28	32,16
Acidez (°D)		Depois da aplicação das BP			
Dias de maturação	n°	X	CV	Mínima	Máxima
0	3	32,73	10,4	29,66	36,39
15	3	39,72	9,68	35,44	42,88
30	3	49,1	5,58	46,07	51,4
45	3	40,42	19,78	35,51	49,65

5.7.2.6. Determinação do pH

De acordo com Catro (2015) a redução de pH é esperada durante a maturação de queijos. Como representado na tabela 20, o valor do pH, até os 30 dias de maturação, foi de 6,25 para 5,25 e 5,62 para 5,34 e, posteriormente, foi de 5,31 e 5,43, antes e depois da aplicação das BPs. Esse resultado é inversamente proporcional ao encontrado na acidez do queijo.

Pinho *et al.* (2004) monitoraram as mudanças na umidade, a_w , pH, acidez, textura e cor durante a maturação do queijo Terrincho, um queijo de leite cru de ovelha típico da região nordeste de

Portugal, que passa, no mínimo, por 30 dias de maturação. Até 30 dias de maturação o queijo teve uma lenta diminuição da umidade e a_w . Durante este período, o pH diminuiu de 6,6 para 5,4, resultando em um aumento na dureza, goma, mastigabilidade e cor amarela. Como o pH diminuiu, houve perda concomitante de fosfato de cálcio coloidal das micelas de caseína e, uma dissociação progressiva das submicelas em agregados de caseína menores. Após 30 dias, a diminuição na umidade e a_w foi mais proeminente e o pH aumentou ligeiramente. Esta segunda fase foi caracterizada por um aumento na coesão e diminuição da dureza, porque as caseínas sofreram maior hidrólise em pequenos peptídeos.

Tabela 20. Valores médios (X), coeficiente de variação (CV) e valores mínimos e máximos dos resultados pH analisados em queijos antes e depois da aplicação das Boas Práticas (BPs) e nos períodos de fevereiro a maio e agosto a novembro

pH		Antes da aplicação das BP			
Dias de maturação	n°	X	CV	Mínima	Máxima
0	3	6,25	9,13	5,69	6,83
15	3	5,50	3,45	5,31	5,69
30	3	5,25	4,29	5,02	5,47
45	3	5,31	1,86	5,20	5,38
pH		Depois da aplicação das BP			
Dias de maturação	n°	X	CV	Mínima	Máxima
0	3	5,62	1,09	5,57	5,69
15	3	5,39	3,17	5,21	5,55
30	3	5,34	2,94	5,23	5,52
45	3	5,43	1,36	5,35	5,49

Pinho *et al.* (2004) monitoraram as mudanças na umidade, a_w , pH, acidez, textura e cor durante a maturação do queijo Terrincho, um queijo de leite cru de ovelha típico da região nordeste de Portugal, que passa, no mínimo, por 30 dias de maturação. Até 30 dias de maturação o queijo teve uma lenta diminuição da umidade e a_w . Durante este período, o pH diminuiu de 6,6 para 5,4, resultando em um aumento na dureza, goma, mastigabilidade e cor amarela. Como o pH diminuiu, houve perda concomitante de fosfato de cálcio coloidal das micelas de caseína e, uma dissociação progressiva das submicelas em agregados de caseína menores. Após 30 dias, a diminuição na umidade e a_w foi mais proeminente e o pH aumentou ligeiramente. Esta segunda fase foi caracterizada por um aumento na coesão e diminuição da dureza, porque as caseínas sofreram maior hidrólise em pequenos peptídeos.

A proteólise é um processo importante, que ocorre durante a produção e maturação dos queijos, pois está relacionado a textura, aroma e intensidade do *flavor*. As mudanças na textura ocorrem devido a quebra na matriz proteica, ao aumento do pH e a maior retenção de água pelos agrupamentos amino-carboxílicos (NARDES, 2002). Os componentes proteicos são hidrolisados por enzimas de bactérias contaminantes, das BAL e do coalho. Esse fator pode explicar os resultados de pH nos queijos com 45 dias de maturação deste experimento.

Nardes (2002) encontrou, para queijo de ovelha, variação de pH entre 5,46 e 5,85. Segundo o autor é comum para o queijo Zamorano, queijo de ovelha de massa dura, manter pH próximo de 5,5, para definição de suas características específicas e para o favorecimento de reações químicas e enzimáticas. Resultados semelhantes foram encontrados nesta pesquisa.

5.7.2.7. Determinação de amido

A ausência de amido é uma característica preconizada pela Legislação do queijo Minas Artesanal e que o queijo pesquisado se enquadra nesses padrões, já que não houve presença de amido em nenhuma amostra analisada (MINAS GERAIS, 2002A; MINAS GERAIS, 2002B; MINAS GERAIS, 2008). O amido é utilizado em alguns alimentos como espessante, estabilizante, agente de textura, ligante de água ou de gordura e para reduzir custos de produção (PEDROSO e DEMIANTE, 2008). Entretanto, é proibido em queijos artesanais e, por alterar as características sensoriais, pode gerar menor aceitação por parte dos consumidores.

6. CONCLUSÕES

A falha na cloração em uma amostra de água foi suficiente para influenciar a média dos resultados de água da segunda etapa do experimento, fazendo com que a água se tornasse imprópria para consumo. Isso mostra que falhas no processo de cloração podem ser cruciais para a manutenção da qualidade da água nas propriedades e, conseqüentemente, pode prejudicar etapas do beneficiamento dos produtos e higiene dos utensílios.

Se tratando dos resultados microbiológicos no leite, apenas na segunda etapa do experimento que as contagens de coliformes termotolerantes se enquadraram a legislação. Isso pode representar influência positiva da adoção das boas práticas para a qualidade do leite.

Ainda após a aplicação das boas práticas a qualidade do queijo estudado se encontrou inadequada em todas as etapas de maturação quanto a contagem de coliformes totais, necessitando de mais ajustes e melhorias na higiene e produção. Entretanto, após as melhorias, a contagem de coliformes a 45°C atendeu a legislação vigente. Seriam necessárias mais pesquisas relacionadas às contagens de bolores e leveduras e isolamento desses microrganismos para identificação e averiguação do potencial risco. *Staphylococcus* coagulase positivo e *Salmonella* spp. se mantiveram em baixas contagens e ausentes, respectivamente, tanto para análises de leite, soro-fermento e queijo.

As intervenções feitas nos processos produtivos podem ter influenciado positivamente na qualidade dos queijos, entretanto, ainda não foram suficientes para a comprovação da inocuidade desses produtos. Será necessária a intensificação das práticas de higiene e melhor padronização no beneficiamento. Dessa forma, os períodos de maturação estudados não resultaram em comprovação da qualidade microbiológica do queijo artesanal de ovelha.

O queijo produzido em Itapeçerica - MG apresentou variações quanto aos parâmetros físico-químicos, possivelmente, pela falta de padronização do processo de produção nos diferentes períodos experimentais. Os resultados de composição encontrados caracterizam o queijo como de média a baixa umidade e semigordo, de acordo com a legislação brasileira.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

É possível acreditar que com melhorias de higiene e prosseguimento da adoção das Boas Práticas sugeridas, o queijo artesanal de ovelha possa atender a todos os parâmetros estabelecidos pela legislação, para obtenção da certificação junto aos órgãos fiscalizadores.

A criação de ovelhas está em expansão no Brasil. Os derivados lácteos dessa espécie tendem a conquistar mercados cada vez maiores pelas suas inúmeras vantagens. Assim, mais pesquisas são necessárias para estudo da qualidade desses produtos.

A caracterização dos produtos artesanais pode representar um incentivo ao comércio e aos consumidores, o incentivo para elaboração de legislações mais específicas, poderá auxiliar na obtenção de dados necessários para a rotulagem e fornecer dados aos órgãos de fiscalização, que sirvam de parâmetro para futura certificação e comercialização desse produto.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABCOL. Associação Brasileira de Criadores de Ovinos Leiteiros. *Ovinocultura de leite no Brasil, desafios, oportunidades e demandas do setor*. 2015. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/>> Acesso em: 18 de set. 2018.

BARROS, A.C.B.B. *Avaliação da aptidão tecnológica do leite de ovelha para o fabrico de Queijo de Azeitão DOP*. 2012. 82p. (Mestrado em Engenharia Zootécnica- Produção Animal) - Instituto superior de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa, 2012.

BIER, O.G. *Microbiologia e Imunologia*. São Paulo: Melhoramentos, 1984. 23ed., cap III, p.501.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC Nº 275, de 21 de outubro 2002. Lista de verificação das boas práticas de fabricação em estabelecimentos produtores/industrializadores de alimentos. *Diário Oficial da União*, Brasília, DF, nº 215, 21 de outubro de 2002. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/documents/10181/2718376/RDC_275_2002_COMP.pdf/fce9dac0-ae57-4de2-8cf9-e286a383f254>. Acesso em: 18 de set de 2017.

BRASIL. Lei nº 11.326, de 24 de julho de 2006. Estabelece as diretrizes para a formulação da Política Nacional da Agricultura Familiar e Empreendimentos Familiares Rurais. *Diário Oficial da União*, Brasília, DF, 25 de julho de 2006a.

BRASIL. Lei nº 13.680, de 14 de junho de 2018. Dispõe sobre o processo de fiscalização de produtos alimentícios de origem animal produzidos de forma artesanal. *Diário Oficial da União*, Brasília, DF, 14 de junho de 2018. <<http://www.planalto.gov.br/>> Acesso em: 18 jan. 2019.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº5, de 14 de fevereiro de 2017. Do Estabelecimento Agroindustrial de Pequeno Porte de Leite e Derivados. *Diário Oficial da União*, Brasília, DF, nº33, 15 de fevereiro de 2017a. Seção 1.

BRASIL. Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA). Dos padrões de Identidade e Qualidade de Leite e Derivados. *Diário Oficial da União*, Brasília, DF, C.5, 2017b. Seção 1, 2 e 3.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Gabinete do Ministro. Instrução Normativa nº30, de 07 de dezembro de 2013. Permite que queijos artesanais tradicionalmente elaborados a partir de leite cru sejam maturados por um período inferior a 60 dias. *Diário Oficial da União*, Brasília, DF, nº152, 08 de agosto de 2013. Seção 1, página19.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria Nº 146, de 07 de março de 1996. Dos padrões de Identidade e Qualidade de Leite e Derivados. *Diário Oficial da União*. Brasília, DF, 11 de março de 1996. Seção 1, página 3977.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Instrução Normativa nº68, de 12 de dezembro de 2006. Oficializa os Métodos Analíticos Oficiais Físico-Químicos, para Controle de Leite e Produtos Lácteos, em conformidade com o anexo desta Instrução Normativa, determinando que sejam utilizados nos Laboratórios Nacionais Agropecuários. *Diário Oficial da União*, Brasília, DF, 14 de dezembro de 2006b, seção 1, p.8-30.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Instrução Normativa nº 62, de 26 de agosto de 2003. Métodos Analíticos Oficiais Microbiológicos para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de origem Animal e Água. *Diário Oficial da União*, Brasília, DF, 18 de setembro de 2003. Seção 1, página 14.

BRASIL. Portaria nº 1.469, de 29 de dezembro de 2000. Estabelece os procedimentos e responsabilidades relativos ao controle e vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. *Ministério da Saúde*. Brasília, DF, 2000.

BRASIL. Portaria nº 2.914, 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. *Ministério da Saúde*. Brasília, DF, 2011b.

BRENNER, D.J.; FARMER III, J.J. *Family Enterobacteriaceae*. In: BRENNER, D.J., KRIEG, N.R. e STALEY, J.T. (Ed.) *Bergey's. Manual of Systematic Bacteriology*. New York: Springer Science + Busines Media INC., 2005. 2ed., v.2., p. 587-607.

BRITO, J.R.F. Boas práticas agropecuárias na produção de leite. In: BARBOSA, S.B.P.; BATISTA, A.M.V.; MONARDES, H. III CONGRESSO BRASILEIRO DE QUALIDADE DE LEITE, 2008, Recife: CCS Gráfica e Editora, 2008, v.1, p. 129-143.

BRITO, M. A. et al. *Composição do sangue e do leite em ovinos leiteiros do sul do Brasil: variações na gestação e na lactação*. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 3, n. 36, p. 942-948, junho de 2006.

CARDOSO, V.M. *Influência do período de maturação e das estações do ano nos parâmetros físico-químicos e microbiológicos do queijo Minas Artesanal da Região do Serro*. 2011. 146p. (Doutorado em Microbiologia) - Universidade Federal de Minas Gerais. 2011.

CASTRO, R.D. *Queijo Minas Artesanal fresco de produtores não cadastrados da mesorregião de Campo das Vertentes- MG: qualidade microbiológica e físico-química em diferentes épocas do ano*. 2015. 126p. (Mestrado em Ciência Animal) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2015.

COLETTI, V.D. *Os agricultores familiares e a construção dos mercados do leite e queijo: a pequena produção e a qualidade frente à legislação brasileira e europeia*. 2013. 228p. (Mestrado em Desenvolvimento Regional Sustentável) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus de Pato Branco, 2013.

CORREA, F.C. *et al.* Produção e composição química do leite de ovelhas Corriedale com diferentes níveis de suplementação aos 100 dias de lactação. *Revista Brasileira de Agro ciência*, Pelotas, v.14, n°.2, p.339-347, abr-jun, 2008.

FAO, *Food and Agriculture Organization*. 2015. Disponível em: <<http://www.fao.org/faostat/en/#data/QL/visualize>> Acesso em: 26 nov. 2018.

FARAHANI, G.; EZZATPANAH, H.; ABBASI, S. Characterization of Siahmazgi cheese, an Iranian ewe's milk variety: assessment of physico-chemical, textural and rheological specifications during ripening. *LWT - Food Science and Technology*, (2013), doi: 10.1016/j.lwt.2013.06.002.

FERREIRA, M. I. C. *Produção e composição do leite de ovelhas Santa Inês e mestiças Lacaune x Santa Inês e biometria de seus cordeiros*. 2009. 80p. (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal de Minas Gerais. 2009.

FORSYTHE, S. J.; *Microbiologia da segurança alimentar*. PEREDA, J. A. O. *et al.* (Ed). Tecnologia de Alimentos. Alimentos de Origem Animal. Porto Alegre: Artmed; 2002. v.2, p. 175-185.

FRUSCALSO, V. *Influência da oferta da dieta, ordem e estágio de lactação sobre as propriedades físico-químicas e microbiológicas do leite bovino e a ocorrência de leite instável não ácido*. 2007. 147p. (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2007.

GERMANO, P.M.L.; GERMANO, M.I.S. *Higiene e Vigilância Sanitária de Alimentos*. São Paulo: Manole, 2011. 4ed. cap 6-7, p.137-163.

HAENLEIN, G.F.W.; PARK, Y.W. *Handbook of milk of non-bovine mammals*. London: Y.W. Park and G.F.W. Haenlein. Blackwell, 2006. 1ed. p.6.

HAENLEIN, G. F. Nutritional value of dairy products of ewe and goat milk. In: IDF. *Seminar Production and utilization of ewe and goat milk*. 1996, Grécia: Special Issue 9603, p.159-178.

HAYES, P.R. *Microbiologia e Higiene de los Alimentos*. Zaragoza: Editorial Acribia, S.A., 1993. p.36.

INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION. *Yogurt: enumeration of characteristic microorganisms colony count technique at 37°C*. IDF Standard 117A. Bruxelas: IDF, 1988. 10p.

INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION. *ISO 9622:2013: Milk and liquid milk products. Guidelines for the application of mid-infrared spectrometry*. IDF Standard 141 Bruxelas: IDF, 2013.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Censo 2017. Disponível em: <<http://sidra.ibge.gov.br/Tabela/3939/>> Acesso em: 26 nov. 2018.

INSTITUTO NACIONAL DE METEOROLOGIA. Censo 2018. Disponível em: <<http://sisdagro.inmet.gov.br/sisdagro/app/monitoramento/bhs>> Acesso em: 3 jan. 2019.

JAMES, L.T.; SALINA, A.; ROSSI, R.; MENOZZI, B.D.; LANGONI, H. Parâmetros de qualidade do leite bovino em propriedades de agricultura familiar. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. v.38, n.4, p.573-578, junho, 2018.

JAY, J. M; LOESSNER, M. J., GOLDEN, D. D. *Modern Food Microbiology*. New York: Springer, 2005. 7. ed. 782 p.

MARTINS, J.M. *Características físico-químicas e microbiológicas durante a maturação do queijo Minas Artesanal da Região do Serro*. 206. 146p. (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa. 2006.

MENDONÇA, J.F.P.; SÁ, C.V.G.C.; CARVALHO, L.B.; MELO, C.B. Composição físico-química do leite de ovelhas e principais fatores que interferem na sua qualidade. *Ciência Veterinária nos Trópicos*, Recife, v. 13, nº 1/2/3, p. 38-44, jan-dez, 2010.

MESQUITA *et al.* Contagem bacteriana total e contagem de células somáticas como indicadores de perdas de produção de leite. *PUBVET* v.12, n.6, a119, p.1-9, abril, 2018.

MINAS GERAIS. Assembleia Legislativa do Estado de Minas Gerais. Lei nº 14.185, de 31 de janeiro de 2002. Dispõe sobre o processo de produção de Queijo Minas Artesanal e dá outras providências. *Diário Oficial do Estado de Minas Gerais*, Belo Horizonte, MG, 2002a. Disponível em <http://www.almg.gov.br/>. Acessado em 19 de set. de 2017.

MINAS GERAIS. Assembleia Legislativa do Estado de Minas Gerais. Decreto nº 42.645, de 5 de junho de 2002. Regulamento da Lei nº 14.185 de 31 de janeiro de 2002 que dispõe sobre o processo de produção de Queijo Minas Artesanal. *Diário Oficial do Estado de Minas Gerais*, Belo Horizonte, MG, 2002b. Disponível em <http://www.almg.gov.br/>. Acessado em 19 de set. de 2017.

MINAS GERAIS. Assembleia Legislativa do Estado de Minas Gerais. Lei nº 19.476, de 11 de janeiro de 2011. Dispõe sobre a habilitação sanitária de estabelecimento agroindustrial rural de pequeno porte no estado e dá outras providências. Belo Horizonte: *Diário Oficial do Estado de Minas Gerais*, Belo Horizonte, MG, 2011. Disponível em <http://www.almg.gov.br/>. Acessado em 22 de out. de 2018.

MINAS GERAIS. Assembleia Legislativa do Estado de Minas Gerais. Decreto nº 44.864, de 1 de agosto de 2008. Altera o regulamento da Lei nº 14.185 de 31 de janeiro de 2002 que dispõe sobre o processo de produção de Queijo Minas Artesanal. Belo Horizonte: Assembleia Legislativa do Estado de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, 2002. Disponível em <http://www.almg.gov.br/>. Acessado em 20 de jan. de 2019.

MINAS GERAIS. Assembleia Legislativa do Estado de Minas Gerais. Lei nº 23.157, de 18 de dezembro de 2018. Dispõe sobre a produção e comercialização dos queijos artesanais de Minas Gerais. Belo Horizonte: *Diário Oficial do Estado de Minas Gerais*, Belo Horizonte, MG, 2018. Disponível em <http://www.almg.gov.br/>. Acessado em 18 de jan. de 2019.

NATEL, A.S.A. *Produção, composição do leite e comportamento de ovelhas da raça Bergamácia alimentadas com distintas concentrações de FDN*. 2010. 102p. (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Estadual Paulista, Botucatu, São Paulo. 2010.

OLIVEIRA, L.G. *Caracterização microbiológica e físico-química durante a maturação em diferentes épocas do ano de queijo minas artesanal de produtores cadastrados da mesorregião de Campo das Vertentes – MG*. 2014. 111p. (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Federal de Minas Gerais. 2014.

OLIVES, A.M.; NAVARRO-RÍOS, M.J.; RUBERT-ALEMÁN, J.; FERNÁNDEZ, N.; MOLINA, M.P. Composition, proteolysis indices and coagulating properties of ewe milk as affected by bulk tank somatic cell count. *Journal of Dairy Research*, v. 82, p. 344-349, agosto, 2015.

PAMELA, A.; MIRIAM, H.; FILOMENA, E.; TERESA, C.M.; ANTONIO, M.; ANTONIO, L.; ANTONIA, S. *Food Microbiology: Fungal mycobiota and mycotoxin risk for traditional artisan Italian cave cheese*. (2018). 24 de setembro de 2018, doi: <https://doi.org/10.1016/j.fm.2018.09.014>.

PARK, Y.W.; JUÁREZ, M.; RAMOS, M.; HAENLEIN, G.F.W. Physico-chemical characteristics of goat and sheep milk. *Small Ruminant Research*, v.68, n 1-2, p.88-113, 2007.

PAULA, J.C.J.; CARVALHO, A.F.; FURTADO, M.M. Princípios básicos de fabricação de queijo: do histórico à salga. *Revista Instituto de Laticínios Cândido Tostes*, v. 64, n 367-368, p. 19-25, mar-jun, 2009.

PEDROSO, R.A.; DEMIATE, I.M. Avaliação da influência de amido e carragena nas características físico-químicas e sensoriais de presunto cozido de peru. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v.28, n.1, p. 24-31, jan-mar, 2008.

PENNA, C.F.A.M. *Produção e parâmetros de qualidade de leite e queijos de ovelha Lacaune, Santa Inês e suas mestiças submetidas a dietas elaboradas com soja ou linhaça*. 2011. 155p. (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2011.

PESSOA, G. V. A.; SILVA, E. A. M. Meios Rugai e Lisina-motilidade combinados em um só tubo para a identificação presuntiva de enterobactérias. *Rev. Inst. Adolfo Lutz.*, v. 32, p. 97-100, 1972.

PINHO, O., MENDES, E., ALVES, M. M., & FERREIRA, I. M. P. L. V. O. Chemical, Physical, and Sensorial Characteristics of “Terrincho” Ewe Cheese: Changes During Ripening and Intravarietal Comparison. *Journal of Dairy Science*, v.87, n.2, p. 249–257, 2004.

PISANO, B.M.; FADDA, E.M.; DEPLANO, M.; CORDA, A.; COSENTINO, S. Microbiological and chemical characterization of Fiore Sardo, a traditional Sardinian cheese made from ewe's milk. *Journal of Dairy Technology*, v. 59, n. 3, p. 171-179, 2006.

PULINA, G.; NUDDA, A. *Milk production*. In: PULINA, G. (Ed.). *Dairy sheep feeding and nutrition*. Bologna: Avenue media, 2002. 2ed. Cap.1. p.11-28.

RAYNAL-LJUTOVAC, K.; LAGRIFFOUL, G.; PACCARD, P. GUILLET, I.; CHILLIARD, Y. Composition of goat and sheep milk products: an update. *Small Ruminant Research*, v.79, n.1, p.57-72, 2008.

REGULATION for sheep milk. *Division of Food Safety*. Eau Claire: Wisconsin division of agriculture, trade and consumer protection. 1994. Disponível em: www.sheepmilk.biz/.../REGULATIONSFOR SHEEPMILK.doc. Acesso em: 11/01/2019.

RESENDE, M. F. S. *Queijo Minas Artesanal da Serra da Canastra: influência da altitude e do nível de cadastramento das queijarias nas características físico químicas e microbiológicas*. 2010. 72p. (Mestrado em Ciência animal) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2010.

ROSSI, O. M. Produção de Leite de Ovelha no Brasil. In: IV SIMPÓSIO NACIONAL DE BOVINOCULTURA DE LEITE. II SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE BOVINOCULTURA DE LEITE. 31 out./2 nov. de 2013, Viçosa, Universidade Federal de Viçosa. Arq 82, p.317-324.

SALES, G.A. *Caracterização microbiológica e físico-química de queijo minas artesanal da microrregião de Araxá - MG durante a maturação em diferentes épocas do ano*. 2015. 106p. (Mestrado em Ciência Animal) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2015.

SANTOS, F. F. *Sistema agroindustrial do leite de ovelha no Brasil: proposta metodológica para estudo de cadeias curtas*. 2016. 143p. (Mestrado em Nutrição e Produção Animal) - Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2016.

SANZ SAMPELAYO, M. R., CHILLIARD, Y., SCHMIDELY, P., & BOZA, J. Influence of type of diet on the fat constituents of goat and sheep milk. *Small Ruminant Research*. *Small Ruminant Research*, v.68, n. 1-2, p.42-63, 2007.

SILVA, M.F.C. *Caracterização do leite e do queijo de ovelhas da raça Bergamacia suplementadas com óleo ou farelo de linhaça (Linum usitatissimum L.)*. 2014. 71p (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2014.

SILVA, N.C.; TUNES, R.M.M.; CUNHA, M.F. Avaliação química de queijos Minas artesanais frescos e curados em Uberaba, MG. *PUBVET*, v. 6, n. 16, ed. 203, a.1358, p. 2012.

ZACARCHENCO, P.B.; TRENTA, F.K.H.S.; SPADOTI, L.M.; GALLINA, D.A.; SILVA-ALVES, A.T. Bolores e leveduras em queijos: uma revisão sobre a contaminação de queijos por bolores e leveduras, defeitos causados e mecanismos de controle. *Revista Leite e derivados*, Tecnolab Ital, São Paulo. n°129, INSS 1807-9733, p.96-99, set-out., 2011.

Financiamento

Editais Universal CNPq 2016: 420409/2016-5